

EFEITO DE FUNGOS MVA E DE FERTILIZANTES
FOSFATADOS NO CRESCIMENTO DE *Calopogonium mucunoides* E
Brachiaria humidicola E NA ABSORÇÃO DE N E P.

RAFFAELLA ROSSETTO
ENGENHEIRA AGRÔNOMA

Orientador: DR. TAKASHI MURAOKA

Dissertação apresentada à Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", da Universidade de São Paulo, para obtenção do título de MESTRE em Agronomia, Área de Concentração: Energia Nuclear na Agricultura.

P I R A C I C A B A
Estado de São Paulo - Brasil
Outubro - 1987.

...

Fica decretado que, a partir deste instante
haverã girassóis em todas as janelas,
que os girassóis terão direito
a abrir-se dentro da sombra;
e que as janelas devem permanecer o dia inteiro,
abertas para o verde onde cresce a esperança.

Fica decretado que o homem
não precisará nunca mais
duvidar do homem.
Que o homem confiarã no homem
como a palmeira confia no vento,
como o vento confia no ar
como o ar confia no azul do céu.

...

Thiago de Mello

Aos meus pais,
porque a vida
passo a passo
se ensina;

À Cida e João
porque a amizade
faz a vida mais
bonita;

Ofereço e dedico.

AGRADEÇO

- . Ao Dr. Takashi Muraoka pela confiança, amizade e orientação deste trabalho.
- . À Dra. Siu Mui Tsai Saito, por ter me iniciado e incentivado na pesquisa científica.
- . Ao CENA, na pessoa do Dr. Frederico Maximiliano Wiendl.
- . Aos amigos João Odemir Salvador, Maria A.C. Soares, Marileuza A. Bassi Elias, Sandra Teresa T.P.Santos, José R. Martins, Sandra M.G. Nicoletti, Dacir Bortoletto, pelo incentivo e ajuda que recebi em todos os momentos.
- . Aos amigos, Paulo, Klaus, Dudu, Ademir, Osny, Otávio, Mercedes, Júnior, Rivail, Paula e Sérgio, pela amizade com que sempre me receberam na Seção de Física de Solos do CENA, pelo cafezinho e convívio diário.
- . Aos amigos, Binho, Marli, Waldo, Soninha, Lurdinha, Salatiêr, José Luiz, Thaís e Celi, pela convivência durante o curso de Pós-Graduação, o incentivo e ajuda.

- . Aos funcionários da Seção de Microbiologia do Solo, Sr. Mãrio , Iraci e Chiquinho.

- . Aos professores da ESALQ e do CENA.

- . A CNEN e FAPESP pela concessão de bolsas de estudo.

- . A todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a execução deste trabalho.

Í N D I C E

	PÁGINA
RESUMO.....	xviii
SUMMARY.....	xx
INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	4
2.1. FUNGOS MICORRÍZICOS	4
2.1.1. ASPECTOS GERAIS	4
2.1.2. EFEITOS DAS MVA NO CRESCIMENTO DE PLANTAS.	7
2.1.3. UTILIZAÇÃO DE FÓSFORO POR MVA	10
2.1.3.1. ABSORÇÃO DE P DA SOLUÇÃO DO SOLO.....	10
2.1.3.2. TRANSPORTE, ARMAZENAMENTO E TRANSFERÊN- CIA DE P.....	13
2.1.3.3. UTILIZAÇÃO DE FONTES POUCO SOLÚVEIS DE FÓSFORO.....	14
2.1.4. INFLUÊNCIA DAS ASSOCIAÇÕES MICORRÍZICAS EM PASTAGENS	20
2.1.4.1. EFEITOS POSITIVOS DAS MVA	21
2.1.4.2. EFEITO NEGATIVO DAS MVA	24
2.1.4.3. EFEITO DAS MVA NA CICLAGEM DO P ENTRE PLANTAS	29

	PÁGINA
2.1.4.4. EFEITO DAS MVA NA FIXAÇÃO BIOLÓGICA DE N.....	30
2.2. DIFERENÇAS ENTRE ESPÉCIES VEGETAIS NA <u>AB</u> SORÇÃO DO P.....	34
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	38
3.1. O SOLO.....	38
3.2. DESINFESTAÇÃO DO SOLO.....	40
3.3. A APLICAÇÃO DE ³² P.....	41
3.4. OS FERTILIZANTES	42
3.5. OS TRATAMENTOS	44
3.6. A INSTALAÇÃO DO EXPERIMENTO	47
3.7. A SEMEADURA	47
3.8. O INÓCULO DE FUNGOS MICORRÍZICOS.....	48
3.9. A INOCULAÇÃO DE FUNGO MICORRÍZICO E <i>Rhizobium</i> spp.....	49
3.10. CONDUÇÃO DO EXPERIMENTO.....	50
3.11. DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E ANÁLISES <u>ES</u> TATÍSTICAS.....	51
3.12. COLETA E PARÂMETROS OBSERVADOS.....	51
3.13. ANÁLISE DE N e P.....	53
3.14. DETERMINAÇÃO DE PERCENTAGEM DE COLONIZA- ÇÃO POR FUNGOS-VA E NODULAÇÃO.....	53
3.15. DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ESPECÍFICA DA PLANTA.....	55
3.16. EFICIÊNCIA DE UTILIZAÇÃO DO FERTILIZANTE FOSFATADO.....	55

	PÁGINA
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	59
4.1. CALOPOGÔNIO.....	59
4.1.1. MATÉRIA SECA.....	59
4.1.2. NITROGÊNIO.....	65
4.1.3. FÓSFORO.....	69
4.1.4. NODULAÇÃO.....	74
4.1.5. COLONIZAÇÃO MICORRÍZICA.....	77
4.1.6. ATIVIDADE ESPECÍFICA DO ³² P.....	82
4.1.7. EFICIÊNCIA DE UTILIZAÇÃO DO FERTILIZANTE FOSFATADO.....	85
4.2. BRAQUIÁRIA.....	94
4.2.1. MATÉRIA SECA	94
4.2.2. NITROGÊNIO.....	99
4.2.3. FÓSFORO.....	102
4.2.4. COLONIZAÇÃO MICORRÍZICA.....	106
4.2.5. ATIVIDADE ESPECÍFICA DO ³² P.....	107
4.2.6. EFICIÊNCIA DE UTILIZAÇÃO DO FERTILIZANTE FOSFATADO.....	113
5. CONCLUSÕES	120
6. BIBLIOGRAFIA.....	122

LISTA DE TABELAS

Tabela	Página
1 Exemplos de referências bibliográficas que relatam efeito positivo das MVA em plantas forrageiras.....	23
2 Características químicas do solo Latossolo Vermelho Escuro e da mistura de solo <u>de</u> sinfestado + areia	39
3 Características químicas e granulométricas dos fertilizantes utilizados no <u>experimen</u> to.....	43
4 <u>Con</u> centração e fonte dos nutrientes <u>adi</u> cionados aos vasos	45
5 Tratamentos estudados no experimento.....	46
6 Efeito dos diferentes tratamentos sobre a matéria seca (g) das plantas de <i>Calopogonium mucunoides</i> , coletados aos 60, 120 e 182 dias após a germinação (1º, 2º, 3º <u>cor</u> te respectivamente) e total de matéria <u>se</u> ca produzida.....	60

7	Efeito dos diferentes tratamentos sobre o teor e conteúdo de N na parte aérea das plantas de <i>Calopogonium mucunoides</i> , coletadas aos 60, 120 e 182 dias, após a germinação (1ª, 2ª, 3ª corte respectivamente) e conteúdo total de nitrogênio acumulado.	66
8	Efeito dos diferentes tratamentos sobre o teor e conteúdo de fósforo na parte aérea da planta de <i>Calopogonium mucunoides</i> , coletadas aos 60, 120 e 182 dias, após a germinação (1ª, 2ª, 3ª corte respectivamente) e conteúdo total de fósforo acumulado.....	70
9	Efeito dos diferentes tratamentos sobre o número de nódulos, massa total (g), massa média dos nódulos (mg/nódulo), percentagem de raízes colonizadas por MVA e número de nódulos colonizados por MVA.....	75
10	Efeito dos diferentes tratamentos na atividade específica de ^{32}P dada em contagens por minuto por grama de matéria seca (cpm/g m.s.) e contagens por minuto por mg de fósforo (cpm/mg P) acumulado pelas plantas de <i>Calopogonium mucunoides</i>	83

Tabela

Página

11	Efeito dos diferentes tratamentos nos parâmetros: teor percentual de fósforo na planta derivado do fertilizante (Pdf%) e derivado do solo (Pds%), teor percentual de P do fertilizante utilizado (Pfu%), disponibilidade relativa calculada por diluição isotópica (DRDI%) e disponibilidade relativa calculada diretamente (DRD%); aos 60 dias após a germinação das sementes de <i>C. mucunoides</i>	86
12	Efeito dos diferentes tratamentos nos parâmetros: teor percentual de fósforo na planta derivado do fertilizante (Pdf%) e derivado do solo (Pds%); teor percentual de P do fertilizante utilizado (Pfu%); disponibilidade relativa calculada por diluição isotópica (DRDI%) e disponibilidade relativa calculada diretamente (DRD%); aos 120 dias após a germinação das sementes de <i>C. mucunoides</i>	88

Tabela		Página
13	Efeito dos diferentes tratamentos na disponibilidade relativa calculada diretamente, (DRD%) aos 182 dias após a germinação das plantas de <i>Calopogonium mucunoides</i> e no decorrer de todo o experimento.....	91
14	Equações de regressão linear respectivos coeficientes de correlação entre os parâmetros de disponibilidade relativa e matéria seca das plantas de <i>Calopogonium mucunoides</i>	92
15	Efeito dos diferentes tratamentos sobre a produção de matéria seca das plantas de <i>Brachiaria humidicola</i> , coletadas aos 60, 120 e 182 dias após a germinação (1º, 2º, 3º corte respectivamente) e total de matéria seca produzida.....	95
16	Efeito dos diferentes tratamentos sobre o teor e o conteúdo de nitrogênio na parte aérea das plantas <i>Brachiaria humidicola</i> (coletadas aos 60, 120 e 182 dias após a germinação (1º, 2º, 3º corte respectivamente) e conteúdo total de N acumulado.....	100

TABELA

Página

17	Efeito dos diferentes tratamentos sobre o teor e conteúdo de fósforo na parte aérea das plantas de <i>Brachiaria humidicola</i> , coletadas aos 60, 120 e 182 dias após a germinação (1ª, 2ª, 3ª corte respectivamente) e conteúdo de fósforo acumulado.....	103
18	Efeito dos diferentes tratamentos na percentagem de raízes de <i>Brachiararia hu midicola</i> colonizadas por fungos micorrízicos-VA.....	108
19	Efeito dos diferentes tratamentos na atividade específica de ^{32}P dada em contagens por minuto por grama de matéria seca (cpm/g m.s.) e contagens por minuto por mg de fósforo (cpm/mg P), em plantas de <i>B. humidicola</i>	112

TABELA

Página

20	Efeito dos diferentes tratamentos nos parâmetros: teor percentual de fósforo na planta derivado do fertilizante (Pdf%) e derivado do solo (Pds%) teor percentual de P do fertilizante utilizado (Pfu%) disponibilidade relativa, calculada por diluição isotópica (DRDI%) e disponibilidade relativa calculada diretamente (DRD%), aos 60 dias após a germinação das sementes de <i>B. humidicola</i>	114
21	Efeito dos diferentes tratamentos nos parâmetros: teor percentual de fósforo na planta derivado do fertilizante (Pdf%) e derivado do solo (Pds%), teor percentual de P do fertilizante utilizado (Pfu), disponibilidade relativa calculada por diluição isotópica (DRDI%) e disponibilidade relativa calculada diretamente (DRD%), aos 120 dias após a germinação das sementes de <i>B. humidicola</i>	115

TABELA

Página

22	Efeito dos diferentes tratamentos na disponibilidade relativa calculada diretamente (DRD%) aos 182 dias após a germinação das plantas de <i>Brachiaría humidícola</i> e no decorrer de todo o experimento.....	118
23	Equações de regressão linear e respectivos coeficientes de correlação entre os parâmetros de disponibilidade relativa e matéria seca das plantas de <i>Brachiaría humidicola</i>	119

LISTA DE FIGURAS

Figura		Página
1	Curva de correlação entre percentagem de raízes colonizadas por fungos micorrízicos e matéria seca das plantas de <i>Calopogonium mucunoides</i>	80
2	Curva de correlação entre percentagem de raízes colonizadas por fungos micorrízicos e conteúdo de fósforo acumulado pelas plantas de <i>Calopogonium mucunoides</i> ..	81
3	Efeito dos diferentes tratamentos aplicados em solo não desinfestado na produção de matéria seca (g), das plantas de <i>Calopogonium mucunoides</i> e <i>Brachiaria humidicola</i>	98
4	Efeitos dos diferentes tratamentos aplicados em solo não desinfestado, no acúmulo de nitrogênio (mg) na parte aérea de plantas de <i>Calopogonium mucunoides</i> e <i>Brachiaria humidicola</i>	101

Figura

Página

5	Efeito dos diferentes tratamentos aplica <u>dos</u> em solo não desinfestado, no acú <u>mu</u> lo de fósforo na parte aérea de plantas de <i>Calopogon<u>ium mucu</u>noides</i> e <i>Brachiaria humidicola</i>	107
6	Efeito dos diferentes tratamentos apli <u>ca</u> dos em solo não desinfestado, na per <u>ce</u> ntagem de raízes de plantas de <i>Calopo<u>gonium mucunoides</u></i> e <i>Brachiaria humidi<u>cola</u></i> colonizadas por fungos micorrízicos VA.....	109

EFEITO DE FUNGOS MVA³ E DE FERTILIZANTES
FOSFATADOS NO CRESCIMENTO DE *Calopogonium mucunoides* E
Brachiaria humidicola E NA ABSORÇÃO DE N E P

RAFFAELLA ROSSETTO

-Autora-

DR. TAKASHI MURAOKA

- Orientador-

RESUMO

Visando avaliar a resposta de duas espécies forrageiras, o *Calopogonium mucunoides* e a *Brachiaria humidicola* à introdução de fungos micorrízicos em solo não desinfestado, e à aplicação de três diferentes fontes de fertilizantes fosfatados: o fosfato natural de Araxá (FNA), fosfato natural de Araxá parcialmente solubilizado (FAPS) e o superfosfato triplo (ST), realizou-se um experimento em casa de vegetação.

O solo utilizado foi o Latossolo Vermelho - escuro, textura média coletado no município de Piracicaba-SP. Foram aplicados 16 diferentes tratamentos, que variaram quan

to à inoculação com fungos micorrízicos, fontes e doses de fertilizante fosfatado, e desinfestação do solo com brometo de metila, para efeito de comparação.

O delineamento experimental foi em esquema fatorial (3x5) com um tratamento controle adicional, com quatro repetições e inteiramente casualizado.

Realizaram-se três épocas de coleta da parte aérea das plantas (aos 60, 120 e 182 dias após a germinação).

Em cada coleta, analisou-se o peso de matéria seca, teor percentual e total de N e P, nodulação da leguminosa, atividade de ^{32}P na parte aérea e eficiência de utilização do fertilizante fosfatado.

As principais conclusões que se obteve foram: a adubação fosfatada e a presença de fungos micorrízicos promoveram aumento no crescimento e acúmulo de N e P na parte aérea das plantas. A inoculação com fungos micorrízicos em solo não desinfestado, em combinação com o fertilizante FAPS (dose 45 ppm P), promoveu médias significativamente superiores de produção de matéria seca, conteúdo de N e P e percentagem de raízes colonizadas por fungos-MVA de ambas as plantas e da nodulação da leguminosa.

EFFECT OF VAM FUNGI AND PHOSPHATE FERTILIZER ON
THE GROWTH OF *Calopogonium mucunoides* AND
Brachiaria humidicola AND N AND P UPTAKE

Author: RAFFAELLA ROSSETTO

Adviser : DR. TAKASHI MURAOKA

SUMMARY

An experiment was carried out in order to evaluate the response of two species of forage plants, the *Calopogonium mucunoides*, and the *Brachiaria humidicola*, to introduction of VA-mycorrhizal fungi in disinfected soil , and to the application of three different sources of phosphate fertilizers, Araxá rock phosphate (ARP), Araxá rock phosphate partially acidulated (RPPA) and triple superphosphate (TS).

The soil utilized was Latossolo Vermelho-escuro, textura média (Dark red Latossol, medium texture), collected in Piracicaba-country, SP. The experiment consisted of 16 treatments, which varied in respect to the inoculation with mycorrhizal fungi, sources of phosphate fertilizer, and soil disinfected or not, with methyl bromide.

The experiment was conducted following a delineation completely casual factorial scheme (3x5), with one additional control treatment, and with 4 replications.

Plants samples above growth parts were collected at 60, 120 and 182 days after germination, for the dry matter yield, N, P, and ^{32}P activity determination, nodules evaluation in the legume plants, and phosphate fertilizer use efficiency evaluation.

The following main conclusion could be drawn: The phosphate fertilizer and the presence of mycorrhizal fungi promoted increase in the growth and in the N and P content of above ground part.

The VA-mycorrhizal fungi inoculation in the no disinfected soil in combination with RPPA (45 ppm P), resulted in significantly higher dry matter yield, N and P content and percentage of roots colonized by VA-mycorrhizal fungi of both species and on the nodulation of the legume plants.

1. INTRODUÇÃO

As associações entre o sistema radicular de plantas e fungos micorrízicos vesicular-arbuscular (MVA) , apresentam reconhecida ação estimuladora do crescimento de um grande número de espécies de plantas. Este estímulo ao crescimento provém de uma maior absorção de nutrientes, especialmente do fósforo.

Existe entretanto, uma série de fatores que afetam o estabelecimento efetivo da simbiose bem como a persistência e a abundância do fungo no solo. Estão entre estes fatores: o solo, a espécie da planta, a eficiência e a habilidade do fungo micorrízico em se estabelecer e persistir nas condições ambientes do solo, as práticas de manejo da agricultura. As plantas diferem não só quanto à susceptibilidade com que ocorre a infecção micorrízica, como na resposta à associação, em termos de absorção de nutrientes e crescimento.

Quanto ao solo, geralmente a simbiose é mais eficiente quando este apresenta níveis baixos de fósforo disponível, o que geralmente ocorre nas regiões tropicais onde o fósforo é o nutriente que mais frequentemente

tem limitado a produção de culturas e pastagens.

O uso de fosfatos de rocha na agricultura, pode ser uma fonte alternativa de fósforo, principalmente para as espécies de plantas tolerantes a baixos índices de pH e fósforo disponível no solo. Os fosfatos de rocha, por terem solubilização lenta, são particularmente úteis para as pastagens perenes, principalmente as localizadas em regiões próximas as fontes produtoras, o que torna o produto mais competitivo do ponto de vista econômico, com as outras fontes de fósforo.

Com relação às associações micorrízicas em pastagens, não se sabe ao certo, qual a extensão do benefício que os fungos promovem. Vários autores tem postulado que devido ao sistema radicular bem distribuído das gramíneas em pastagens, o fósforo do solo é melhor explorado, mesmo na ausência de fungos micorrízicos. A eficiência da associação micorrízica geralmente é maior para a leguminosa forrageira, sendo que estímulos ao crescimento da gramínea em pastagens ocorre geralmente em solos extremamente deficientes em fósforo.

A demonstração da eficiência das associações micorrízicas em aumentar as produções e o conteúdo de nutrientes das plantas, é frequente em solos que sofreram qualquer processo de desinfestação ou esterilização. Entretanto a prática de desinfestação de solo é utilizada apenas em condições restritas a viveiros para a produção de

mudas e não tem portanto razão de ocorrer em grandes extensões de campo cultivado. Se por um lado, a eficiência das associações micorrízicas é mais facilmente demonstrada em solo desinfestado ou esterilizado, o mesmo não ocorre, ao menos com tanta frequência quando se inocula os fungos micorrízicos em solos que não sofreram nenhum processo de desinfestação ou esterilização. Mesmo assim, alguns trabalhos tem demonstrado a viabilidade da introdução de fungos micorrízicos em solos em condições naturais (MOSSE, 1975) .

Este estudo teve como objetivo, contribuir para o entendimento das relações que ocorrem entre os fungos micorrízicos e as espécies de plantas, principalmente nos aspectos da nutrição de nitrogênio e fósforo. Para tal, procurou-se avaliar as respostas de duas espécies de plantas forrageiras, a *Brachiaria humidicola* e o *Calopogonium mucunoides* à introdução de fungos micorrízicos em solo não desinfestado, e à aplicação de três diferentes fontes de fósforo: os fertilizantes fosfato natural de Araxá, fosfato natural de Araxá parcialmente solubilizado e o superfosfato triplo.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. FUNGOS MICORRÍZICOS

2.1.1. ASPECTOS GERAIS

A existência de fungos micorrízicos colonizando o sistema radicular de plantas é conhecida desde os primórdios de 1800. Os primeiros trabalhos tratam principalmente de descrições morfológicas das associações micorrízicas.

Atribuiu-se a A.B. FRANK em 1885, a criação do termo micorriza (do grego *mikes*= fungo e *rhiza*=raiz); além da primeira subdivisão das micorrizas em endotróficas e ectotróficas (BONFANTE & FASOLO, 1984); referindo-se à penetração das hifas do fungo dentro das células da raiz da planta (endomycorrizas); ou à colonização apenas dos espaços intercelulares (ectomycorrizas).

Com relação ao tipo morfológico e anatômico da colonização das células do hospedeiro pelo fungo; subdividia-se também as micorrizas em ectendomycorrizas, para aquelas que apresentavam colonização intra e intercelular (GERDERMANN, 1974).

Atualmente, o termo micorriza refere-se às

associações simbióticas mutualísticas entre as raízes das plantas e os fungos micorrízicos. São subdivididas, conforme o proposto por *Lewis em 1975*, citado por *LOPES et alii (1983)* em: ectomicorriza, micorriza vesicular-arbuscular, micorriza ericácea, micorriza arbutácea e micorriza orquidácea.

Aproximadamente 95% das espécies de plantas existentes no mundo, pertencem à famílias que se associam à fungos micorrízicos. A maior parte dessas famílias de plantas, se associam às micorrizas vesicular-arbuscular (*TRAPPE, 1981*). As micorrizas-VA, ocorrem em briófitas, pteridófitas, gimnospermas e angiospermas e possuem interesse principalmente por se associarem às principais culturas de importância econômica.

Segundo *LOPES et alii (1983)*, os fungos micorrízicos VA, ocupam a seguinte posição no reino Mycetae : Divisão-Amastigomicota; Subdivisão-Zigomicotina; Classe: Zigomicetos; Ordem-Endogonales; Família-Endogonaceae. Os seguintes gêneros já foram até hoje descritos: *Endogone*, *Glo mus*, *Gigaspora*, *Acaulospora*, *Sclerocystis*, *Modicella*, *Graziella*, *Entrophospora* e *Complexipes*.

LEWIS, D.H. (1975). Comparative Aspects of the Carbon Nutrition of Mycorrhizas. In: Sanders, F.E.; Mosse, B. & Tinker, P.B. Endomycorrhizas. London, Academic Press, 1975, p. 119-148.

A infecção por MVA, praticamente não altera a morfologia externa das raízes. Para que se possa observar a presença do fungo, é necessário que se faça o clareamento das raízes, seguido de coloração (PHILLIPS & HAYMAN, 1970). Com o auxílio de uma lupa ou microscópio, pode-se então observar as estruturas do fungo micorrízico VA. A infecção desenvolve vários estágios: uma fase extra-radicular, onde se observa no solo da rizosfera, a presença de hifas, esporos e dependendo da espécie do fungo, vesículas externas.

A infecção inicia-se com a quebra da dormência dos propágulos na rizosfera. Forma-se o tubo germinativo e as hifas infectivas que por ação de enzimas e por pressão, penetram na raiz formando o apressório. (SWARD, 1978 ; LOPES *et alii*, 1983).

Os fungos micorrízicos colonizam apenas a epiderme e o córtex da raiz, não invadindo a endoderme o meristema ou o sistema vascular da planta (GERDERMANN, 1974)

Na fase intraradicular, as hifas se ramificam e sofrem modificações originando os arbúsculos, as vesículas e os esporos.

Os arbúsculos são formados por ramificações sucessivas das hifas que penetram dentro das células da planta hospedeira. Constituem o sítio de trocas entre o fungo e a planta e, possuem vida média entre quatro a cinco

dias, segundo *COX & TINKER (1976)*; quatro a treze dias segundo *BAREA & AZCÓN-AGUILAR (1983)* e uma a três semanas segundo *MOSSE (1981)*; quando então se degeneram.

As vesículas são estruturas globulares que se formam nas extremidades das hifas, intra ou intercelularmente. Seu interior é repleto de grânulos de lipídeos e sua função é provavelmente a de órgão de reserva temporário do fungo. As vesículas podem ter também função de propagação do fungo, atuando como esporos (*GERDERMANN, 1968*).

A incidência, o número e o tamanho das vesículas são características de cada espécie de fungo. Quando a infecção interna à raiz está bem consolidada, as hifas passam a se ramificar externamente. Algumas podem crescer paralelamente à superfície da raiz e penetrar novamente, ou se projetar no solo, formando uma extensiva rede tridimensional de micélio (*BAREA & AZCÓN-AGUILAR, 1983*). *BEVEGE et alii (1975)*, estimaram que a quantidade de micélio externo foi de 1% do peso total das raízes de trevo subterrâneo.

2.1.2. EFEITOS DAS MVA NO CRESCIMENTO DE PLANTAS

Embora as MVA tenham diversas funções que influenciam o crescimento e o metabolismo das plantas, a

exemplo da indução à produção de fitohormônios, do efeito biocontrolador de patógenos do solo como os nematóides; da maior tolerância a estresse hídrico, da maior agregação do solo; a principal função das micorrizas, aquela que de maneira mais intensa parece influenciar o crescimento de plantas é a absorção de nutrientes, principalmente o fósforo.

Muitos trabalhos tem mostrado aumentos no teor de uma série de nutrientes como N, K, Ca, Na, Mg, Fe, Cu, B, Zn e Al mas, existe a possibilidade de que esses aumentos sejam apenas consequências do aumento na nutrição de fósforo (MOSSE, 1973; BAREA & AZCÓN-AGUILAR, 1983).

Geralmente, a eficiência das associações micorrízicas é demonstrada em experimentos onde o solo sofreu algum processo de desinfestação ou esterilização para a retirada dos fungos nativos do solo. Quando se processa a inoculação no solo em condições naturais, nem sempre a eficiência dos fungos introduzidos é facilmente denotada.

Como a esterilização ou desinfestação do solo são práticas utilizadas apenas na formação de viveiros de mudas, são de grande interesse as pesquisas que visam a obtenção de endófitos competitivos e mais eficientes que as populações nativas do solo. Alguns trabalhos tem demonstrado a viabilidade da introdução de fungos micorrízicos em solos em condições naturais. Geralmente, as respostas à inoculação micorrízica nesse caso, ocorrem quando o solo apre

senta baixa população nativa de fungos micorrízicos ou po populações pouco eficientes (HAYMAN, 1985).

MOSSE (1975), relata o experimento onde com parou o efeito da introdução de um fungo micorrízico em com petição com populações nativas do solo em *Brachiaria* sp. Após dez semanas, as plantas inoculadas com endófitos de Endogone (E₃) tiveram peso de matéria seca 30% superior e continham 25% a mais de P.

BAGYARAJ & MANJUNATH (1980), inocularam o fungo *Glomus fasciculatus* em um solo não esterilizado e ob servaram a resposta das seguintes plantas: algodão, caupi (*Vigna unguiculata*) e milheto (*Eleusine coracana*). Os auto res relatam que houve resposta positiva na produção de matê ria seca, conteúdo de P e Zn nas três plantas quando estas foram inoculadas com *G.fasciculatus*. Como a percentagem de raízes infectadas por fungos micorrízicos nativos foi bem menor que a obtida nos tratamentos inoculados, os autores concluem que endófitos introduzidos podem ser mais eficien tes e portanto proporcionar maiores benefícios que os fun gos nativos.

RANGELEY *et alii* (1982), verificaram a res posta do trevo (*Trifolium repens*), à inoculação com *Glomus mossae* e *Glomus etunicatus* em condições de campo, em dois diferentes solos. Num dos solos, *G.mossae* dobrou a quan tidade de raízes infectadas, mas não promoveu aumentos no crescimento ou conteúdo de P das plantas. No outro solo ,

não houve nenhuma resposta positiva da inoculação no ano de plantio do trevo. Mas, no ano seguinte, na presença de 40 kg de P/ha, a produção de trevo inoculado com *G.etunicatus*, dobrou em relação ao tratamento não inoculado (MVA-nativa) e foi 75% superior à produção obtida com *G.mossae*.

Caso os fungos micorrízicos introduzidos possam realmente ser mais eficientes que as populações nativas, em proporcionar aumentos na produção e no teor de nutrientes das plantas, a inoculação de MVA em condições de campo passa a ser visualizada como uma prática com boas perspectivas de ser utilizada num futuro próximo.

2.1.3. UTILIZAÇÃO DE FÓSFORO POR MVA

2.1.3.1. ABSORÇÃO DE P DA SOLUÇÃO DO SOLO

A absorção de nutrientes do solo, é governada por vários fatores, entre os quais, a própria disponibilidade de nutrientes, e a capacidade do solo em supri-las plantas. Quando os nutrientes tem baixa mobilidade no solo, como o P, K, Zn, Cu, a distribuição do sistema radicular e conseqüentemente o volume de solo explorado pelas raízes, determina a quantidade desses nutrientes que são absorvidos (BOWEN, 1980; MALAVOLTA, 1980).

Os fungos micorrízicos-VA formam uma exten

sa rede de micélio cujas hifas se projetam pelo solo e atuam como prolongamento do sistema radicular das plantas . O fato de explorar maior volume de solo e de aumentar o número de sítios de absorção faz com que as associações micorrízicas sejam importantes na nutrição de elementos pouco móveis no solo, como o fósforo.

Ao que tudo indica, a absorção de fósforo pelas hifas é ativa, ocorrendo contra um gradiente de concentração. Segundo *WOOLHOUSE (1975)*, os íons ortofosfatos (Pi), encontram-se na solução do solo em concentrações entre 0,01 e 2,0 μM . Supondo que a concentração no interior da hifa seja similar à existente no vacúolo de células de plantas, e portanto, aproximadamente 5 mM, estima-se que o fósforo move-se para dentro da hifa contra um gradiente de concentração da ordem de 10^3 a 10^4 , superior a concentração encontrada dentro do vacúolo.

A absorção de fósforo pode também ser descrita pelos parâmetros da equação de Michaelis Menten. *CRESS et alii (1979)*; mostraram que raízes de tomateiro micorrizadas tem valor Km menor que as raízes não micorrizadas. *COOPER (1984)*, explica que, quando as concentrações de fósforo na solução do solo são baixas, de 1 a 20 μM , ocorre alta taxa de absorção nas plantas micorrizadas e o valor Km é baixo, indicando que os sítios de absorção tem alta afinidade por fósforo. Entretanto, se a concentração da solução do solo é maior que 30 μM , aumentos na absorção estão relacionados com alta Vmax.

As raízes de plantas micorrizadas, atuam portanto, diversamente das plantas não micorrizadas, na absorção de fósforo. *TINKER (1984)*, sugere que as raízes micorrizadas podem absorver fósforo de concentrações bem mais baixas, que as raízes não micorrizadas.

O fato de que as plantas micorrizadas absorvem fósforo apenas do pool lábil do solo, e não teriam portanto capacidade de solubilizar fosfatos, é praticamente aceito na literatura e foi demonstrado por experimentos que utilizaram solução radioativa de fósforo (^{32}P) para marcação dos íons ortofosfatos trocáveis existentes no solo (*SANDERS & TINKER, 1971; HAYMAN & MOSSE, 1972*).

A atividade específica (taxa de $^{32}\text{P}/^{31}\text{P}$ absorvida) de plantas micorrizadas e não, nesses experimentos foram similares, demonstrando que as plantas micorrizadas não alteram o pool lábil de fósforo do solo.

Entretanto, *OWOSU-BENNOAH & WILD (1980)*; observaram atividade específica menor nas plantas micorrizadas e discutem a possibilidade de que por terem absorvido mais intensamente o fósforo lábil do solo, as plantas micorrizadas aumentariam a taxa de liberação de fosfatos fixados do solo.

2.1.3.2. TRANSPORTE, ARMAZENAMENTO E TRANSFERÊNCIA DE P

CALLOW et alii (1978) demonstraram que quantidades substanciais de ortofosfato absorvido por raízes micorrizadas são convertidos para grânulos de polifosfato. Como as raízes não micorrizadas não apresentam essa forma de fósforo concluiu-se que os grânulos de polifosfato são sintetizados pelo fungo nas associações micorrízicas.

Os trabalhos de *BOWEN et alii (1975)*, demonstram que pouco fósforo é armazenado pelo fungo, sendo que esse nutriente é rapidamente transferido para a planta. Os autores colocam também, que o baixo armazenamento de P é devido a uma rápida transferência para planta hospedeira, que possivelmente pode ocorrer, não só pela degeneração do arbúsculo, mas diretamente, devido à grande superfície dos arbúsculos.

CAPACCIO & CALLOW (1982), observaram a presença de enzimas de síntese e degradação de polifosfatos nas hifas de fungos micorrízicos. Essas enzimas são responsáveis pelas transformações do polifosfato, sendo que os autores sugerem que ao atingir o arbúsculo, o polifosfato pode ser quebrado por ação de uma enzima do tipo polifosfatase ou polifosfatase quinase liberando Pi ou ATP. Estes produtos liberados podem ser direta ou indiretamente utilizados para a translocação do fósforo entre a interface do

arbúsculo e a célula da planta hospedeira. Os processos bioquímicos envolvidos na transferência de P entre os componentes da associação micorrízica não foram ainda elucidados. Acredita-se que o mecanismo seja similar ao que ocorre na transferência de fósforo das células corticais de raízes não micorrizadas para o interior do xilema (COOPER, 1984).

2.1.3.3. UTILIZAÇÃO DE FONTES POUCO SOLÚVEIS DE FÓSFORO

Suspeita-se que as MVA tem a capacidade de utilizar fontes de P não disponíveis às plantas não micorrizadas, mas, não se obteve ainda uma resposta definitiva sobre os mecanismos envolvidos. Uma hipótese diz respeito à utilização de fósforo orgânico por raízes micorrizadas. Sabe-se que as raízes micorrizadas ou não, hidrolisam fitatos do solo através da ação de enzimas fosfatases. Uma maior atividade dessas enzimas já foi observada em raízes micorrizadas, inferindo-se então, que as plantas podem realmente utilizar mais fósforo orgânico quando associadas aos fungos micorrízicos (ALLEN *et alii*, 1981). Entretanto, é pouco provável que essa seja a única razão pela qual as plantas micorrizadas apresentam maior concentração de fósforo.

TINKER (1984), sugere que a exsudação de ácidos quelantes pelas raízes micorrizadas, acidificando a rizosfera, pode aumentar a solubilização de fosfatos do so

lo ao menos na região restrita às proximidades do sistema radicular.

Uma outra possibilidade para explicar o aumento na nutrição de P das plantas micorrizadas seria a ocorrência de um sinergismo entre fungos micorrízicos e bactérias solubilizadoras de fosfatos (DELORENZINI *et alii*, 1979).

BAREA *et alii* (1985), avaliaram o efeito da inoculação de *Glomus* spp. em tomateiro, na presença de fosfato de rocha num solo onde foram também inoculadas, populações de bactérias solubilizadoras de fosfato e observaram que houve maior crescimento das plantas, teor percentual de P e percentagem de infecção micorrízica no tratamento que continha micorriza, fósforo e bactérias solubilizadoras.

Quanto ao emprego de fertilizantes pouco solúveis como fosfatos de rocha, existe grande interesse na compreensão dos mecanismos que fazem com que as plantas colonizadas por fungos micorrízicos, em determinadas condições, apresentem melhor utilização desses fertilizantes. Entre os primeiros pesquisadores a observarem este fato, estão DAFT & NICOLSON (1966), que constataram que plantas de tomateiro + MVA utilizaram melhor o fosfato tricálcico e a rocha apatita finamente moída.

JACKSON *et alii* (1972), estudaram os efeitos da inoculação com fungos micorrízicos-VA e de diversas formas de aplicação de fosfato de rocha (50 ppm P), nas cultu

ras de soja, sorgo e milho, num solo contendo 2,5 ppm P disponível e não esterilizado. Os autores observaram que a inoculação com fungos MVA inoculados mais fosfatos de rocha, proporcionaram aumentos de 50% na produção de matéria seca de milho em relação ao tratamento com fungos nativos. Quanto ao sorgo, a resposta à inoculação foi bem menor. Já a soja não apresentou resposta positiva à inoculação. Entretanto, esses autores não observaram aumentos no teor percentual de fósforo das plantas, embora os tratamentos que apresentaram resposta à MVA, tivessem alto conteúdo de P total.

HAYMAN (1977), relata um experimento onde se fez uma análise comparativa da inoculação com *Glomus fasciculatus* (E₃) na presença e ausência de fosfato de rocha, além dos tratamentos controles contendo apenas os fungos MVA ou o fosfato de rocha; em solo esterilizado ou não: No experimento com solo esterilizado, houve aumentos no crescimento das plantas de trevo (*Trifolium repens* L.), devido à: inoculação com MVA, aplicação de fosfato de rocha e aplicação de ambos, sendo que a inoculação proporcionou um melhor aproveitamento do fosfato de rocha. Já em condições de solo natural (sem esterilização), a introdução de MVA não aumentou o crescimento das plantas, mostrando pouca competitividade com os fungos nativos do solo.

SPARLING & TINKER (1978a), avaliaram a resposta de trevo (*Trifolium repens* L.) à doses crescentes de

fosfato solúvel e fosfato natural; em presença ou ausência de MVA em solo desinfestado. Os autores observaram diferentes respostas em relação à cada endófito utilizado. Embora tenha ocorrido grande variabilidade nos dados de percentagem de infecção das raízes, as micorrizas-VA foram responsáveis por aumentos significativos no crescimento das plantas mesmo nas mais altas doses de fósforo (500 mg de fosfato solúvel KH_2PO_4 /kg solo e 20 g de fosfato de rocha North African/kg solo).

WAIDYANATHA et alii (1979), estudaram os efeitos da inoculação com fungos-VA e adição de fosfato de rocha (500 mg/kg de solo) em puerária e estilosantes em solo desinfestado com brometo de metila. Os tratamentos que combinaram fosfato de rocha e MVA tiveram os máximos incrementos no crescimento, conteúdo de fósforo, nodulação e atividade da nitrogenase.

DELORENZINI et alii (1979), estudaram o efeito da aplicação de fosfato de rocha na presença ou ausência da inoculação com os seguintes microbiontes: *Rhizobium trifolii*, *Glomus mossaeae* e bactérias solubilizadoras de fosfatos (*Pseudomonas* sp. , *Agrobacterium* sp. e *Bacillus* sp.), no crescimento e absorção de nutrientes em trevo (*Trifolium pratense*); em solo esterilizado.

Os autores observaram que a inoculação tripla aumentou a capacidade da planta em utilizar o fosfato de rocha e conseqüentemente houve um maior crescimento das

plantas, do número de nódulos, da absorção de N e P e da percentagem de raízes infectadas por MVA.

BARÉA et alii (1980) analisaram a resposta da leguminosa forrageira alfafa (*Medicago sativa*) à aplicação de fósforo solúvel (KH_2PO_4 1g/kg solo) e fosfato de rocha (1,33 g/kg solo); em presença ou ausência de *Glomus mosseae* (esporo yellow vacuolate YV); em dois tipos de solo com conhecida capacidade de fixação de fósforo esterilizados ou não. A inoculação com fungos-VA aumentou o crescimento a nutrição de N e P e a nodulação das plantas em todos os tratamentos e principalmente nos solos não esterilizados. Os tratamentos com fosfato de rocha e fungos-VA tiveram maior peso de matéria seca das plantas e conteúdo de P que o tratamento não inoculado indicando que MVA proporcionou melhor utilização da rocha fosfatada.

CARDOSO (1985), avaliou o efeito da inoculação com *Glomus fasciculatum* e de uma mistura dos fungos *Glomus fasciculatum* e *Gigaspora margarita* isolados ou em combinação com o fosfato de rocha Alvorada sobre o desenvolvimento e absorção de nutrientes na soja.

Tanto o desenvolvimento das plantas, como a produção e a nodulação sempre tiveram máximos incrementos nos tratamentos que combinavam fosfato natural e fungos-VA.

Muito embora diversos autores tenham relatado uma melhor utilização de fosfatos de rocha quando as

plantas estão associadas aos fungos-VA, é muito pouco provável que as MVA possam solubilizar essas fontes de fósforo. Como já foi comentado no item anterior, existem trabalhos que comprovam que as MVA utilizam fósforo apenas do pool lábil do solo. Entretanto, uma melhor utilização dos fosfatos de rocha é um fato frequentemente observado, o que induz então, às seguintes possibilidades:

- a) como as hifas são distribuídas ao acaso, explorando maiores volumes de solo, e como o fósforo é pouco móvel no solo, é possível que elas reduzam a distância de contato de cada partícula do fertilizante com a superfície absorvedora;
- b) absorvendo mais intensamente o fósforo da solução do solo, as raízes micorrizadas criam ao seu redor uma zona de depleção. Para manter o equilíbrio químico de concentração na solução, o fosfato de rocha se dissolveria;
- c) absorvendo mais intensamente uma série de íons, pode ocorrer uma alteração no pH das regiões bem próximas às raízes micorrizadas. Caso o pH diminua, o fosfato de rocha poderia se dissolver mais facilmente, caso estivesse sob a região de atuação.

TINKER (1975) fez um interessante comentário sobre a existência de algumas plantas que não se associam à fungos-VA como repolho, nabo, lupinus, mostarda, e são

consideradas eficientes no uso de fosfato de rocha, enquanto que os cereais algodão e caupi são ineficientes no uso de fosfato de rocha mas se associam a MVA.

Ao que tudo indica, as micorrizas podem não ser a única explicação para o uso ou não de determinada rocha fosfatada, sendo que fatores do solo e da planta devem influenciar consideravelmente.

2.1.4. INFLUÊNCIA DAS ASSOCIAÇÕES MICORRÍZICAS EM PASTAGENS

Aproximadamente 25% da superfície das terras existentes no globo são cobertas por pastagens.

No Brasil, existem por volta de 171,4 milhões de hectares ocupados com pastagens, sendo que 62,5% são consideradas pastagens naturais e o restante (37,5%) pastagens cultivadas (FIBGE, 1982).

Além da importância por ser uma atividade econômica muito difundida no mundo todo, os estudos sobre micorrizas em forrageiras são particularmente interessantes porque, tanto a implantação como o manejo de pastagens tem sido feito geralmente com adições mínimas de fertilizantes inclusive fosfatados. Nesse sentido, os fungos micorrízicos podem ser uma alternativa para melhorar o aproveitamen-

to de nutrientes em pastagens cultivadas, além de provavelmente desempenhar um importante papel ecológico na manutenção de pastagens nativas.

Grande parte das pastagens no Brasil estão localizadas na região dos cerrados onde o gênero *Brachiaria* de origem africana, vem se impondo pela notável capacidade de domínio ecológico em terras ácidas e pobres.

O *Calopogonium mucunoides* é uma leguminosa muito vigorosa, que forma uma massa emaranhada de folhagens de 30 a 40 cm de altura. Quando a estação seca é longa o calopogonio comporta-se como planta anual, mas em ausência de seca prolongada comporta-se como perene. É uma planta utilizada para pastos de corte ou feno e consorcia-se bem com setária, colonião ou braquiárias (PIMENTEL, 1984).

Tanto o calopogônio como a braquiária são conhecidos por formar associações micorrízicas.

2.1.4.1. EFEITOS POSITIVOS DAS MVA

LOPES (1980), estudou a resposta de várias leguminosas e gramíneas forrageiras, à presença ou ausência de quatro espécies de fungos-VA (*G. macrocarpus*; *G. fasciculatus*; *G. margarita*; *A. laevis*). A associação do calopogônio com *G. macrocarpus*, foi a que promoveu maior crescimen

to das plantas embora as diferenças não tenham sido significativas do ponto de vista estatístico.

Quanto à *Brachiaria decumbens* também não houve diferenças estatísticas no crescimento das plantas com relação às diversas espécies de fungos, mas observou-se que a braquiária deixou-se infectar por todos os fungos a exceção de *A.laevis*, o que não ocorreu em setaria e nas duas variedades de colônia utilizadas no experimento.

SANO (1984), também observou o efeito da inoculação de alguns fungos-VA (*Glomus clarum*; *Gigaspora* sp. , *Gigaspora gigantea*) no crescimento e absorção de nutrientes em *Brachiaria decumbens* e outras plantas. O autor observou que à exceção de *G.gigantea*, os outros endófitos foram eficientes em aumentar o crescimento da braquiária. *G.clarum* entretanto, proporcionou os maiores rendimentos de matéria seca, maior infecção nas raízes, e conteúdos significativamente maiores de N, P, K, Ca e Mg na parte aérea das plantas de braquiária.

São vários os relatos do efeito benéfico das associações micorrízicas em plantas forrageiras. A Tabela 1 apresenta alguns exemplos de referências encontradas na literatura onde o efeito benéfico das MVA, foi observado principalmente no crescimento e absorção de fósforo ou ambos.

TABELA 1. Exemplos de referências bibliográficas que relatam efeito positivo das MVA em plantas forrageiras.

Planta	Fungo-VA	Efeito		Referência
		Crescimento	Abs.P	
<i>Brachiaria decumbens</i>	<i>Glomus clarum</i>	+	+	SANO, 1984
<i>Calopogonium mucunoides</i>	<i>Glomus macrocarpum</i>	+	+	LOPES, 1980
<i>Centrosema pubescens</i>	<i>Glomus fasciculatus</i>	+		CRUSH, 1974
<i>Lolium perenne</i> (Azeven)	<i>Glomus fasciculatus</i> e fungos nativos	+	+	POWELL, 1977
<i>Lotus pedunculatus</i>	<i>Glomus fasciculatus</i>	+	n.a.	CRUSH, 1974
<i>Macroptilium atropurpureum</i> (siratro)	<i>Glomus macrocarpum</i> e <i>Glomus fasciculatus</i>	+	n.a.	LOPES et alii, 1980
<i>Melinis minutiflora</i> (capim gordura)	Fungos nativos	+	+	CALDEIRA et alii, 1983
<i>Paspalum notatum</i> (grama batatais)	<i>Glomus fasciculatus</i> e <i>Acaulospora laevis</i>	+	+	MOSSE, 1972a
<i>Stylosanthes guyanensis</i>	<i>Glomus fasciculatus</i>	+	+	MOSSE et alii, 1976
<i>Trifolium repens</i> (Trevó branco)	<i>Glomus fasciculatus</i>	+	+	HAYMAN, 1977
<i>Trifolium subterraneum</i>	Fungos nativos	+	+	SMITH et alii, 1979
<i>Vicia faba</i>	<i>Glomus fasciculatus</i>	+	+	EL-HASSANIN & LIND, 1985
<i>Vigna unguiculata</i> (caupi)	<i>Glomus macrocarpum</i>	+	o	AMES et alii, 1987

+ = Efeito positivo; o = não houve efeito significativo; n.a. = não analisado

2.1.4.2. EFEITO NEGATIVO DAS MVA

É interessante notar, que embora a maioria dos trabalhos encontrados na literatura relatam o efeito benéfico das MVA, existem autores que observaram exatamente o oposto. Geralmente esses experimentos foram realizados em presença de doses crescentes ou quantidades relativamente altas de fósforo o que aparentemente inibe o estabelecimento efetivo da simbiose.

JASPER et alii (1979), realizaram um experimento onde observaram o efeito de doses crescentes de fósforo (0; 0,5; 1,0; 2,0; 4,0 e 8,0 g de superfosfato simples / 3 kg solo), aplicadas a dois solos, no crescimento e absorção de nutrientes em *Lolium rigidum* e *Trifolium subterra*neum. Os autores observaram que a infecção de *Lolium* por fungos-VA em solo virgem não fertilizado foi mais sensível ao aumento de fósforo que a infecção por endófitos nativos do solo onde normalmente se pratica agricultura com fertilizações. Além disso, os autores observaram que a aplicação de fósforo teve efeito negativo na formação da micorriza em *Trifolium*, e que esse efeito foi provavelmente devido ã alta concentração de fósforo na planta, e não pela presença direta de maiores quantidades de fósforo no solo.

BUWALDA & GOH (1982) verificaram os efeitos da inoculação com *Gigaspora margarita* em *Lolium perenne*,

num solo autoclavado; onde aplicaram as seguintes doses de nitrogênio: 0, 50 e 100 kg N/ha como $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ e NaNO_3 . Foi também aplicado fertilizante fosfatado na taxa de 11.2 kg P/ha.

Os autores observaram que houve efeito negativo no crescimento das plantas devido ao fungo micorrízico. A redução no peso de matéria seca foi maior no tratamento contendo 100 kg N/ha como NaNO_3 . A adubação nitrogenada prejudicou também a percentagem de infecção das raízes por fungos-VA.

Como o fósforo foi fornecido em quantidades suficientes para as plantas, é possível que essa tenha sido a razão da baixa eficiência da associação micorrízica. Porém, não é razoável que essa tenha sido a causa de um decréscimo na produção de matéria seca em relação ao tratamento controle não inoculado. Os autores, acreditam que a competição por compostos de carbono fotossintetizados entre a planta e o fungo, seja a provável causa da diminuição no crescimento das plantas.

Resultados obtidos nesse trabalho também mostraram que plantas micorrizadas tiveram taxas mais altas de NH_4^+ livre, o que é um indicador de que a planta hospedeira tem seu metabolismo de produção de aminoácidos e proteínas diminuído por falta de suprimento ideal de carbono.

SAME et alii (1982) também observaram o de crêscimo na percentagem de infecção micorrízica e na concen tração de carboidratos solúveis nas raízes num experim^{en}to com trevo (*Trifolium subterraneum*), quando as doses de fô^s foro foram crescentes (0, 0,25; 0,5; 1,0; 2,0 e 3,0 g P- KH_2PO_4 /3 kg solo). Continuando essa linha de pesquisa, *THOM SON et alii* (1986), compararam os efeitos do suprimento de fô^s foro (0; 18; 35; 53; 70; 105; 140 e 280 $\mu\text{g P/g}$ solo) na formação de fungos-VA *Gigaspora calospora* e *Glomus fascicu latus* em trevo (*Trifolium subterraneum*).

Novamente foi observado que o aumento de fô^s foro causou em ambos os fungos decrêscimo na percentagem de infecção. Na dose mais baixa, o crescimento das hifas do fungo internas à raiz foi reduzido, sendo que na dose mais alta, foi prejudicado também o crescimento externo à raiz. Esses efeitos negativos tiveram nesse trabalho correlação com reduções nas concentrações de carboidratos solúveis em extratos de raiz e em exsudatos, mas não tiveram correlação com compostos amino nitrogenados livres.

Ao que tudo indica, o suprimento de fô^s foro altera o metabolismo de carboidratos que parece influen ciar diretamente a fase inicial e mesmo o estabelecimento da associação micorrízica. Já em 1978, *RATNAYAKE et alii*, verificaram que baixos teores de fô^s foro na planta promovem maior permeabilidade da membrana celular, resultando em maior exsudação de aminoácidos e açúcares na rizosfera, o que favoreceria à colonização das raízes por MVA.

Embora, a grande resposta de crescimento das plantas às associações micorrízicas ocorram geralmente em solos com baixos teores de fósforo, e tem sido frequentemente relatado o efeito negativo de concentrações altas desse elemento para a simbiose, deve existir uma concentração ótima de fósforo no solo onde ocorreria máxima resposta da micorriza. Contudo, a literatura mostra resultados extremamente variáveis, sendo que as respostas de crescimento das plantas micorrizadas em presença de fósforo dependem da planta, do fungo, do solo, de fatores ambientais e obviamente da dose de P.

SPARLING & TINKER (1978b) analisaram as diferenças da inoculação com *Glomus mosseae*, ou com endófitos nativos coletados dos próprios solos em estudo e inoculados em um experimento de vasos contendo os solos esterilizados por radiação γ . As plantas hospedeiras foram cinco gramíneas, comuns em pastagens nativas da Inglaterra (*Anthoxanthum odoratum*; *Nordus stricta*; *Agrostis tenuis*; *Cynosurus cristatus* e *Festuca rubra*).

No estudo com endófitos nativos após vinte semanas da inoculação os autores observaram que as micorrizas não influenciaram favoravelmente o crescimento das plantas, apresentando inclusive crescimento menor que os tratamentos controle. Entretanto as MVA mostraram-se eficientes em aumentar o peso das plantas e o teor percentual de fósforo após dezoito meses da inoculação, no solo que originalmente continha menor teor de fósforo.

Com relação à inoculação com *G.mosseae* houve colonização das raízes em apenas um solo, sendo que após quarenta e três semanas as plantas infectadas eram menores que as plantas dos tratamentos controle, embora tivessem alta percentagem de fósforo.

Trabalhos como o acima citado, mostraram a baixa eficiência das associações micorrízicas em gramíneas. Talvez, fatores relativos à metodologia do experimento, estejam cooperando para que haja uma subestimativa da realidade. É de conhecimento geral que o sistema radicular das gramíneas é bem distribuído no solo o que o torna mais eficiente na exploração e absorção dos nutrientes. No experimento de SPARLING & TINKER (1978b), o solo foi previamente irradiado, o que reconhecidamente libera uma série de nutrientes inclusive fósforo. De acordo com o ponto de vista de que a eficiência das MVA em gramíneas possa estar sendo subestimada, NEWMAN (1985), acrescenta também o fato de que nos experimentos, as gramíneas tem que retirar todos os nutrientes que necessitam do solo, sendo que em pastagens naturais, a ciclagem de nutrientes e principalmente do fósforo, seriam responsáveis pela produtividade e permanência das pastagens ao longo dos anos.

2.1.4.3. EFEITO DAS MVA NA CICLAGEM DO P ENTRE PLANTAS

No ciclo do fósforo em pastagens naturais, on de não ocorre interferências de adubações; as adições e per das dentro do ciclo são mínimas, sendo que a produtividade é então dependente da quantidade de fósforo na biomassa e da rapidez com que o elemento percorre o ciclo.

O sistema radicular participa da ciclagem de nutrientes, quer por meio de exsudatos ou pela própria dege neração das raízes. Nesse sentido, *HEAP & NEWMAN (1980a)*, após observarem a existência de conecções das hifas de fun gos-VA entre raízes diferentes de uma mesma planta (*Lolium perenne*); entre raízes de espécies diferentes (*Lolium pe* renne e *Plantago lanceolata*); e entre uma raiz senescente de *Plantago* com uma raiz jovem de *Lolium*; aventaram a pos sibilidade dos fungos-VA exercerem influência na transferên cia de nutrientes entre as plantas e instalaram seis experi mentos em vasos com o objetivo de elucidar o problema. (*HEAP & NEWMAN, 1980b*).

Esses experimentos contaram de arranjos va riáveis do número de plantas de *Lolium* e *Plantago* por vaso. Num dos experimentos incluiu-se também *Trifolium*. À parte aérea de algumas plantas chamadas de "doadoras" foi injeta da uma solução radiativa de ^{32}P sendo que após uma semana decepo-se as plantas para que o sistema radicular entrasse

em degeneração. O solo foi previamente esterilizado e os tratamentos respectivos receberam inoculação com fungos- VA nativos do próprio solo.

Em todas as combinações de plantas houve ^{32}P transferido da parte aérea das doadoras para a parte aérea das receptoras, sendo que nos tratamentos inoculados a quantidade transferida foi de 2 a 8 vezes superior. Embora esse experimento tenha comprovado que as MVA podem aumentar a transferência de P entre as plantas, não se pode entretanto concluir se as conexões das hifas entre as raízes foram ou não responsáveis pela transferência. Num trabalho posterior *NEWMAN & RITZ (1986)*, ainda estudando os processos de transferência de P entre *Lolium* e *Plantago*, evidenciaram que as interconexões entre as hifas transferem realmente ^{32}P , mas que o principal processo seria uma reabsorção do ^{32}P encontrado no solo, que teria sido perdido pelas raízes das plantas doadoras. Independentemente do processo, foi mais uma vez demonstrado que as associações micorrízicas e xercem importante papel na transferência de ^{32}P entre plantas.

2.1.4.4. EFEITO DAS MVA NA FIXAÇÃO BIOLÓGICA DE N

A fixação biológica de nitrogênio (FBN) atmosférico é um processo simbiótico que ocorre entre plantas e

bactérias. Para muitas pastagens, principalmente as localizadas em solos ácidos e pobres, a FBN tem sido a única fonte econômica viável (ROCHA, 1986).

A simbiose entre as plantas da família das leguminosas e a bactéria *Rhizobium*, tem sido a mais estudada, mas existem associações entre bactérias de vida livre e as raízes de gramíneas, que também fixam nitrogênio atmosférico e são eventualmente importantes para gramíneas forrageiras.

A co-existência de fungos micorrízicos e bactérias formando uma simbiose tripla foi primeiramente descrita por Jance 1986, mas atribui-se a Asai em 1944, a primeira observação de que a nodulação de várias leguminosas em simbiose com *Rhizobium* dependiam da formação de micorri-za-VA (BAREA & AZCÓN-AGUILAR, 1983).

A fixação biológica de nitrogênio é um processo que requer boa nutrição da planta, sendo que o fósforo é um elemento essencial para a eficiência da fixação. Como foi relatado em itens anteriores, os fungos-VA promovem maior absorção de nutrientes pelas plantas, o que poderia favorecer a simbiose fixadora de nitrogênio.

CRUSH (1974), num experimento onde estudou o efeito do fungo-VA *Glomus fasciculatus* em centrosema, estilosantes, trifolium e lotus, observou que o fungo proporcionou maior crescimento das plantas e estimulou a nodula

ção.

MOSSE et alii (1976), estudaram a interação de vários fungos-VA (*Glomus mosseae*, *Glomus fasciculatus*, *Acaulospora laevis*) e três leguminosas forrageiras: trevo, estilosantes e centrosema, em oito solos diferentes, com adições de fosfato de rocha. Os autores notaram que quando o solo apresentava alta deficiência de fósforo, só ocorria nodulação na presença de micorriza.

SMITH & DAFT (1977), estudaram a resposta da leguminosa forrageira alfafa (*Medicago sativa*) inoculada com o fungo micorrízico *Glomus mosseae* e com *Rhizobium meliloti* em presença de várias doses de fósforo (0; 1,2; 1,6 e 2,4 mg P/kg solo) em solo ou areia.

Os autores observaram: aumentos na nodulação, na atividade da nitrogenase, no crescimento e no conteúdo de fósforo, devidos à inoculação com MVA. O efeito mais pronunciado das micorrizas ocorreu quando o nível de fósforo foi 1,2 e mg P/kg solo, sendo que aumentos no crescimento só foram aparentes após dez semanas da inoculação.

SMITH et alii (1979), verificaram que o rápido estabelecimento de MVA nativas em raízes de *Trifolium subterraneum* foi associado com aumento na nodulação, na eficiência do nódulo e na atividade da enzima nitrogenase. Esses efeitos positivos ocorreram antes que se notasse qualquer efeito positivo no crescimento.

Utilizando a técnica do isótopo estável do nitrogênio (^{15}N), *KUCEY & PAUL (1982)* comprovaram que plantas de *Vicia faba* micorrizadas fixavam mais nitrogênio que plantas não micorrizadas. A maior fixação foi atribuída ao aumento na biomassa de nódulos por efeito da inoculação com fungo-VA.

AMES & BETHLENFALVAY (1987), realizaram um experimento onde o sistema radicular de caupi (*Vigna unguiculata*) foi separado ao meio e replantado cada metade em um vaso. O lado 1 recebeu os seguintes tratamentos: MVA (*Glomus macrocarpus*) + 100 ou 200 ou 400 mg de hidroxiapatita / kg. O lado 2 recebeu apenas hidroxiapatita a 100 mg/kg. As plantas foram também inoculadas com *Rhizobium*.

Houve aumento de matéria seca devido as MVA.. Aumentos no peso seco da raiz e na atividade dos nódulos , ocorreram apenas no lado 1 onde havia presença de MVA.

Outro importante aspecto observado pelos autores, foi o fato de que *G. macrocarpus* teve um efeito localizado e não sistêmico na atividade dos nódulos, verificado pela significativa redução da atividade no lado 2 (não inoculado com MVA).

Os autores sugerem que existem interações localizadas e bem mais complexas entre cada componente da simbiose tripartite e que essas interações não podem ser atribuídas apenas à nutrição de P das plantas.

2.2. DIFERENÇAS ENTRE ESPÉCIES VEGETAIS NA ABSORÇÃO DO P

Existem diferenças entre as espécies vegetais quanto à capacidade de aproveitar o fósforo do solo. Essas diferenças abrangem aspectos fisiológicos e genéticos. As plantas de ciclo rápido e sistema radicular pouco desenvolvido, aproveitam mal o P do solo e necessitam teores disponíveis elevados. As plantas de ciclo longo e sistemas radiculares bem desenvolvidos, aproveitam melhor teores relativamente baixos de P disponível (VAN RAIJ, 1981).

Com relação aos fatores inerentes às plantas Black 1968, citado por BEKELE *et alii* (1983), aponta três teorias para explicar as diferenças entre as espécies de plantas e sua habilidade em absorver fosfatos:

1. a teoria do tipo de sistema radicular;
2. a teoria do requerimento de fósforo pelas plantas, e
3. a teoria do equilíbrio iônico.

Quanto ao sistema radicular, as gramíneas são conhecidas por apresentarem raízes bem distribuídas. Neste caso, ocorre maior contato entre o P presente no solo e a superfície de absorção das raízes, o que tornaria as gra

BLACK, C.A., 1968. Soil-Plant Relationships. John Wiley & Sons, N.Y., 792p.

míneas mais eficientes na exploração do fósforo do solo. Apesar disto, as gramíneas não são consideradas muito efetivas na utilização de P quando as fontes são fosfatos de rocha, sendo que outros fatores que serão abordados na terceira teoria parecem se sobrepor.

A teoria do requerimento de P é baseada nas diferenças na taxa com a qual as espécies absorvem fósforo. Espécies de crescimento lento e baixo conteúdo de P são melhor adaptadas às condições de deficiência de fósforo no solo. Para manter uma taxa de crescimento normal espécies de crescimento rápido são conhecidas por terem alta taxa de absorção de P.

Com relação à terceira teoria, sabe-se que as plantas influenciam ativamente o ambiente iônico externo, principalmente nos limites da rizosfera. A exsudação de ácidos orgânicos quelantes, ou excreção de CO_2 podem alterar o pH da rizosfera. Além disto, as plantas diferem na sua capacidade de absorver ânions e cátions do solo, alterando com isto o equilíbrio iônico e influenciando também no pH da rizosfera.

Quando a planta está na presença de nitrato (NO_3^-) no solo, este corresponde a mais da metade da quantidade de ânions absorvidos pela planta. Neste caso a absorção de ânions excede a absorção de cátions.

Afim de manter o equilíbrio de cargas inter

na e externamente, as plantas excretam OH^- ou HCO_3^- . Os cereais são representativos desse grupo de plantas. Outro grupo corresponde às espécies de plantas que absorvem mais cátions que ânions mesmo quando o nitrogênio absorvido é nitrato. Para a manutenção do equilíbrio estas plantas excretam H^+ acidificando o solo.

Plantas que absorvem predominantemente ânions podem alterar seu mecanismo quando o nitrogênio presente é NH_4^+ . Segundo *BEKELE et alii (1983)*, este fato explica porque as gramíneas que apresentam determinada preferência por nitrato, crescem razoavelmente bem quando todo o N absorvido é NH_4^+ .

De acordo com *NYE (1981)*, plantas que fixam nitrogênio simbioticamente e o N_2 atmosférico é a principal fonte de N para a planta, ocorre o mesmo mecanismo que absorção com excesso de cátions sobre ânions e portanto as plantas excretam H^+ , acidificando o solo.

NYE (1981), coloca ainda que, o efeito da liberação de HCO_3^- , OH^- ou H^+ promoverá efeitos sensíveis, dependendo do pH inicial, da capacidade tampão e do teor de umidade do solo.

As plantas que acidificam o solo da rizosfera podem utilizar melhor fontes de fósforo pouco solúveis como os fosfatos de rocha.

No trabalho de *BEKELE et alii (1983)*, a

guminosa *Vicia faba* cujas fontes de nitrogênio foram nitrato e N_2 atmosférico, acidificou o pH da rizosfera e utilizou melhor o fosfato de rocha aplicado.

AGUILAR & VAN DIEST (1981), compararam a utilização de fosfato de rocha por soja (leguminosa) e alfafa (gramínea). A soja por fixar nitrogênio atmosférico acidificou o pH da rizosfera e também mostrou melhor aproveitamento do fosfato de rocha. Quanto à alfafa; mesmo elevando o pH da rizosfera, houve boa utilização apenas de uma das fontes de fosfato de rocha (marrocos), sendo que os autores atribuíram este fato à efetividade do sistema radicular da gramínea.

3. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado em casa de vegetação pertencente ao CENA - Centro de Energia Nuclear na Agricultura, USP, e iniciado no mês de Novembro de 1985.

3.1. SOLO

O solo Latossolo Vermelho-Escuro, textura média, foi coletado na fazenda Sertãozinho pertencente à ESALQ, localizada no município de Piracicaba, SP. O Latossolo estava sob vegetação de cerrado e foi coletado numa profundidade de até 20 cm.

A Tabela 2 apresenta as características químicas desse solo.

Após a coleta, o solo foi seco ao ar, sendo que parte foi posteriormente submetida à desinfestação com brometo de metila.

TABELA 2. Características químicas do solo Latossolo-Vermelho Escuro e da mistura de Solo desinfestado + areia.

	pH	C %	M.O. %	PO ₄ ⁻³	K ⁺	Ca ⁺² meq/100g	Mg ⁺²	Al ⁺³	H ⁺ +Al ⁺³	SO ₄ ⁻² ppm	S meq/100g	CTC meq/100g	V	m %
Solo	4,6	1,1	1,9	0,135	0,08	0,43	0,5	0,69	3,46	10	1,01	447	22,6	40,56
Solo Desinf. + areia	4,5	0,8	1,4	0,092	0,08	0,36	0,3	0,53	3,14		0,74	388	19,1	41,73

Processos ou métodos

pH → água (1:2,5)

C → carmôgrafo (via seca)

PO₄⁻³ + H₂SO₄ 0,05N

K, Ca → HCl 0,05N

H+Al → KCl 1N

SO₄⁻² → CaCl₂ 0,15%

3.2. DESINFESTAÇÃO DO SOLO

A desinfestação do solo foi feita utilizando o produto fumigante brometo de metila; por ser este produto essencialmente tóxico aos fungos micorrízicos. De acordo com a revisão de *MENGE, 1982*, o brometo de metila praticamente não altera a disponibilidade de nutrientes no solo e é eficiente no controle de fungos, sendo o produto mais utilizado em experimentos científicos que necessitam erradicar os fungos micorrízicos do solo.

O solo correspondente aos tratamentos desinfestados foi colocado no interior de uma caixa de cimento amianto com capacidade para 500 litros. Em outra caixa, colocou-se areia suficiente para completar todos os vasos, e procedeu-se à desinfestação.

As caixas foram completamente vedadas com plástico e seladas com fita adesiva. Aplicou-se inicialmente 40 cm³ de brometo de metila. Após dois dias, nova aplicação foi feita, sendo que injetou-se 60 cm³. Novamente após dois dias as caixas foram abertas e coletou-se uma pequena amostra de solo que foi peneirada segundo a técnica de *GERDERMAN & NICOLSON, 1963*, para avaliação da viabilidade dos esporos. Como não se constatou nenhum esporo viável, ou seja, todos os esporos observados apresentaram-se rompidos ou

boiando em suspensão na placa de Petri, considerou-se que o solo estava realmente desinfestado.

Como medida de segurança, afim de evitar qualquer perda do gás brometo que é altamente tóxico, colocou-se sobre as caixas vedadas, tampas de latão e isolou-se a área.

3.3. A APLICAÇÃO DE ^{32}P

Para a marcação dos íons ortofosfato trocáveis do solo segundo a técnica de *LARSEN, 1952*, adquiriu-se junto à Seção de Radioisótopos, IPEN, São Paulo, a solução radioativa que constou de 1 ml de ácido fosfórico $\text{H}_3^{32}\text{PO}_4$, livre de carregador.

Em capela de Lucite, própria para uso de material radioativo, retirou-se a solução com uma seringa e diluiu-se em 250 ml de água destilada. Ainda na capela, com auxílio de uma pró-pipeta, pipetou-se 1 ml da solução radioativa diluída, contendo 230 μCi , em copinhos de plástico previamente preparados, que continham 50 g de areia desinfestada com brometo de metila e peneirada em peneira de 0,5 mesh.

Os copinhos contendo areia e solução radioa

tiva foram levados para secagem em estufa a 30°C durante seis horas. Posteriormente foram misturados ao solo em sacos plásticos e homogeneizados intensamente.

A atividade do radioisótopo foi portanto, aproximadamente 66 $\mu\text{Ci } ^{32}\text{P/kg}$ de solo + areia.

3.4. OS FERTILIZANTES

Utilizou-se neste experimento três fontes de fósforo: *O superfosfato triplo, o fosfato natural de Araxá e o fosfato de Araxá parcialmente solubilizado*, denominados: *ST, FNA e FAPS*, respectivamente.

A Tabela 3, apresenta as características químicas e granulométricas desses fertilizantes.

O fosfato natural de Araxá é a própria rocha fosfática finamente moída. Foi processada e embalada pela CAMIG - Companhia Agrícola de Minas Gerais. O FAPS, foi obtido pela acidulação parcial do fosfato natural de Araxá, o que aumenta a solubilização de fósforo tanto em água como em ácido cítrico. Foi produzido pela ARAFÉRTIL-MG. O ST foi adquirido no comércio local.

TABELA 3. Características químicas e granulométricas dos fertilizantes utilizados no experimento

Fertilizantes	% P ₂ O ₅ total	% Total Extraído		Gesso (mg/g)	Granulometria mm				
		água	ác. cítrico 2% (1:100)		>2	2-I	1-0,5	0,5-0,053	0,053-0,074
ST	45	93,00	97,78	0	1	99	0	0	0
FAPS	26	30,77	38,46	144,3	53,2	46,8	0	0	0
FNA	24	0	4,00	0	0	0	0	97,8	2,2

Pelo teor de P_2O_5 total calculou-se as quantidades equivalentes a 15 e 45 ppm P para cada fertilizante. Utilizou-se portanto: 0,5 ou 1,5 g de FNA; 0,46 ou 1,38 g de FAPS e 0,284 g/vaso de ST conforme o respectivo tratamento.

Além dos fertilizantes fosfatados, foi aplicado a cada vaso uma adubação básica e uniforme, na forma de solução nutritiva, contendo a maioria dos nutrientes essenciais. A uréia foi aplicada diretamente nos vasos. Após a aplicação, as concentrações em cada vaso foram as indicadas na Tabela 4.

Como o FAPS contém gesso ($CaSO_4$), e nosso objetivo era apenas estudar a fonte de fósforo, foi também aplicado aos vasos que não continham FAPS, 200 mg de gesso/vaso. Para os tratamentos com FAPS dose 15 ppm P foram adicionados 66,7 mg de gesso/vaso.

3.5. OS TRATAMENTOS

Foi estudada a resposta do *Calopogonium mucunoides* e *Brachiaria humidicola* aos tratamentos apresentados na Tabela 5.

TABELA 4. Concentração e fontes dos nutrientes adicionados aos vasos.

Nutriente	Concentração		Fonte
	ppm	mg nutriente/vaso	
N*	42,0	147,0	$\text{KNO}_3 + \text{Ca}(\text{NO}_3)_2 + \text{uréia}$
K	25,8	90,3	KNO_3
Ca	36,5	128,0	$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 + \text{gesso}$
Mg	9,6	33,6	MgSO_4
S	28,8	100,7	$\text{MgSO}_4 + \text{gesso}$
B	0,510	1,780	H_3BO_3
Cu	0,021	0,071	$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$
Zn	0,037	0,129	$\text{Zn}(\text{SO}_4)_2 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$
Fe	0,860	3,01	Fe EDTA
Mo	0,011	0,037	H_2MoO_4

* Aos vasos com braquiária foram aplicados mais 40 ppm N , como uréia, parcelados 20 + 20, aos 90 e 163 dias após germinação.

TABELA 5. Tratamentos estudados no experimento

Tratamentos		Condição Solo	MVA	Fertilizante	Dose (ppm P)
nº	Nome				
T ₁	MVA-FN D ₁	Desinfestado	Inoculado	FN	15
T ₂	MVA-FN D ₂	Desinfestado	Inoculado	FN	45
T ₃	MVA-FAPS D ₁	Desinfestado	Inoculado	FAPS	15
T ₄	MVA-FAPS D ₂	Desinfestado	Inoculado	FAPS	45
T ₅	MVA-ST D ₁	Desinfestado	Inoculado	ST	15
T ₆	MVA+MN-FN D ₁	Não Desinfestado	Inoculado	FN	15
T ₇	MVA+MN-FN D ₂	Não Desinfestado	Inoculado	FN	45
T ₈	MVA+MN-FAPS D ₁	Não Desinfestado	Inoculado	FAPS	15
T ₉	MVA+MN-FAPS D ₂	Não Desinfestado	Inoculado	FAPS	45
T ₁₀	MVA+MN-ST D ₁	Não Desinfestado	Inoculado	ST	15
T ₁₁	MN-FN D ₁	Não Desinfestado	Não Inoculado	FN	15
T ₁₂	MN-FN D ₂	Não Desinfestado	Inoculado	FN	45
T ₁₃	MN-FAPS D ₁	Não Desinfestado	Inoculado	FAPS	15
T ₁₄	MN-FAPS D ₂	Não Desinfestado	Inoculado	FAPS	45
T ₁₅	MN-ST D ₁	Não Desinfestado	Inoculado	FAPS	15
T ₁₆	CONTROLE	Desinfestado	Não Inoculado	-	-

MVA = Micorriza vesicular-arbuscular inoculada

MN = Micorriza vesicular-arbuscular nativa

FN = Fósforo Natural Araxá

FAPS= Fósforo Natural Araxá Parcialmente Solubilizado

ST = Superfosfato Triplo

3.6. A INSTALAÇÃO DO EXPERIMENTO

Após a desinfestação, o solo foi pesado e distribuído a razão de 2,5 kg/vaso. Pesou-se também 1 kg de areia/vaso e homogeneizou-se completamente. Uma nova amostra foi retirada para análise química (Tabela 2).

A mistura de solo + areia correspondente a cada repetição foi colocada em sacos plásticos. Posteriormente, adicionou-se os copinhos contendo areia + ^{32}P e a dose correspondente a cada fertilizante fosfatado. Cada repetição foi então intensivamente homogeneizada.

Para evitar contaminação por poeira radioativa, manteve-se o solo dentro dos sacos plásticos, que foram apenas colocados sobre os vasos. Com a adição de água, suficiente para completar 75% da capacidade de campo, o solo amoldou-se ao vaso, e as bordas do saco plástico foram então dobradas para fora contornando as bordas do vaso.

3.7. A SEMEADURA

As sementes de calopogônio foram submetidas à escarificação, sendo mergulhadas em ácido sulfúrico

(H₂SO₄), concentrado por três minutos. Procedeu-se à secagem das sementes em estufa a 25°C por seis horas.

As sementes de braquiária foram escolhidas manualmente devido à grande quantidade de palha e impurezas.

No dia da semeadura procedeu-se à esterilização das sementes de ambas as plantas, mergulhando-as em água oxigenada H₂O₂ (10% volume) por cinco minutos. Posteriormente foram semeadas à razão de seis sementes por vaso. Após uma semana foi feito o desbaste, ficando apenas duas plantas/vaso.

3.8. O INÓCULO DE FUNGOS MICORRÍZICOS

O inóculo de fungos micorrízicos foi cedido pela Seção de Microbiologia do Solo do CENA. Foi preparado através de uma mistura dos seguintes fungos micorrízicos

- . *Glomus leptoticum*
- . *Glomus macrocarpum*
- . *Acaulospora morrowae*

O fungo *G. leptoticum* foi retirado de vasos de cultura contendo solo cultivado com feijoeiro. Aproxima

damente 2 kg de solo desses vasos foram peneirados num conjunto de peneiras consecutivas de malha 0,71 mm; 0,25 mm; 0,105 mm; 0,053 mm, com a finalidade de se concentrar os esporos em volumes pequenos de solo, segundo a técnica de GERDERMANN & NICOLSON (1963). O mesmo procedimento foi feito para o solo contendo os outros fungos. Os solos peneirados foram secos em casa de vegetação. Ao final obteve-se 168 g de solo contendo *G. leptoticum*; 100 g de solo contendo *G. macrocarpum* e 100 g de solo contendo *A. morrowae*. Pesou-se e distribuiu-se 6 g/vaso. Ao todo foram adicionados aproximadamente 250 esporos/6 g de inóculo.

3.9. A INOCULAÇÃO DE FUNGO MICORRÍZICO E *Rhizobium* spp

A inoculação foi feita dez dias após a germinação e através de um bastão esterilizado com H₂O₂ a cada tratamento, colocou-se as 6 g de inóculo bem próximas às raízes.

Os tratamentos com solo desinfestado receberam também uma solução obtida por sete filtrações sucessivas do solo que continha o inóculo e do próprio solo do experimento não desinfestado. Este procedimento visa repor a população de bactérias e vírus que possam ter sido erra

dicadas pela fumigação ou introduzidas juntamente com o inóculo de fungos-VA.

Para a leguminosa forrageira, preparou-se um inóculo de *Rhizobium* spp, com as seguintes estirpes, cedidas pela Seção de Microbiologia do Solo do CENA/USP.

- . C-85 *R. spp* proveniente de Sydney, Australia; isolada de siratro; nome original: NGR-8.
- . C-75 *R. spp* proveniente de Belém, Brasil; isolada de *Stylosanthes*; nome original: S-5.

As bactérias multiplicaram-se em meio de cultura YWA por três dias. Fêz-se uma suspensão com solução salina NaCl (0,85 g/100ml) e pipetou-se 1 ml/vaso num orifício feito próximo às raízes.

3.10. CONDUÇÃO DO EXPERIMENTO

As plantas leguminosas foram levemente atacadas por ácaros e trips. Aplicou-se em todo o experimento, cinco pulverizações parceladas de Thiodan, (endossulfan) a 0,2 ml/litro e acaricida Plictran (hidróxido de triciclohexil estanho) a 0,8 g/litro.

3.11. DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Adotou-se neste experimento, um esquema fatorial (3x5), com um tratamento controle adicional, e quatro repetições, sendo que o tratamento controle teve apenas três repetições. Todos os tratamentos foram estudados para as duas plantas.

Com os dados obtidos foram feitas análises de variância para experimentos inteiramente casualizados. As médias foram comparadas pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

As médias obtidas no tratamento controle só foram incluídas na análise estatística final, quando se considerou a somatória de matéria seca, conteúdo de N e P obtidos nos três cortes das plantas.

3.12. COLETA E PARÂMETROS OBSERVADOS

Realizaram-se neste trabalho três épocas de coleta para a parte aérea das plantas. A esta operação denominou-se "corte" das plantas. A primeira coleta ocorreu após 60 dias da germinação das sementes; a segunda após

120 dias e a terceira após 182 dias.

Para que ocorresse a rebrota das plantas, os cortes foram feitos de maneira a deixar três gemas para o calopogônio e 3 cm de altura aproximadamente para a braquiária.

A cada corte a parte aérea era colocada em estufa a 35°C por dois dias, posteriormente, foram avaliados os seguintes parâmetros:

- . matéria seca das plantas
- . teor percentual e total de N
- . teor percentual e total de P
- . número de nódulos, massa total e massa média/nódulo
- . percentagem de raízes colonizadas por MVA
- . presença de MVA nos nódulos
- . atividade de ^{32}P na parte aérea das plantas
- . eficiência de utilização do fertilizante fosfatado
 - . teor percentual de P da planta proveniente do fertilizante
 - . teor percentual de P da planta proveniente do solo
 - . teor percentual de P do fertilizante utilizado
 - . disponibilidade relativa do fertilizante (cálculo por diluição isotópica)
 - . disponibilidade relativa do fertilizante (cálculo direto)

3.13. ANÁLISE DE N e P

A matéria seca das plantas foi moída em moedor tipo Willey produzido por Manesco & Ranieri, Ind. Brasileira, sendo que amostras de 1 g foram submetidas à digestão sulfúrica e nitro-perclórica, para determinação de N e P respectivamente.

Após a digestão nitro-perclórica, retirou-se uma alíquota de 15 ml que foi colocada em frascos plásticos próprios para a contagem do ^{32}P por efeito Cerenkov em cintilador Beckman LS-230.

O nitrogênio foi analisado pelo método semi-microkjeldahl e o fósforo por colorimetria com molibdato de amônio, segundo *SARRUGE & HAAG, 1974*.

3.14. DETERMINAÇÃO DE PERCENTAGEM DE COLONIZAÇÃO POR FUNGOS-VA E NODULAÇÃO

Na última amostragem (182 d.a.p.) coletou-se também o sistema radicular, separando-se por meio de jatos de água o solo que envolvia as raízes. Para a braquiária, as raízes foram lavadas e colocadas em vidros contendo solução

de FAA preparada segundo o indicado na Tabela 1 do apêndice .

Após a lavagem das raízes de calopogônio, os nódulos foram separados e contados. Em cada repetição, dez nódulos foram separados para a observação da presença de fungos MVA, sendo que foram conservados no mesmo frasco que continha o respectivo sistema radicular, com solução de FAA. Os nódulos foram então colocados em estufa a 60°C para secagem, e determinou-se posteriormente o peso seco da massa de nódulos e o peso médio de cada nódulo, adicionando-se então o valor equivalente ao peso médio de dez nódulos no peso seco total.

A presença de fungos micorrízicos nos nódulos foi detectada submetendo os nódulos à coloração junto com as raízes; pelo método de *PHILLIPS & HAYMAN (1970)*. Cada nódulo foi posteriormente observado na lupa e a presença ou ausência de fungo micorrízico foi detectada.

Para a avaliação da colonização micorrízica, as raízes foram submetidas a coloração com corante 'trypan blue' segundo a técnica de *PHILLIPS & HAYMAN (1970)* e mantidas em lactoglicerol até que fosse realizada a estimativa da percentagem de colonização segundo o método da placa riscada *GIOVANETTI & MOSSE (1980)*. As soluções de corante e lactoglicerol foram preparadas segundo a Tabela 1 do apêndice. A percentagem de infecção das raízes foi obtida segun

do a equação:

$$\% \text{ infecção} = \frac{\text{n}^\circ \text{ raízes infectadas}}{\text{n}^\circ \text{ raízes totais}} \cdot 100$$

3.15. DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ESPECÍFICA DA PLANTA

A atividade específica de ^{32}P na parte aérea das plantas foi obtida pela contagem por minuto de ^{32}P em 1 g de matéria seca (cpm/g matéria seca) e pela razão entre a contagem de ^{32}P por minuto e o conteúdo de fósforo total absorvido pela planta (cpm/mg P).

3.16. EFICIÊNCIA DE UTILIZAÇÃO DO FERTILIZANTE FOSFATADO

A eficiência de utilização do fertilizante fosfatado foi calculada através dos seguintes parâmetros :

- . teor percentual de fósforo na planta derivado do fertilizante ($P_{df}\%$)
- . teor percentual de P na planta derivado do solo ($P_{ds}\%$)

- . teor percentual de P do fertilizante utilizado pelas plantas ($P_{fu}\%$).
- . disponibilidade relativa calculada por diluição isotópica (DRDI %)
- . disponibilidade relativa calculada de forma direta (DRD%)

O método para a avaliação da eficiência de rochas fosfatadas utilizando fósforo radioativo foi inicialmente proposto por *FRIED (1964)*, e desenvolvido e modificado nos anos posteriores pelo corpo técnico-científico dos laboratórios da IAEA - Agência Internacional de Energia Atômica, em Viena, Áustria (*ZAPATA & AXMAN, 1985*).

Essa metodologia exige um tratamento onde não se adiciona a rocha fosfatada, sendo que a solução de ^{32}P adicionada ao solo será trocada com o P fracamente ligado ou em solução (P lábil). Considera-se então, que o fósforo radioativo marca o fósforo disponível do solo.

Para o tratamento onde se adiciona a rocha fosfatada, temos então duas fontes de fósforo. O fósforo do solo e o fósforo fornecido pelo fertilizante. Neste caso, a solução de ^{32}P continua marcando o fósforo disponível presente no solo e quanto maior for a disponibilidade de fósforo na rocha fosfatada, menor será a atividade específica no material vegetal, uma vez que o ^{32}P estará mais diluído entre os átomos de ^{31}P .

O teor percentual de fósforo na planta que é proveniente da fonte marcada ou seja, a percentagem de fósforo na planta derivado do solo (Pds%) foi calculado por:

$$Pds\% = \frac{\text{Ativ.espec.planta na presença de Fert.Fosfatado}}{\text{Ativ.espec.planta na ausência de Fert.Fosfatado}} \cdot 100$$

Por diferença o teor percentual de P na planta derivado do fertilizante (Pdf%) foi calculado por :

$$Pdf\% = 100 - Pds\%$$

O teor percentual de fósforo do fertilizante utilizado (Pfu%) foi calculado por:

$$Pfu\% = \frac{Pdf\% \cdot \text{conteúdo P na planta}}{\text{conteúdo de P no fertilizante}}$$

A disponibilidade relativa determinada por diluição isotópica (DRDI %) foi determinada pela relação entre o fósforo fornecido pela rocha fosfatada e o fósforo

fornecido pelo fertilizante fosfatado solúvel, o superfosfato triplo, e calculada por:

$$\text{DRDI (\%)} = \frac{\text{Pdf\% (FR)}}{\text{Pdf\% (ST)}} \cdot 100$$

A disponibilidade relativa pode também ser calculada por diferença (DRD %), entre o fósforo fornecido pela rocha fosfatada e o fertilizante solúvel. Neste caso não se utilizam os conceitos de diluição isotópica e a DRD % é calculada por:

$$\text{DRD (\%)} = \frac{\text{P total abs.trat.FR} - \text{P total abs.trat.sem fert.}}{\text{P total abs.trat.ST} - \text{P total abs.trat.sem fert.}} \cdot 100$$

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. CALOPOGÔNIO

4.1.1. MATÉRIA SECA

A Tabela 6, apresenta as médias de produção de matéria seca obtidas no 1º, 2º e no 3º corte, além da soma total da matéria seca produzida nos três cortes das plantas de *Calopogonium mucunoides*. Com relação ao 1º corte, sobressai-se o fato de que o conteúdo de matéria seca em média, nos tratamentos em solo desinfestado (tratamentos MVA + fertilizante), foram significativamente menores, que as médias obtidas nos demais tratamentos, comparáveis apenas à média obtida no tratamento controle. Ao que tudo indica, a desinfestação com brometo de metila proporcionou efeito prejudicial no crescimento inicial das plantas. Observando o 2º e o 3º corte das plantas, verifica-se que o efeito prejudicial do fungicida não mais ocorreu, ficando evidente, neste trabalho, que a aplicação do brometo de metila promoveu um atraso no crescimento das plantas. É possível que o brometo tenha interferido nos processos de germinação e estabelecimento da nascediça, não mais influen

TABELA 6. Efeito dos diferentes tratamentos sobre a matéria seca (g) das plantas de *Calopogonium mucunoides*, coletados aos 60, 120 e 182 dias após a germinação (1º, 2º, 3º cortes respectivamente) e total de matéria seca produzida.

Tratamentos	Matéria Seca (g)			TOTAL
	1º Corte	2º Corte	3º Corte	
MVA-FN D ₁	8,38gh	15,51fgh	7,70a	31,59ef
MVA-FN D ₂	7,23h	16,96efg	7,59a	31,78ef
MVA-FAPS D ₁	7,97h	15,73fgh	7,41a	31,11ef
MVA-FAPS D ₂	12,27fg	22,16ab	8,33a	42,76bc
MVA-ST	15,19cdef	20,40bcd	7,72a	43,31bc
MVA+MN-FN D ₁	13,72def	13,83h	3,21bc	30,77f
MVA+MN-FN D ₂	16,54bcde	19,38bcde	3,90bc	39,82cd
MVA+MN-FAPS D ₁	18,43abc	18,65cdef	4,11bc	41,20bc
MVA+MN-FAPS D ₂	19,35ab	24,86a	4,52bc	48,73a
MVA+MN-ST	20,68a	21,97ab	2,70c	45,35ab
MN-FN D ₁	13,03ef	16,39efgh	3,61b ^b	33,04ef
MN-FN D ₂	14,55cdef	17,24defg	3,88bc	35,66def
MN-FAPS D ₁	17,01abcd	15,44gh	3,33bc	35,79de
MN-FAPS D ₂	17,22abcd	19,05bcde	5,05b	41,31bc
MN-ST	19,31ab	21,07bc	2,92bc	43,31bc
CONTROLE	6,65	4,44	3,10	14,18g

F= 34,29	F=24,31	F= 24,14	F= 63,75
(>0.00001)	(>0.00001)	(>0.00001)	(>0.00001)
CV= 5,22%	CV= 6,74%	CV= 17,26%	CV= 5,22%

Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si (TUKEY 5%)

ciando em estádios posteriores de crescimento das plantas .

MENGE (1982), revisando uma série de trabalhos da literatura, coloca que o efeito negativo da fumigação no crescimento de plantas seria devido à ausência da simbiose com fungos micorrízicos. É possível que, em nosso experimento, tenha ocorrido um período onde os propágulos dos fungos inoculados estivessem se adaptando as novas condições do solo, e iniciando a colonização das raízes, período este em que as plantas não dispõem da simbiose com fungos-VA. Os tratamentos não fumigados contavam com a presença de fungos-VA nativos, já adaptados às condições ambientais do solo.

A primeira etapa de coleta mostra ainda, uma predominância dos tratamentos que incluíram fertilizante ST e FAPS, independentemente de se ter inoculado ou não o solo com fungos-VA.

No 2º corte, as maiores médias de matéria seca também foram obtidas nos tratamentos que incluíram ST e FAPS, sendo que se nota já nesta etapa de coleta, diferenças estatísticas entre as doses de P quando o fertilizante utilizado foi o FAPS. Com relação FNA, as diferenças entre as doses de P só foram significativas do ponto de vista estatístico nos tratamentos inoculados e não desinfestados.

Observa-se ainda nesta segunda coleta das

plantas, que as médias de matéria seca obtidas nos tratamentos não inoculados, ou seja, apenas com a presença de fungos-VA nativos, foram de maneira geral, menores que as médias obtidas nos tratamentos inoculados em solo não desinfestado.

É interessante notar que o tratamento controle apresentou acúmulo de matéria seca extremamente inferior a todos os demais tratamentos.

Analisando o 3º corte das plantas de calopogônio, ainda na Tabela. 3, verifica-se que ocorreu situação diferente à observada nos cortes anteriores. Devido ao atraso promovido pela aplicação do brometo de metila no crescimento das plantas, observa-se que as maiores médias para o peso de matéria seca neste corte, foram obtidas exatamente nos tratamentos onde se aplicou a desinfestação. Comparando os demais tratamentos aplicados em solo não desinfestado inoculado ou não, nota-se que as médias de produção de matéria seca foram todas similares do ponto de vista estatístico, evidenciando que a introdução de fungos micorrízicos não favoreceu o crescimento das plantas quando os nutrientes estavam praticamente esgotados no solo.

Analisando a produção de matéria seca total (1º + 2º + 3º cortes) das plantas de calopogônio, observamos que, em relação ao tratamento controle (sem fósforo e sem

micorriza), todos os demais tratamentos aumentaram efetivamente a produção de matéria seca das plantas. As maiores médias foram obtidas quando se utilizou o fertilizante ST e FAPS em sua maior dosagem.

Com relação à inoculação com MVA, observa-se que houve aumentos significativos do ponto de vista estatístico quando a inoculação ocorreu em solo não desinfestado, ou seja, na presença de fungo-VA nativo, e quando a fonte de P foi o fertilizante FAPS em ambas as dosagens aplicadas. Este fato evidencia a possibilidade de que a inoculação de fungos micorrízicos-VA em solos que continham populações de fungos-VA nativas, possam realmente, sob determinadas condições trazer benefícios às plantas. Efeitos positivos no crescimento de plantas, atribuídos à inoculação micorrízica, em condições naturais de solo, foram também observadas por *MOSSE (1975)*; *BAGYARAJ & MANJUNATH (1980)* e *RANGELEY et alii (1982)*. Em nosso experimento entretanto, o efeito positivo da inoculação micorrízica ocorreu apenas quando o fertilizante fosfatado utilizado foi o FAPS. Os fosfatos parcialmente solubilizados, a exemplo do FAPS, apresentam maior teor de fósforo solúvel que a rocha fosfatada que os originaram, e apresentam também lenta solubilização da parte menos solúvel de fósforo. Estes fatos podem ter determinado o melhor aproveitamento do nutriente pela simbiose planta-fungo-VA, traduzindo em maior crescimento vegetativo

Muito embora não se tenha encontrado na literatura nenhuma referência quanto à melhor utilização de fosfatos parcialmente solubilizados por plantas micorrizadas, uma vez que nenhum dos trabalhos revisados incluíam essas fontes de fertilizantes, salienta-se que esta constatação tem importância prática, uma vez que, em se tratando de plantas forrageiras o que se pretende é exatamente o aumento de matéria vegetal aliada a outros fatores, como valor nutritivo, palatabilidade, persistência, competitividade, etc.

Quando o fertilizante foi entretanto, o FNA, a inoculação micorrízica não favoreceu o crescimento das plantas de calopogônio. Embora, muitos autores tenham relatado o melhor aproveitamento de fosfatos de rocha por plantas micorrizadas, a exemplo de, *HAYMAN (1977)*, *SPARLING & TINKER (1978)*; *WAIDYANATHA et alii (1979)*; *BAREA et alii (1980)*; *CARDOSO (1985)*; verifica-se que essa resposta é dependente das condições dos experimentos e pode ser observada para algumas plantas e não para outras, como foi evidenciado por *JACKSON et alii (1977)*.

Em nosso trabalho, é possível que o baixo teor de fósforo solúvel aliado a baixa solubilidade de fósforo do FNA, não tenham favorecido a ocorrência do efeito benéfico das associações micorrízicas. Se realmente, os fungos micorrízicos não são capazes de solubilizar fosfatos do solo, como foi comprovadamente demonstrado por experimen

tos relatados por SANDERS & TINKER (1971) e HAYMAN & MOSSE (1972); sugere-se que deve haver uma concentração ideal de fósforo em solução, onde se evidencie o efeito benéfico das associações micorrízicas. Neste caso, supõe-se que o FNA não forneceu quantidades mínimas ideais de fósforo solúvel.

Quanto à utilização do superfosfato triplo, observa-se que as médias obtidas foram similares, independentemente da inoculação micorrízica ou da desinfestação do solo. Salienta-se também, que a produção de matéria seca com a adição de ST na dose de 15 ppm P foi também similar às médias obtidas quando o fertilizante foi o FAPS (dose 45 ppm P); exceto no tratamento MVA + MN - FAPSD₂ onde a média obtida foi superior, em relação ao tratamento MN-ST.

4.1.2. NITROGÊNIO

A Tabela 7 apresenta os dados de percentagem e conteúdo de nitrogênio nas três épocas de coleta e o total obtido pela somatória dos três cortes.

No 1º corte observa-se que a percentagem de nitrogênio foi praticamente similar em todos os tratamentos, apenas o tratamento onde se aplicou fosfato natural de

TABELA 7. Efeito dos diferentes tratamentos sobre o teor e conteúdo de N na parte aérea das plantas de *Calopogonium mucunoides*, coletadas aos 60, 120 e 182 dias após a germinação (1º, 2º, 3º cortes respectivamente) e conteúdo total de nitrogênio acumulado.

Tratamentos	1º Corte		2º Corte		3º Corte		Cont. N Total (mg/vaso)
	§N	cont N(mg/vaso)	§N	cont. N(mg/vaso)	§N	cont.N(mg/vaso)	
MVA-FN D ₁	2,15a	180,10i	1,84bcd	286,08e	1,97e	151,66bcde	617,09ef
MVA-FN D ₂	1,36b	98,77j	1,88bcd	319,84de	2,26cde	171,59ab	590,08f
MVA-FAPS D ₁	2,37a	188,57i	1,69d	266,54e	2,23de	165,48abc	620,60ef
MVA-FAPS D ₂	2,25a	276,82h	1,78cd	392,80bc	2,41bcde	201,94a	871,57cd
MVA-ST	2,33a	352,80defg	1,77cd	362,13cd	2,30cde	177,84ab	892,76cd
MVA+MN-FN D ₁	2,30a	315,90fgh	1,94bcd	268,14e	3,25a	104,12ef	688,17e
MVA+MN-FN D ₂	2,28a	375,80def	1,88bcd	365,29cd	3,05ab	119,29cdef	860,39d
MVA+MN-FAPS D ₁	2,23a	411,12bcd	1,94bcd	362,11cd	2,83abcd	116,25def	889,48cd
MVA+MN-FAPS D ₂	2,43a	470,20ab	1,99bc	493,35a	3,45a	156,16abcd	1119,72a
MVA+MN-ST	2,34a	483,57a	2,02abc	441,96ab	3,22a	86,71f	1012,24b
MN-FN D ₁	2,23a	291,15gh	1,88bcd	308,36de	2,92abcd	104,27ef	703,78e
MN-FN D ₂	2,31a	336,30efgh	2,07ab	357,74cd	2,97abc	114,84def	806,88d
MN-FAPS D ₁	2,31a	393,39cde	1,97bcd	303,75de	3,13ab	102,90f	800,04d
MN-FAPS D ₂	2,41a	413,41abcd	2,29a	437,29ab	2,43bcde	113,74def	964,49bc
MN-ST	2,41a	462,34abc	2,13ab	449,36ab	3,55a	102,14f	1013,84b
CONTROLE	2,23	147,08	1,43	63,01	1,83	56,41	266,49g

F= 20,54 F= 65,52 F= 7,20 F= 27,67 F= 11,15 F= 13,24 F= 115,82
(>0,00001) (>0,00001) (>0,00001) (>0,00001) (>0,00001) (>0,00001) (>0,00001)
CV= 3,41% CV= 8,34% CV= 3,53% CV= 7,43% CV= 5,98% CV= 14,45% CV= 4,59%

Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si (TUKEY 5%)

Araxá na maior dosagem em solo desinfestado inoculado a média foi menor, sendo que não se teria nenhuma evidência concreta para explicar este fato.

Analisando o parâmetro conteúdo de N neste 1º corte, observamos que as maiores médias foram obtidas nos tratamentos onde se aplicou ST e FAPS, acompanhando a mesma tendência observada para o parâmetro matéria seca das plantas. Ainda nesta primeira época de amostragem, nota-se que a desinfestação do solo, por ter prejudicado o crescimento das plantas, prejudicou também o acúmulo de nitrogênio, não tendo entretanto alterado o parâmetro percentagem de nitrogênio das plantas.

No 2º corte das plantas, as maiores médias de percentagem de nitrogênio foram também obtidas nos tratamentos com supertriplo e FAPS. Quanto ao conteúdo de nitrogênio nas plantas, observa-se que não houve diferenças estatísticas quando se inoculou ou não o solo com fungos micorrízicos, em todos os tratamentos, comparados um a um. Ainda neste corte, observa-se que em alguns casos, ocorreram diferenças no conteúdo de nitrogênio, quando se variaram as doses de um mesmo fertilizante fosfatado. Proporcionando um maior crescimento da planta o fertilizante fosfatado fez com que as plantas acumulassem também mais nitrogênio.

Na terceira época de amostragem, nota-se que

os tratamentos aplicados em solo inoculado apresentaram médias menores de percentagem de nitrogênio justamente porque, devido a um maior acúmulo de matéria seca, teria ocorrido um efeito de diluição do nutriente.

Comparando os tratamentos aplicados em solo não desinfestado, observa-se que a inoculação proporcionou médias de percentagem e conteúdo de nitrogênio maiores, apenas no tratamento onde se utilizou o fertilizante FAPS em sua maior dosagem. É interessante salientar, que a inoculação micorrízica nesse mesmo tratamento e nessa mesma época de amostragem, não proporcionou maior acúmulo de matéria seca e nem de percentagem e conteúdo de fósforo (ver Tabelas 6 e 8).

Analisando o conteúdo de nitrogênio acumulado durante todo o período do experimento, (Tabela 7), observa-se que por provável efeito do acaso, a desinfestação fez com que as plantas tivessem acúmulo menor de nitrogênio em pelo menos três tratamentos (FND₂, FAPSD₁, ST).

É bem provável que o menor acúmulo de nitrogênio, tenha ocorrido devido à possível influência prejudicial da desinfestação na fixação biológica de nitrogênio. Como pode-se notar na Tabela 9, o número de nódulos foi sensivelmente menor nos tratamentos que tiveram desinfestação do solo.

Com relação aos tratamentos em solo não desinfestado, observa-se que a inoculação micorrízica proporcionou maior acúmulo de nitrogênio apenas quando se utilizou o fertilizante fosfatado FAPS em sua maior dosagem.

4.1.3. FÓSFORO

Os dados de teores percentuais e conteúdos parciais (obtidos em cada corte) e total de fósforo encontram-se na Tabela 8.

No 1º corte das plantas, observa-se que os tratamentos aplicados em solo desinfestado apresentaram teores percentuais de fósforo mais elevado. Essa maior conocentração do fósforo se deve provavelmente ao menor cresciomento da planta. Com relação ao conteúdo de fósforo nessa primeira amostragem, verifica-se que a desinfestação, por ter prejudicado o crescimento das plantas também prejudicou o acúmulo de fósforo na matéria seca das plantas.

Observa-se também, que os tratamentos que inocluíram fertilizante ST e FAPS (dose 45 ppm P) apresentaoram as maiores médias de conteúdos de fósforo já no 1º corote das plantas. Saliencia-se também, que a dosagem três vezes superior do P fornecida como FAPS, proporcionou conteúdos

TABELA 8. Efeito dos tratamentos sobre o teor e conteúdo de fósforo na parte aérea das plantas de *Calopogonium mucunoides*, coletadas aos 60, 120 e 182 dias após a germinação (1º, 2º, 3º cortes respectivamente) e conteúdo total de fósforo acumulado.

Tratamentos	1º Corte		2º Corte		3º Corte		Cont. F TOTAL (mg/vaso)
	P (%)	Cont. P (mg/vaso)	P (%)	Cont. P (mg/vaso)	P (%)	Cont. P (mg/vaso)	
MVA-FN D ₁	0,113ab	9,47f	0,073bcd	11,30gh	0,072e	5,52cde	26,29efg
MVA-FN D ₂	0,115a	8,31f	0,078abcd	13,30defg	0,103de	7,73abc	29,34ef
MVA-FAPS D ₁	0,116a	9,17f	0,082abc	12,91efgh	0,077e	5,70cde	27,79efg
MVA-FAPS D ₂	0,115a	14,06bcd	0,075bcd	16,54bcde	0,117cde	9,74a	40,34bc
MVA-ST	0,099abc	14,88bc	0,080abcd	16,33bcde	0,069de	7,18bcd	38,39cd
MVA+MN-FN D ₁	0,076fg	10,43ef	0,067bcd	9,31h	0,152abcd	4,86de	24,61g
MVA+MN-FN D ₂	0,078efg	12,90cde	0,061cd	11,96fgh	0,150abcd	5,84cde	30,70e
MVA+MN-FAPS D ₁	0,073g	13,49cd	0,081abcd	15,01cdef	0,176abc	7,17bcd	35,70d
MVA+MN-FAPS D ₂	0,095cde	18,43a	0,085ab	21,16a	0,195ab	8,82ab	48,42a
MVA+MN-ST	0,087cdefg	17,90a	0,076bcd	16,57bcd	0,204ab	5,44cde	39,92bcd
MN-FN D ₁	0,079defg	10,36ef	0,061d	10,04gh	0,130bcde	4,53e	24,93fg
MN-FN D ₂	0,083cdefg	12,10de	0,070bcd	12,03fgh	0,155abcd	5,97cde	30,10e
MN-FAPS D ₁	0,077fg	13,09cd	0,071bcd	11,00gh	0,196ab	6,47bcde	30,57e
MN-FAPS D ₂	0,096bcd	16,43ab	0,099a	18,71ab	0,180abc	7,95abc	43,10b
MN-ST	0,092cdef	17,57a	0,081abcd	17,17bc	0,209a	5,80cde	40,51bc
CONTROLE	0,093	6,13	0,077	3,39	0,062	1,91	11,43h
	F= 21,25 (>0,00001)	F= 43,55 (>0,00001)	F= 5,36 (>0,00004)	F= 22,99 (>0,00001)	F= 70,79 (>0,00001)	F= 8,82 (>0,00001)	F= 63,75 (>0,00001)
	CV= 6,95%	CV= 7,58%	CV=10,48%	CV= 10,09%	CV= 18,23%	CV=15,17%	CV= 5,22%

Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si (TUKEY 5%)

de fósforo nas plantas, similares ao fornecido pelo ST.

Ainda nesta primeira época de amostragem, (60 dias após a germinação) não se observou diferenças quanto à inoculação micorrízica em solo não desinfestado para os parâmetros teor percentual e conteúdo de P. É interessante comentar que nem todos os trabalhos mostram a eficiência imediata das associações micorrízicas. *SPARLING & TINKER (1978b)*, por exemplo, observaram efeitos positivos da inoculação micorrízica em gramíneas forrageiras passadas 19 meses na inoculação. É provável que, principalmente em se tratando de inoculação em solo não desinfestado, determinado tempo seja necessário para as interações entre os fungos no solo e para a formação e o estabelecimento da associação micorrízica.

Fazendo-se uma análise comparativa entre as doses de fósforo, observa-se que, quando se utilizou o fertilizante FNA, a maior dosagem (três vezes superior à dose 1), não apresentou diferenças em termos de percentagem ou conteúdo de fósforo das plantas nesse 1º corte. O mesmo não ocorreu quando se utilizou o FAPS, sendo que as diferenças entre as doses foram estatisticamente distintas nas três condições de solo, para o parâmetro conteúdo de P das plantas, como era realmente esperado.

No segundo corte das plantas, não se observaram diferenças entre os teores percentuais de fósforo, devi

do à presença de fungos micorrízicos inoculados. Quanto ao conteúdo de fósforo, observamos que a inoculação micorrízica ocasionou média superior para este parâmetro quando se utilizou o FAPS em sua menor dosagem.

No terceiro corte das plantas, como houve baixa produção de matéria seca, os teores percentuais de fósforo foram maiores, uma vez que o elemento esteve mais concentrado em menor massa vegetal. As quantidades acumuladas de fósforo foram portanto menores em consequência da baixa produção de matéria vegetal. É provável que outros elementos nutrientes, que não o N e o P estivessem em quantidades que pudessem limitar o crescimento das plantas, embora não se detectasse nas plantas de calopogônio sintomas visíveis de falta de algum nutriente específico.

Muito embora em nenhuma das três amostragens tenha-se verificado um aumento significativo do ponto de vista estatístico, para os parâmetros teor percentual e total de P, devidos à inoculação micorrízica tanto em solo desinfestado como não, analisando o conteúdo total de P acumulado ao longo dos 182 dias do experimento, verifica-se que as quantidades totais acumuladas nos tratamentos com a adição de FAPS e inoculação micorrízica em solo não desinfestado foram significativamente superiores aos respectivos tratamentos não inoculados; ou inoculados em solo desinfestado.

Embora os aumentos no conteúdo de fósforo devido à inoculação micorrízica em solo natural tenham sido pequenos: 14,37% para FAPS dose 1 e 12,34% para FAPS dose 2 esta constatação tem importância prática do ponto de vista da utilização mais eficiente do fertilizante.

É possível que no futuro se possa obter as associações micorrízicas mais eficientes e que promovam uma melhor utilização de fontes fosfatadas.

Observa-se também, que em relação ao conteúdo de fósforo total, as médias obtidas pela planta associada a fungos micorrízicos-VA sem a interferência de fungos nativos (tratamentos MVA + fertilizantes) foi similar às médias obtidas pela planta associada a fungos-VA nativos, o que sugere que neste estudo, tanto os fungos nativos, quanto os introduzidos, promoveram efeito semelhante para o parâmetro conteúdo de P total.

Entretanto, a inoculação de fungos micorrízicos em solo onde já existiam populações nativas de fungo (tratamento MVA + MN + fertilizante) promoveu interação positiva e não competitiva, ao menos nos tratamentos onde se utilizou o FAPS como fertilizante.

4.1.4. NODULAÇÃO

Os dados médios de número de nódulos, massa total de nódulos e massa média de um nódulo encontram-se na Tabela 9.

Analisando os dados de número de nódulos, verifica-se que realmente a desinfestação prejudicou a nodulação de maneira marcante, fazendo com que houvesse menor número de nódulos nos tratamentos desinfestados. Este fato não era entretanto esperado, e não se encontrou nenhuma referência que tratasse sobre efeitos negativos de fumigantes na nodulação de leguminosas.

É possível que algum resíduo da aplicação do gás brometo ainda estivesse no solo no momento da inoculação com *Rhizobium*, mas esse resíduo teria sido tóxico apenas ao *Rhizobium* e não ao fungo micorrízico, inoculado no mesmo dia, o que seria bastante improvável, uma vez que a principal ação do brometo de metila é a de fungicida e não bactericida. A desinfestação deveria ao contrário estimular a nodulação uma vez que elimina uma série de microrganismos que poderiam ter ação antagônica. Uma outra possibilidade advém do fato de que após a desinfestação, é provável que as plantas tenham ficado por um determinado período sem a presença de colonização por fungos MVA em suas rai

TABELA 9.

Efeito dos diferentes tratamentos sobre o número de nódulos, massa total (g), massa média dos nódulos (mg/nódulo), percentagem de raízes colonizadas por MVA e número de nódulos colonizados por MVA.

Tratamentos	Nº Nódulos	Massa Nódulos total (mg)	Massa Média (mg/nódulo)	% Raízes Colonizadas	Nº Nódulos Coloniz.MVA
MVA-FN D ₁	74de	63,75de	0,88abc	29,73cdefg	2
MVA-FN D ₂	89de	74,00cde	0,83abc	32,14cdef	3
MVA-FAPS D ₁	92de	78,00cde	0,84abc	34,21cdef	-
MVA-FAPS D ₂	197bc	131,25bcd	0,66bc	42,03bcd	4
MVA-ST	135cde	65,00cde	0,62c	18,49fgh	1
MVA+MN FN D ₁	136cde	123,50bcd	0,90ab	41,83bcd	-
MVA+MN FN D ₂	165bcd	136,50bc	0,84abc	42,68bc	-
MVA+MN FAPS D ₁	195bc	178,50b	0,92ab	54,96ab	5
MVA+MN FAPS D ₂	360a	285,25a	0,80abc	71,24a	2
MVA+MN ST	356a	301,25a	0,85abc	20,75efg	2
MN-FN D ₁	112cde	103,50cde	0,93ab	18,57fgh	-
MN-FN D ₂	159bcd	118,75bcde	0,78abc	26,10defg	-
MN-FAPS D ₁	164bcd	134,75bcd	0,82abc	36,26cde	-
MN-FAPS D ₂	233b	182,25b	0,80abc	37,79cd	-
MN-ST	238b	189,00b	0,79abc	15,62gh	-
CONTROLE	44e	44,00e	0,99a	0,91h	-

F=24,22	F=26,59	F=2,99	F=25,28
(>0,00001)	(>0,00001)	(>0,000943)	(>0,00001)
CV= 20,91%	CV=19,97%	CV=12,53%	CV=19,40%

Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si (TUKEY 5%)

zes, até que os endófitos inoculados se estabelecessem. Vários autores relatam que a simbiose tripartite (planta- *Rhizobium*-fungo MVA), envolve interrelações complexas entre os simbiontes, de tal forma que um simbiote estimule a presença e a atuação de outro (BAREA & AZCÓN-AGUILAR, 1983).

Quanto à nodulação em solo não desinfestado, verifica-se que um maior número de nódulos foi encontrado onde se utilizou os fertilizantes FAPS e ST. Este fato está de acordo com o observado inúmeras vezes na literatura. A fixação biológica de nitrogênio requer suficientes quantidades de fósforo (BAREA & AZCÓN AGUILAR, 1983; BONETTI *et alii*, 1984).

É interessante também notar, que a presença de fungos-MVA inoculados, aliados a fungos nativos promoveu número e massa de nódulos significativamente superior aos tratamentos que contavam apenas com o fungo micorrízico nativo, quando o fertilizante foi o FAPS na maior dosagem. Muito embora não foi possível analisar a eficiência desses nódulos, é muito provável que eles tenham sido efetivos, pelas quantidades de nitrogênio acumuladas pelas plantas de calopogônio em relação às plantas de braquiária (Tabela 7 e 16).

Tem sido frequentemente relatado que o benefício da presença de fungos micorrízicos na fixação biológica de nitrogênio é devido principalmente ao aumento do nú

mero e da massa de nódulos (SMITH & DAFT, 1977; SMITH *et alii*, 1979; KUCEY & PAUL, 1982); portanto, é possível que tenha realmente ocorrido um efeito benéfico da inoculação micorrízica na fixação biológica de nitrogênio ao menos no tratamento que incluía FAPS na maior dosagem.

Quanto à massa média dos nódulos, observa-se que os dados obtidos foram muito variáveis e nem sempre seguiram uma tendência lógica. Geralmente, os tratamentos cujos nódulos ocorreram em menor número, apresentaram nódulos maiores.

4.1.5. COLONIZAÇÃO MICORRÍZICA

A Tabela 9, apresenta também os dados obtidos de percentagem de raízes infectadas por fungos micorrízicos.

Observa-se que os maiores teores percentuais foram obtidos quando se utilizou o fertilizante FAPS principalmente em sua maior dosagem, e quando o solo foi inoculado e não desinfestado.

Muito embora RATNAYAKE *et alii* (1978), tenham proposto que baixos teores de P na planta promoveriam uma

maior permeabilidade da membrana celular, favorecendo uma maior exsudação de açúcares redutores e aminoácidos, com consequente estímulo à germinação de esporos e à colonização das raízes, neste trabalho, esta hipótese não foi confirmada, uma vez que os mais baixos teores de fósforo nas plantas foram obtidos nos tratamentos com adição de FNA, sendo que as correspondentes percentagens de infecção micorrízica não estiveram entre os valores mais altos observados. Entretanto, é interessante notar, que teores relativamente altos de fósforo na planta observados nos tratamentos com adição de FAPS (45 ppm P), promoveram altas percentagens de infecção micorrízica, enquanto que, a adição de superfosfato triplo embora tenha promovido conteúdos de fósforo próximos à adição de FAPS (45 ppm P), apresentou os valores mais baixos de percentagem de raízes micorrizadas.

É possível que a teoria de *RATNAYAKE et alii* (1978), deva ser revista principalmente com relação à solubilidade da fonte que forneceria fósforo à planta. Nossos dados indicam que se o fertilizante fosfatado tem solubilidade lenta, não ocorre inibição na colonização das raízes ao menos nas doses de P estudadas.

Da mesma forma que *BAGYARAJ & MANJUNATH* (1980), também observamos que a inoculação em solo não desinfestado proporcionou maiores percentagens de raízes colonizadas por MVA; sendo que poderia-se também inferir que os

endófitos introduzidos foram mais eficientes que os endófitos nativos. Entretanto, como a percentagem de raízes colonizadas pelos fungos micorrízicos nativos, e pelos fungos micorrízicos introduzidos em solo desinfestado foram similares é possível que um maior potencial de inóculo, proporcionado pela adição de fungos introduzidos + fungos nativos, tenha definitivamente influenciado.

Embora a percentagem de raízes colonizadas por MVA seja um parâmetro essencial nos estudos das associações micorrízicas, salienta-se que existem sensíveis limitações, uma vez que nem sempre se observa alta correlação entre esse parâmetro e aumentos na produção ou teores de fósforo, fato evidenciado por exemplo, por *RANGELEY et alii* (1982).

As Figuras 1 e 2, apresentam as curvas de correlação entre a percentagem de infecção e produção de matéria seca e a percentagem de infecção e conteúdo de P. Embora as correlações tenham sido significativas a 5% de probabilidade estatística, os coeficientes de correlação foram entretanto baixos.

Com relação à colonização dos nódulos por fungos micorrízicos-VA (Tabela 9), embora a amostragem tenha sido muito reduzida, em consequência do fato que pretendeu-se também analisar a massa seca dos nódulos, foi muito

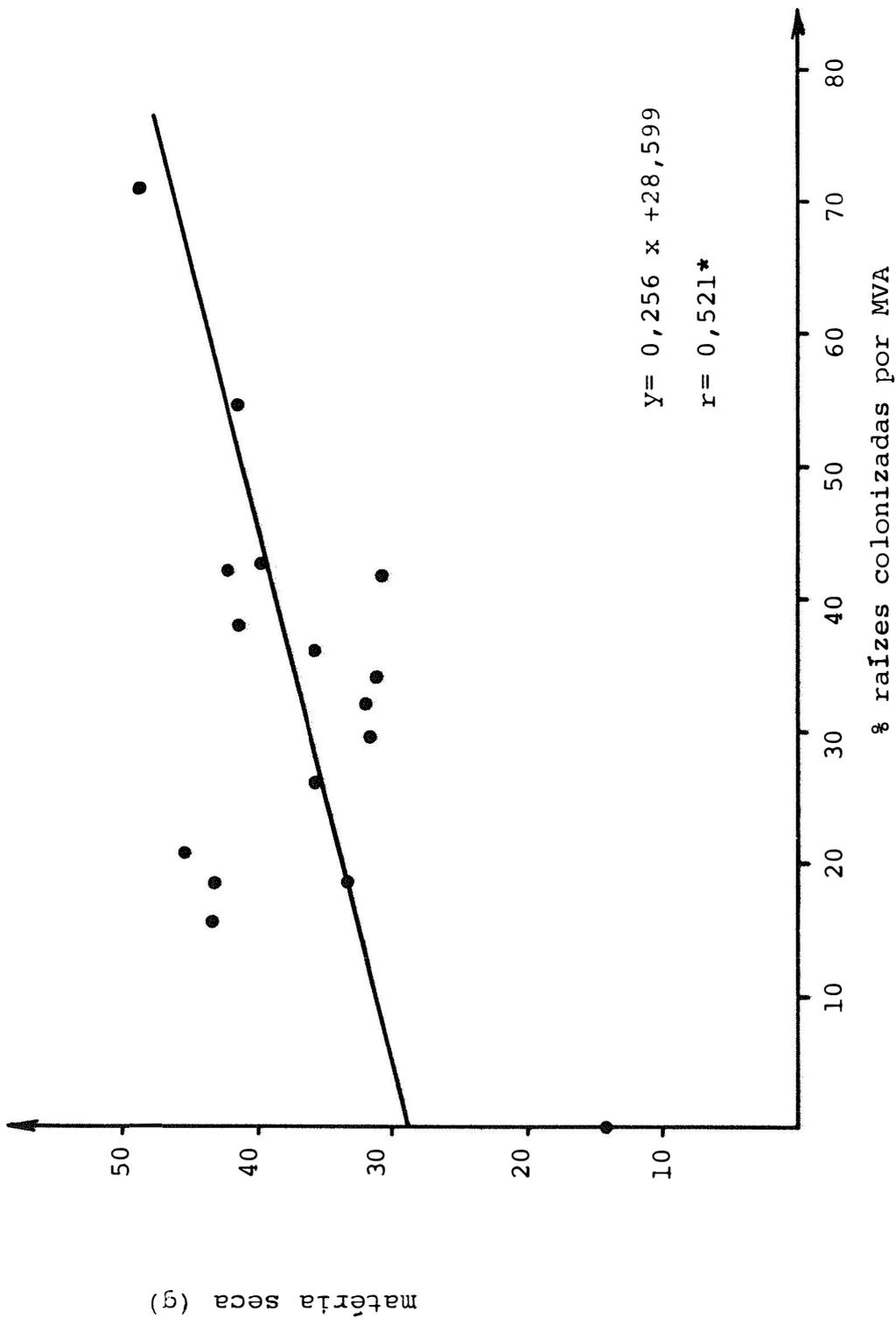


FIGURA 1. Curva de correlação entre percentagem de raízes colonizadas por fungos micorrízicos e matéria seca das plantas de *C.mucunoides*.

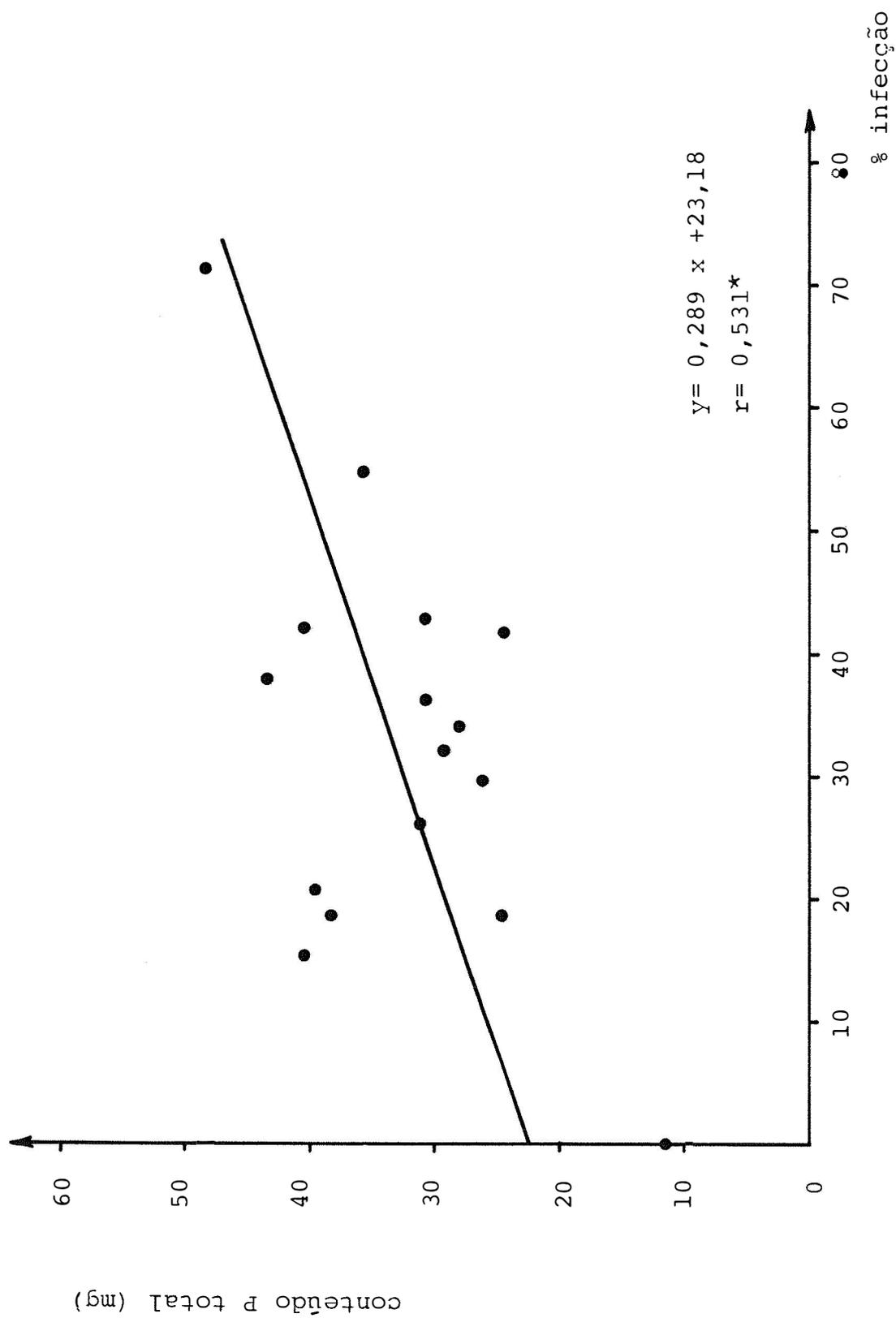


FIGURA 2. Curva de correlação entre percentagem de raízes colonizadas por fungos micorrízicos e conteúdo de fósforo acumulado pelas plantas de *C. mucunoides*.

interessante verificar que alguns nódulos apresentaram-se colonizados por fungos micorrízicos-VA. Constatou-se a presença de hifas e vesículas, tanto ao redor do nódulo, quanto em seu interior. Não foi por nós encontrado, nenhum relato na literatura sobre a colonização dos nódulos por fungos micorrízicos-VA, mas este fato foi igualmente observado durante a estadia de Dr. Kucey, R.M.N. na Seção de Microbiologia do Solo do CENA, cujo trabalho científico encontra-se ainda no prelo.

4.1.6. ATIVIDADE ESPECÍFICA DO ^{32}P

As médias obtidas para o parâmetro atividade específica de ^{32}P , encontram-se na Tabela 10.

Tanto no 1º, como no 2º corte das plantas observa-se que a atividade específica dada em contagens por minuto por grama de matéria seca (cpm/g m.s.) e contagens por minuto por mg de fósforo (cpm/mg P) foi consideravelmente maior para o tratamento controle, uma vez que este tratamento não incluía nenhuma fonte de fósforo adicionada como fertilizante. Neste caso, todo o fósforo encontrado na planta foi proveniente do fósforo marcado, ou seja, do fós

KUCEY, R.M.N. Comunicação pessoal

TABELA 10.

Efeito dos diferentes tratamentos na atividade específica de ^{32}P dada em contagens por minuto por grama de matéria seca (cpm/g m.s.) e contagens por minuto por mg de fósforo (cpm/mg P), em plantas de *C. mucunoides*.

Tratamentos	1ª Corte		2ª Corte	
	cpm/g m.s.	cpm/mg P	cpm/g m.s.	cpm/mg P
MVA-FN D ₁	38529a	34113a	979a	1353a
MVA-FN D ₂	34042ab	29808ab	946ab	1247ab
MVA-FAPS D ₁	29812b	25777bcd	727bcde	891cde
MVA-FAPS D ₂	15911efg	13903e	490f	660ef
MVA-ST	13264fg	13482e	577ef	723def
MVA+MN FN D ₁	21913cd	28748abc	806abcd	1214ab
MVA+MN FN D ₂	19312cde	24654bcd	718bcde	1175abc
MVA+MN FAPS D ₁	15061efg	20627d	681cdef	918bcd
MVA+MN FAPS D ₂	12633fg	13389e	524ef	619f.
MVA+ MN ST	11637g	13439e	551ef	730def
MN-FN D ₁	23040c	29028ab	828abc	1354a
MN-FN D ₂	19154cde	23055cd	727bcde	1042abc
MN-FAPS D ₁	17007def	22179d	715bcde	1006bc
MN-FAPS D ₂	13162fg	13777e	593def	600f
MN-ST	12520fg	13659e	482f	593f
CONTROLE	48403	52240	2469	3281
	F=51,61 (>0,00001) CV= 5,60%	F=48,07 (>0,00001) CV= 5,04%	F=12,24 (>0,00001) CV= 6,43%	F=24,98 (>0,00001) CV= 6,04%

Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si (TUKEY 5%)

foro do solo.

Nos tratamentos que tiveram a adição de FNA, observamos que a atividade específica tanto medida em (cpm/g m.s.) quanto em (cpm/mg P), tiveram valores mais próximos ao obtido no tratamento controle, o que indica que essa fonte foi menos eficiente em fornecer fósforo às plantas que os fertilizantes FAPS e ST.

Quanto à presença ou não de micorriza introduzida em solo não desinfestado, observa-se que não houve diferenças estatísticas entre os tratamentos. As diferenças obtidas nos tratamentos inoculados em solo desinfestado, provavelmente se devem ao baixo crescimento das plantas no 1º corte.

No 2º corte das plantas, não foram observadas diferenças quanto a presença de micorriza inoculada em relação à micorriza nativa, o que induz à conclusão de que ambas não apresentaram preferências quanto à fonte de fósforo presente, ou seja, ambas exploraram fósforo do solo e do fertilizante em proporções similares. Neste caso, a presença de um maior potencial de inóculo representado pelos fungos micorrízicos-VA introduzidos e nativos atuando conjuntamente, não proporcionou utilização diferenciada das fontes de fósforo, em termos proporcionais.

A maioria dos trabalhos da literatura, que

estudaram esse assunto, relatam que as atividades específicas de ^{32}P em plantas micorrizadas ou não, são similares, o que comprova que a micorriza não teria acesso a fontes extras de fósforo (SANDERS & TINKER, 1971 e HAYMAN & MOSSE, 1972); ou seja, a eficiência das associações micorrízicas em fornecer fósforo às plantas não provém da utilização de fontes diferentes às que são normalmente utilizadas pelas plantas.

No 3º corte das plantas, não foi possível obter as contagens de ^{32}P , uma vez que todo o fósforo radioativo já havia decaído. Como consequência, não foram obtidas as atividades específicas nessa etapa de coleta. Teria sido necessário iniciar o experimento com atividade de ^{32}P bem mais elevada, o que na realidade seria de certa forma impraticável, pela alta radioatividade que envolveria, ultrapassando os limites de segurança mínima.

4.1.7. EFICIÊNCIA DE UTILIZAÇÃO DO FERTILIZANTE

FOSFATADO

Os resultados obtidos nos diversos parâmetros para a determinação da eficiência de utilização do fertilizante fosfatado encontram-se na Tabela 11

Passados 60 dias da germinação das sementes de

TABELA 11 . Efeito dos diferentes tratamentos nos parâmetros: teor percentual de fósforo na planta derivado do fertilizante (Pdf%) e derivado do solo (Pds%), teor percentual de P do fertilizante utilizado (Pfu%), disponibilidade relativa calculada por diluição isotópica (DRDI%) e disponibilidade relativa calculada diretamente (DRD%) aos 60 dias após a germinação das sementes de *Calopogonium mucunoides*.

Tratamentos	Pdf %	Pds %	Pfu %	DRDI %	DRD %
MVA-FN D1	34,69	65,31	6,26	46,76	38,17
MVA-FN D2	42,94	57,06	2,26	57,88	24,91
MVA-FAPS D1	50,66	49,34	8,85	68,28	34,74
MVA-FAPS D2	73,39	26,61	6,55	98,92	90,63
MVA-ST	74,19	25,81	21,03	100,00	100,00
MVA+MN-FN D1	44,97	55,03	8,93	60,55	36,53
MVA+MN-FN D2	52,81	47,19	4,32	71,10	57,52
MVA+MN-FAPS D1	60,51	39,48	15,55	81,47	62,53
MVA+MN-FAPS D2	74,37	25,63	8,70	100,13	104,50
MVA+MN-ST	74,27	25,72	25,32	100,00	100,00
MN-FN D1	44,43	55,57	8,77	60,16	36,97
MN-FN D2	55,87	44,13	4,29	75,05	52,18
MN-FAPS D1	57,54	42,45	14,35	77,91	60,84
MN-FAPS D2	73,63	26,37	7,68	99,70	90,03
MN-ST	73,85	26,15	24,71	100,00	100,00

calopogônio, verifica-se que a percentagem de P na planta derivada do solo foi consideravelmente grande, principalmente quando o fertilizante foi o FNA. Já no 2º corte (Tabela 12), passados 120 dias da germinação, o FNA passou a fornecer mais fósforo às plantas, de modo que as percentagens desse elemento na planta derivadas do FNA foram maiores.

Os tratamentos que continham FAPS na maior dosagem e ST, tiveram teores altos de P na planta derivado do fertilizante já no 1º corte, sendo que esses teores se mantiveram altos ainda no 2º corte.

Quanto à inoculação com fungos micorrízicos, verifica-se que não houveram diferenças entre os tratamentos, ou seja, as plantas associadas a fungos micorrízicos nativos ou introduzidos, tiveram em sua matéria vegetal, teores percentuais similares de fósforo provenientes do fertilizante e do solo. Quanto ao parâmetro %P do fertilizante utilizado, verifica-se que no 1º corte, a inoculação em solo desinfestado, promoveu médias menores que os outros tratamentos. No 2º corte, observa-se que a MVA+MN promoveram médias maiores de percentagem de P utilizado do fertilizante.

Observa-se ainda, pelo parâmetro P do fertilizante utilizado (Pfu%) que os fertilizantes forneceram muito pouco fósforo à planta, a exceção do ST que aos 60 dias após a germinação, já havia fornecido entre 20 e 25%

TABELA 12 . Efeito dos diferentes tratamentos nos parâmetros: teor percentual de fósforo na planta derivado do fertilizante (Pdf%) e derivado do solo (Pds%), teor percentual de P do fertilizante utilizado (Pfu%), disponibilidade relativa calculada por diluição isotópica (DRDI%) e disponibilidade relativa calculada diretamente (DRD%), aos 120 dias após germinação das sementes de *Calopogonium mucunoides*.

Tratamentos	Pdf (%)	Pds (%)	Pfu (%)	DRDI (%)	DRD (%)
MVA-FN D ₁	58,78	41,22	13,50	75,41	56,56
MVA-FN D ₂	61,98	38,01	5,35	79,52	75,64
MVA-FAPS D ₁	72,83	27,16	19,65	93,44	72,51
MVA-FAPS D ₂	79,88	20,11	8,98	102,49	101,69
MVA-ST	77,94	22,06	30,70	100,00	100,00
MVA+MN FN D ₁	62,97	37,03	12,26	80,99	42,74
MVA+MN FN D ₂	64,18	35,81	5,09	82,55	63,64
MVA+MN FAPS D ₁	72,00	28,00	24,37	92,60	87,70
MVA+MN FAPS D ₂	81,13	18,86	12,94	104,35	136,20
MVA+MN ST	77,75	22,85	32,86	100,00	100,00
MN-FN D ₁	58,71	41,29	12,30	71,67	46,31
MN-FN D ₂	68,22	31,77	5,44	83,28	61,29
MN-FAPS D ₁	69,33	30,67	16,96	84,63	53,54
MN-FAPS D ₂	81,71	18,28	10,51	99,74	111,60
MN-ST	81,97	18,08	35,58	100,00	100,00

do seu conteúdo de fósforo. No 2º corte, observa-se que as doses menores de P tanto no FNA como do FAPS forneceram teores percentuais maiores quando comparados com o fornecido no 1º corte. Este fato é explicado pela química do fósforo no solo. As plantas, absorvendo as quantidades de fósforo presentes na solução do solo, fazem com que o fósforo levemente fixado (P lábil) e o fósforo menos solúvel do fertilizante, passem para a solução do solo, afim de manter o equilíbrio. Se havia menor quantidade de P em solução, em consequência da dose menor de fertilizante, resulta um melhor aproveitamento do mesmo, uma vez que maior teor de P do fertilizante passa para a solução do solo.

Quanto à disponibilidade de fósforo do FNA e FAPS em relação à disponibilidade do ST, observa-se que a dose de 45 ppm P como FAPS, teve efeito similar à dose de 15 ppm P como ST. Além disto, comprova-se mais uma vez que a disponibilidade de P do FNA foi consideravelmente menor que a do FAPS, em ambas as doses.

Tanto a disponibilidade relativa calculada por diluição isotópica, como a disponibilidade relativa por cálculo direto, foram significativamente correlacionadas com a matéria seca produzida pelas plantas (ver Tabela 6) comparando os dois teores percentuais, verifica-se que em alguns tratamentos a DRDI % foi mais elevada que a DRD%, sendo que superestimações podem ter ocorrido, no cálculo por

diluição isotópica. A Tabela 14 , apresenta as equações de regressão linear entre os parâmetros e os respectivos coeficientes de correlação.

Como não foi possível obter as contagens de ^{32}P no 3º corte das plantas, uma vez que praticamente todo o ^{32}P já havia decaído, não se pode também avaliar os parâmetros de eficiência de utilização do fertilizante fosfatado, que dependiam das contagens de ^{32}P . Assim, apenas a disponibilidade relativa por cálculo direto (DRD) pode ser avaliada. A Tabela 13 ; apresenta os dados obtidos para esse parâmetro.

Observa-se que no 3º corte, todos os tratamentos que tiveram a presença de micorriza vesicular nativa e introduzida, apresentaram os maiores valores de disponibilidade relativa de fósforo. Analisando esse mesmo parâmetro ao longo de todo o período do experimento, verifica-se que apenas os tratamentos contendo FAPS-D₂, tiveram disponibilidade relativa superior ao ST. Na presença de fungos micorrízicos-VA introduzidos, aliados aos fungos micorrízicos-VA nativos, a disponibilidade relativa para os tratamentos em ambas as doses de FAPS, foram também superiores, em relação aos mesmos tratamentos na presença isolada de fungos nativos ou introduzidos, indicando mais uma vez que a inoculação com fungos-micorrízicos-VA pode realmente ter influído numa utilização mais eficiente desse fertilizante.

TABELA 13 . Efeito dos diferentes tratamentos na disponi-
 bilidade relativa calculada diretamente (DRD%),
 aos 182 dias após a germinação das plantas de
Calopogonium mucunoides e no decorrer de todo
 o experimento.

Tratamentos	DRD (%)	
	3º Corte	Total
MVA-FN D ₁	68,50	55,12
MVA-FN D ₂	110,44	66,43
MVA-FAPS D ₁	71,92	60,08
MVA-FAPS D ₂	148,28	107,23
MVA-ST	100,00	100,00
MVA+MN FN D ₁	83,57	46,26
MVA+MN FN D ₂	111,33	67,64
MVA+MN FAPS D ₁	149,01	85,79
MVA+MN FAPS D ₂	195,75	129,83
MVA+MN-ST	100,00	100,00
MN-FN D ₁	67,35	46,38
MN-FN D ₂	104,37	64,14
MN-FAPS D ₁	117,82	65,57
MN-FAPS D ₂	155,27	108,59
MN-ST	100,00	100,00

TABELA 14 . Equações de regressão linear e respectivos coeficientes de correlação entre os parâmetros de disponibilidade relativa e matéria seca das plantas de *Calopogonium mucunoides*.

x	y	Equação de regressão linear	r (Tukey 5%)
DRDI	x M.seca (1º corte)	$y=3,10 x + 34,43$	0,709*
DRD	x M.seca (1º corte)	$y=0,111x + 7,37$	0,738*
DRDI	x M.seca (2º corte)	$y=0,258x + 1,76$	0,793*
DRD	x M.seca (2º corte)	$y=0,102x + 10,37$	0,889*
DRD	x M.seca (3º corte)	correlação não significativa	
DRD	x M.seca (total)	$y=0,147x + 27,18$	0,738*

* significativo a 5% de probabilidade (Tukey)

Quanto às curvas de regressão linear entre os parâmetros DRD (%) e matéria seca (Tabela 13), verifica-se que para o 3º corte não houve correlação positiva, uma vez que nessa etapa de amostragem, todo o grupo de tratamentos realizados em solo desinfestado apresentou maior produção de matéria seca que os demais tratamentos, e a DRD% não seguiu a mesma tendência.

Quando se correlacionou a DRD(%) total e a produção total de matéria seca, verifica-se que a correlação foi significativa (Tabela 13).

4.2. . BRAQUIÁRIA

4.2.1. MATÉRIA SECA

As médias de produção de matéria seca no 1º, 2º, 3º cortes e o total produzido nos três cortes das plantas de braquiária, encontram-se na Tabela 15

No 1º corte das plantas, não se verificou o efeito negativo da desinfestação por brometo de metila, fato indiscutivelmente observado nas plantas de calopogônio (Tabela 6).

Com relação ao tratamento controle (sem adição de fertilizante fosfatado e sem MVA), observa-se que todos os tratamentos proporcionaram maiores produções de matéria seca das plantas de braquiária em qualquer dos períodos de amostragem. Ainda no 1º corte das plantas, observa-se que a inoculação micorrízica em solo desinfestado promoveu médias de produção de matéria seca similares aos tratamentos inoculados em solo não desinfestado.

Com relação à micorriza nativa, observamos que no tratamento que incluía FAPS-D₂, as diferenças foram significativas do ponto de vista estatística.

Na segunda amostragem, observa-se que a inoculação micorrízica tanto em solo desinfestado ou não, pro

TABELA 15 . Efeito dos diferentes tratamentos sobre a produção de matéria seca das plantas de *Brachiaria humidicola*, coletadas aos 60, 120 e 182 dias após a germinação (1º, 2º, 3º corte respectivamente) e total de matéria seca produzida.

Tratamentos	Matéria Seca (g)			TOTAL
	1º Corte	2º Corte	3º Corte	
MVA-FN D1	11,53efg	10,19bc	3,39abcde	25,11efgh
MVA-FN D2	10,21fg	12,45a	3,59abcd	26,25defg
MVA-FAPS D1	16,17abcd	10,22bc	3,44abcde	29,84abcd
MVA-FAPS D2	17,15ab	10,87ab	3,89ab	31,91ab
MVA-ST	18,59a	8,10d	3,20bcde	29,89abc
MVA+MN-FN D1	9,54g	10,00bc	3,43abcde	22,97gh
MVA+MN-FN D2	11,80efg	10,78ab	3,71abc	26,29cdefg
MVA+MN-FAPS D1	12,41cdefg	11,05ab	3,71abc	27,17cdef
MVA+MN FAPS D2	16,46abc	11,52ab	4,15a	32,13a
MVA+MN-ST	14,21bcdef	10,97ab	3,28bcde	28,46bcde
MN-FN D1	11,34efg	8,68cd	2,70e	22,72gh
MN-FN D2	11,22efg	8,58cd	2,80e	22,60h
MN-FAPS D1	12,89cdefg	7,84d	2,90de	23,62fgh
MN-FAPS D2	12,04defg	8,94cd	3,14bcde	24,12fgh
MN-ST	14,86abcde	10,82ab	2,98cde	28,67abcde
CONTROLE	7,83	4,47	2,23	14,53i
	F=10,83 (>0,00001) CV= 12,4%	F=16,54 (>0,00001) CV= 6,60%	F= 7,30 (>0,00001) CV= 9,15%	F=34,53 (>0,00001) CV= 5,37%

Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si (TUKEY 5%).

moveu médias de produção de matéria seca superiores quando os fertilizantes foram o FAPS e o FNA na dose de 45 ppm P (dose 2).

No 3º corte, embora as plantas tenham produzido pouca massa vegetal, caracterizando situação de escassez de nutrientes, verifica-se diferenças estatísticas entre tratamentos inoculados e não em solo não desinfestado. Os tratamentos inoculados apresentaram maior produção de matéria seca principalmente quando se utilizou o FAPS em ambas as doses e o FN na dose 45 ppm P.

Analisando a produção total de matéria seca acumulada durante todo o decorrer do experimento, observa-se que todos os tratamentos foram superiores ao controle. Além disto, as maiores médias ocorreram sempre que os fertilizantes utilizados foram o ST e FAPS.

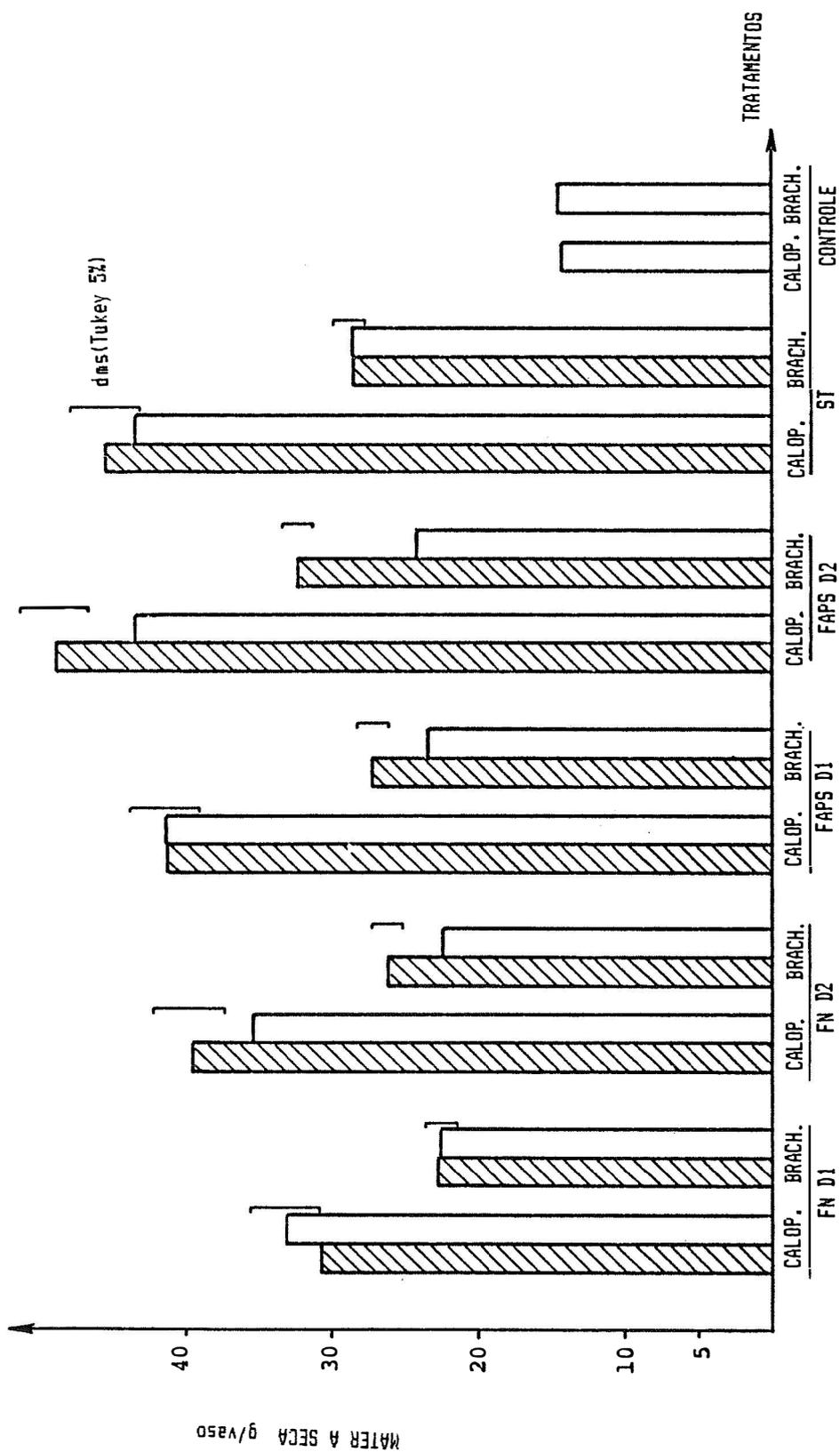
Ao contrário do que ocorreu com o calopogônio (Tabela 6), salienta-se que a inoculação micorrízica em solo desinfestado, proporcionou médias similares do ponto de vista estatístico aos tratamentos em solo não desinfestado.

Comparando o efeito da inoculação micorrízica em solo natural (não desinfestado), observa-se que houve resposta significativa à inoculação, apenas quando se utilizou a maior dosagem de P (45 ppm P) aplicados como FAPS

ou FNA.

SANO (1984), verificou também que a presença de fungo micorrízico promoveu aumentos significativos de matéria vegetal das plantas de *Brachiaria decumbens* em relação ao tratamento sem fungo micorrízico. Salienta-se que respostas positivas da inoculação micorrízica em solo natural, (não desinfestado), são geralmente mais difíceis de serem observadas, uma vez que as plantas contam nesse caso, com a presença de fungos micorrízicos nativos e que podem ocorrer interações inclusive antagônicas entre os simbiontes.

Quanto as doses de fósforo aplicadas, verifica-se que apenas na presença de fungos micorrízicos-VA aliados a fungos nativos, ocorreram diferenças significativas entre as doses de FAPS. Nas outras situações, a dose maior de P teve o mesmo efeito que a dose menor, no crescimento das plantas de braquiária. A Figura 3, compara as médias de matéria seca obtidas para as plantas de calopogônio e braquiária na presença ou não de inoculação em solo não desinfestado. Verifica-se que a leguminosa produziu quantidades maiores de massa vegetal que a gramínea, em cada dose dos fertilizantes.



▨ Inoculado com fungo-MVA

□ Não inoculado

FIGURA 3. Efeitos dos diferentes tratamentos aplicados em solo não desinfestado, na produção de matéria seca (g) das plantas de *Calopogonium mucunoides* e *Brachiaria humidicola*.

4.2.2. NITROGÊNIO

Os dados médios obtidos de percentagem e conteúdo de nitrogênio, encontram-se na Tabela 16. De uma forma geral, observa-se que as plantas de braquiária captaram pouco nitrogênio, independentemente dos tratamentos, e estiveram com teor percentual geralmente abaixo de 1%, caracterizando uma provável deficiência desse elemento nas plantas. Os teores percentuais de N acima de 1% obtidos no 3º corte, foram provavelmente devidos a um efeito de concentração do elemento uma vez que houve baixa produção de matéria vegetal nesse corte. A dose de 82 ppm de nitrogênio aplicados aos vasos da braquiária, foram insuficientes, uma vez que essas plantas não contavam com nitrogênio fixado do ar atmosférico. A Figura 4, compara os conteúdos de nitrogênio acumulados pelas plantas de calopogônio e braquiária; quando o solo não desinfestado foi inoculado ou não com fungos micorrízicos. Observa-se que o calopogônio, devido ao nitrogênio atmosférico fixado pela simbiose planta-*Rhizobium*, acumulou quantidades de nitrogênio muito maiores.

Analisando o conteúdo total de nitrogênio acumulado, ainda na Tabela 16, verifica-se que em alguns tratamentos, as plantas extraíram quase todo o nitrogênio

TABELA 16 . Efeito dos diferentes tratamentos sobre o teor e o conteúdo de Nitrogênio na parte aérea das plantas de *Brachiaria humidicola*, coletadas aos 60, 120 e 182 dias após a germinação (1º, 2º, 3º corte respectivamente) e conteúdo total de N acumulado.

Tratamentos	1º Corte		2º Corte		3º Corte		Cont. N Total (mg/vaso)
	%N	Cont.N (mg/vaso)	%N	Cont.N (mg/vaso)	%N	Cont.N (mg/vaso)	
	MVA-FN D ₁	0,97abc	114,07ab	0,57a	57,99bcde	1,43a	
MVA-FN D ₂	1,03ab	103,24ab	0,56a	69,95a	1,43a	51,14ab	224,31abc
MVA-FAPS D ₁	0,79bcde	127,96ab	0,58a	59,02bcd	1,41a	48,44abcd	235,43ab
MVA-FAPS D ₂	0,77bcde	131,76a	0,58a	63,35abc	1,35ab	52,27a	247,38a
MVA-ST	0,70de	130,82a	0,63a	51,13defg	1,29abc	41,29de	223,25abc
MVA+MN-FN D ₁	1,09a	104,41ab	0,57a	57,52bcde	1,20bc	40,97de	202,91bcde
MVA+MN-FN D ₂	0,92abcd	107,17ab	0,56a	60,62abc	1,31abc	48,64abcd	216,43abcd
MVA+MN-FAPS D ₁	0,82abcde	101,69ab	0,54a	59,79bcd	1,14c	42,39bcde	203,87bcde
MVA+MN-FAPS D ₂	0,76cde	125,66ab	0,57a	66,24ab	1,23abc	51,08abc	242,98a
MVA+MN-ST	0,72cde	102,50ab	0,53a	58,60bcd	1,28abc	42,07cde	203,18bcde
MN-FN D ₁	0,86abcde	97,39b	0,57a	49,03efg	1,34abc	35,93e	182,36e
MN-FN D ₂	0,94abcd	105,52ab	0,53a	44,68g	1,30abc	36,26e	186,47de
MN-FAPS D ₁	0,86abcde	111,52ab	0,61a	47,80fg	1,29abc	37,45e	196,77cde
MN-FAPS D ₂	0,80bcde	98,14b	0,63a	56,15cdef	1,34abc	41,96de	196,26cde
MN-ST	0,65e	97,19b	0,57a	61,30abc	1,26abc	37,71e	196,20cde
CONTROLE	1,06	83,59	0,80	37,61	1,03	23,06	142,26f

F= 5,71 F= 4,01 F= 1,65 F= 14,18 F= 3,97 F= 10,46 F= 13,97
(>0,00002) (>0,00033) (>0,10038) (>0,00001) (>0,00035) (>0,00001) (>0,00001)
CV= 9,13% CV=11,27% CV= 6,71% CV= 6,39% CV= 4,26% CV= 8,13% CV= 6,31%

Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si (TUKEY 5%).

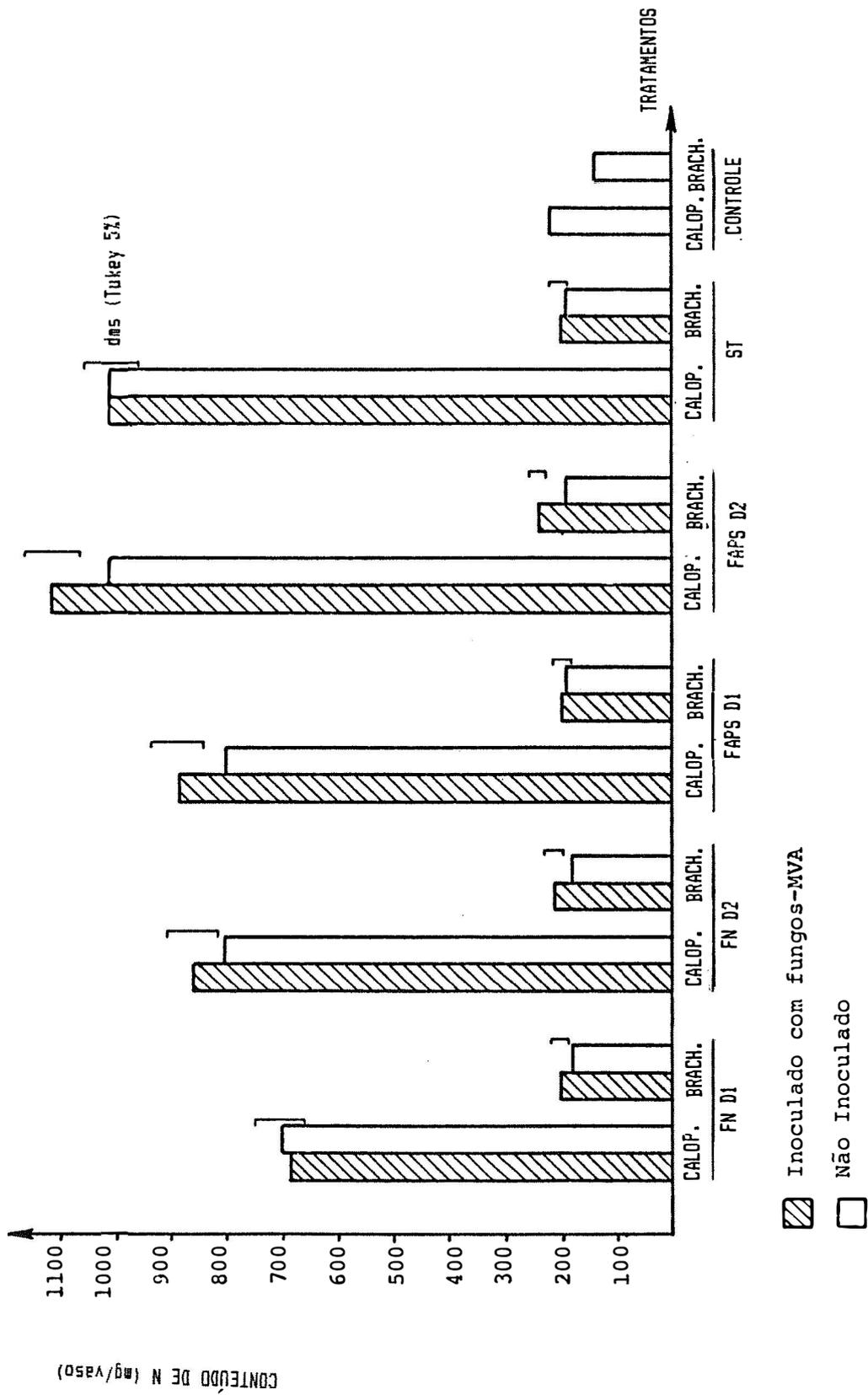


FIGURA 4. Efeito dos diferentes tratamentos aplicados em solo não desinfestado, no acúmulo de nitrogênio (mg), na parte aérea das plantas de *Calopogonium mucunoides* e *Brachiaria humidicola*.

colocado, que foi de 287 mg N/vaso. No tratamento controle as plantas extraíram aproximadamente metade dessa quantida de de nitrogênio, o que indica que outro fator esteve tam bém limitando o crescimento nesse tratamento.

De maneira geral, a presença dos fungos mi corrízicos inoculados promoveram médias de acúmulo de ni trogênio superiores às médias obtidas nos tratamentos que contavam apenas com o fungo micorrízico nativo.

SANO (1984), também observou maior acúmulo de nitrogênio devido à inoculação micorrízica em seu estudo com *Brachiaria decumbens*. Já *LOPES (1980)*, embora tenha ob servado que a *Brachiaria decumbens* tenha tido seu sistema radicular colonizado pela maioria dos fungos micorrízicos estudados, não verificou entretanto diferenças significati-vas, devido à inoculação micorrízica.

4.2.3. FÓSFORO

A Tabela 17 , apresenta os dados médios de teor percentual e conteúdo de fósforo, obtidos nas diversas amostragens e conteúdo total obtido no decorrer de todo o experimento.

TABELA 1.7. Efeito dos diferentes tratamentos sobre o teor e conteúdo de fósforo na parte aérea das plantas de *Brachiaria humidicola*, coletadas aos 60, 120 e 182 dias após a germinação (1ª, 2ª, 3ª corte respectivamente) e conteúdo de fósforo total acumulado.

Tratamentos	1ª Corte		2ª Corte		3ª Corte		Cont.P Total (mg/vaso)
	%P	Cont.P (mg/vaso)	%P	Cont.P (mg/vaso)	%P	Cont.P (mg/vaso)	
MVA-FN D ₁	0,101fg	11,63de	0,073fg	7,46de	0,105ef	3,51gh	22,60hi
MVA-FN D ₂	0,109efg	10,82de	0,092bcde	11,37ab	0,135bcd	4,83bcdef	27,03efg
MVA-FAPS D ₁	0,115def	18,47b	0,069g	7,05e	0,099f	3,40h	28,92e
MVA-FAPS D ₂	0,172a	29,35a	0,070g	7,64de	0,131cde	5,07bcde	42,07b
MVA-ST	0,146bc	27,16a	0,105ab	8,48cde	0,128def	4,11fgh	39,75bc
MVA+MN-FN D ₁	0,095fg	9,10e	0,071g	7,07e	0,134bcde	4,60cdef	20,78i
MVA+MN FN D ₂	0,105fg	12,41de	0,090bcdef	9,75bc	0,152abcd	5,63b	27,80ef
MVA+MN-FAPS D ₁	0,112efg	13,79cd	0,082cdefg	9,04cd	0,135bcd	4,50bcde	27,83ef
MVA+MN-FAPS D ₂	0,164ab	27,06a	0,107ab	12,39a	0,182a	7,56a	47,01a
MVA+MN-ST	0,143bc	20,03b	0,101b	11,09ab	0,159abc	5,23bc	36,35c
MN-FN D ₁	0,090g	10,15de	0,078defg	6,75e	0,163ab	4,32defg	21,23i
MN-FN D ₂	0,104fg	11,59de	0,096bc	8,17cde	0,153abcd	4,25efgh	24,02ghi
MN-FAPS D ₁	0,107efg	13,82cd	0,093bcd	7,26e	0,141bcd	4,06fgh	24,99fgh
MN-FAPS D ₂	0,139cd	16,66bc	0,122a	10,86ab	0,164ab	5,14bcd	32,67d
MN-ST	0,130cde	19,25b	0,074efg	8,04cde	0,176a	5,25bc	32,55d
CONTROLE	0,089	6,98	0,056	1,26	0,062	2,78	11,02j

F= 27,74 F= 82,43 F= 19,68 F= 28,94 F= 16,27 F= 34,76 F= 159,61
(>0,00001) (>0,00001) (>0,00001) (>0,00001) (>0,00001) (>0,00001) (>0,00001)
CV= 7,40% CV= 8,74% CV= 4,22% CV= 7,70% CV= 7,67% CV= 7,11% CV= 4,70%

Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si (TUKEY 5%)

Comparando o tratamento controle com os de mais, verifica-se que a presença de qualquer fertilizante fosfatado aliado ou não à fungos micorrízicos introduzidos, promoveu aumentos consideráveis de fósforo para a nutrição das plantas de braquiária.

No 1º corte das plantas, observa-se que os percentuais de fósforo variaram entre 0,09 e 0,172%. Em gramíneas forrageiras (colonião e jaraguá), MALAVOLTA (1987), verificou que teores de fósforo entre 0,06 e 0,11% na matéria seca das plantas, não eram acompanhados de sintomas de deficiência, sendo que, abaixo de 0,06, as plantas apresentavam-se visivelmente deficientes em fósforo.

Os tratamentos que continham FAPS-dose 2 e ST apresentavam, no 1º corte das plantas, as maiores médias de teor percentual e conteúdo de fósforo, sendo que, em presença de fungo micorrízico introduzido, tanto em solo de sinfestado como não, apresentaram médias superiores aos tratamentos não inoculados.

Analisando o 2º corte das plantas, observa-se que os teores percentuais de P estiveram mais baixos, mas apenas o tratamento controle apresentava nessa época sintomas iniciais de deficiência de fósforo. As médias de conteúdo de fósforo foram conseqüentemente menores nessa amostragem. A presença de fungo micorrízico nativo e introduzido, proporcionou médias superiores de conteúdo de P das

plantas nos tratamentos que tiveram FAPS e ST.

Observando o teor percentual de P no terceiro corte das plantas, nota-se que as percentagens estiveram mais altas que as observadas no 1º e 2º cortes, entretanto, como ocorreu baixa produção vegetal nessa etapa, é provável que tenha ocorrido um efeito de concentração do elemento na parte aérea das plantas. De fato, os conteúdos de fósforo foram baixos nessa amostragem. Mesmo assim, identifica-se mais uma vez, um maior teor percentual e um maior acúmulo de fósforo no tratamento contendo FAPS-dose 2, quando inoculado com fungos micorrízicos-VA.

Analisando o conteúdo de fósforo acumulado durante todo o período do experimento, verifica-se que os fungos micorrízicos inoculados em solo desinfestado ou não, promoveram médias de conteúdo de fósforo similares. Apenas o tratamento que continha FAPS-dose 2, promoveu média superior quando a inoculação foi feita em solo não desinfestado ou seja, na presença de fungos micorrízicos nativos.

A presença de fungos micorrízicos introduzidos aliados a fungos micorrízicos nativos, promoveram mêdias significativamente superiores nos tratamentos FN dose 2, FAPS dose 2 e ST, em relação aos mesmos tratamentos não inoculados. Este fato sugere que houve interação positiva entre os fungos nativos e fungos introduzidos ao menos nesses tratamentos. Além disto, verifica-se que não houve efi

ciência da inoculação, quando se utilizou as menores doses de fósforo. Embora, maioria dos trabalhos encontrados na literatura relatam maior contribuição das associações micorrízicas em menores teores de P disponíveis (SPARLING & TINKER, 1978a; JASPER *et alii*, 1979); em nosso trabalho este fato não obteve confirmação.

A Figura 5 , compara os conteúdos acumulados de fósforo pelas plantas de braquiária e calopogônio , quando inoculados e não em solo não desinfestado com fungos micorrízicos-VA. Verifica-se que, de maneira geral, a braquiária acumulou quantidades de fósforo similares ao calopogônio.

4.2.4. COLONIZAÇÃO MICORRÍZICA

A Tabela 18 , apresenta os dados de percentagem de raízes colonizadas por fungos micorrízicos-VA.

Verifica-se que, os maiores teores percentuais foram obtidos quando se utilizou o fertilizante FAPS na dose 2 e quando o solo foi inoculado e não desinfestado, de maneira bastante similar ao ocorrido com a colonização micorrízica das raízes de calopogônio (Figura 6).

A baixa percentagem de colonização das raí

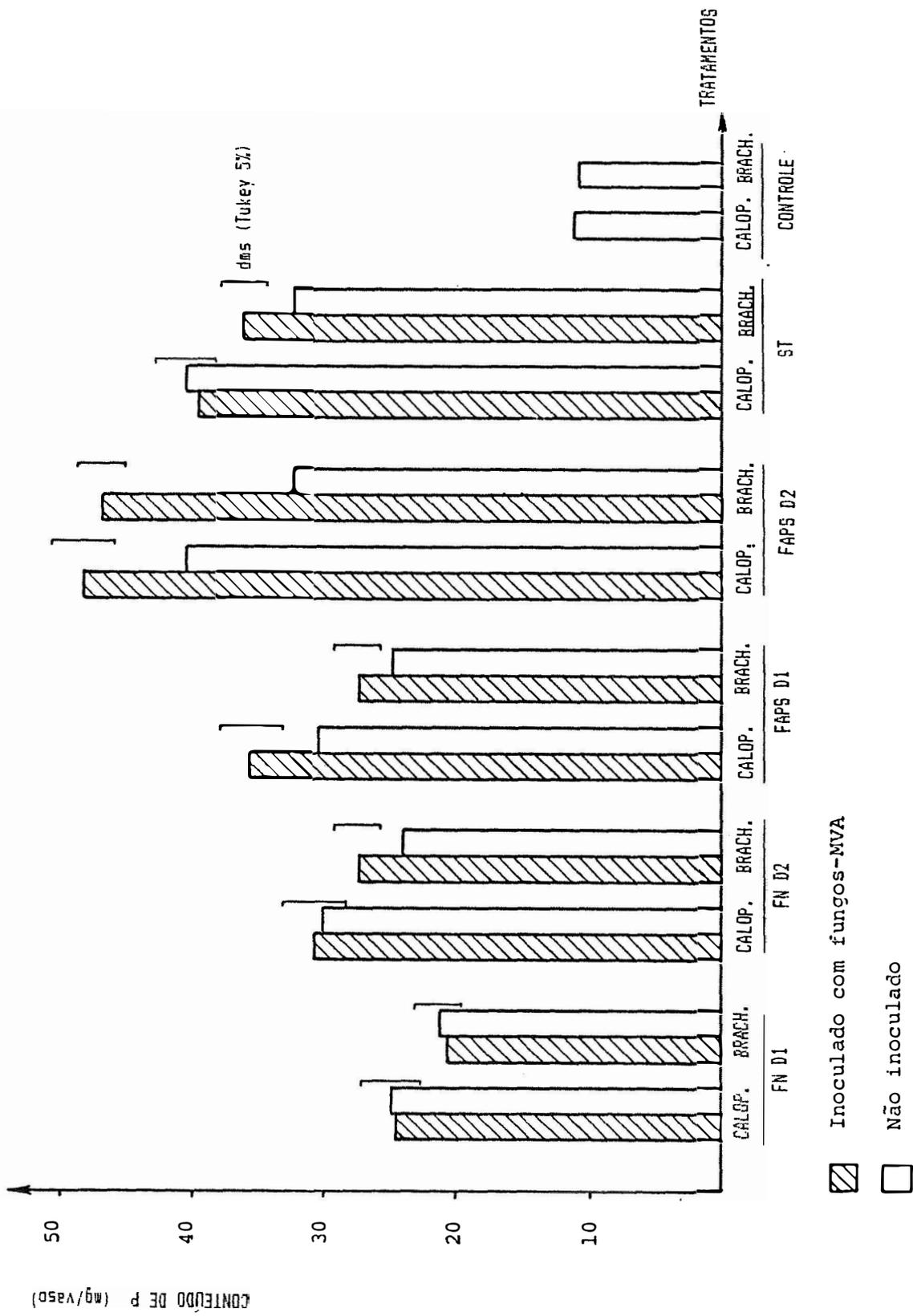


FIGURA 5. Efeito dos diferentes tratamentos aplicados em solo não desinfestado, no acúmulo de fósforo em plantas de *Calopogonium mucunoides* e *Brachiaria humidicola*.

TABELA 18 .Efeito dos diferentes tratamentos na percentagem de raízes de *Brachiaria humidicola* colonizadas por fungos micorrízicos-VA.

Tratamentos	Raízes Colonizadas por MVA %
MVA-FN D ₁	37,93bcde
MVA-FN D ₂	42,79bcd
MVA-FAPS D ₁	45,02bc
MVA-FAPS D ₂	50,25ab
MVA-ST	23,67ef
MVA+MN FN D ₁	52,00ab
MVA+MN FN D ₂	46,54bc
MVA+MN FAPS D ₁	48,64b
MVA+MN FAPS D ₂	65,00a
MVA+MN ST	28,64def
MN-FN D ₁	29,31def
MN-FN D ₂	32,02cdef
MN-FAPS D ₁	32,12cdef
MN-FAPS D ₂	39,04bcd
MN-ST	18,38f
CONTROLE	0g
	F= 24,89 (>0,00001) CV= 15,69%

Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si (Tukey 5%).

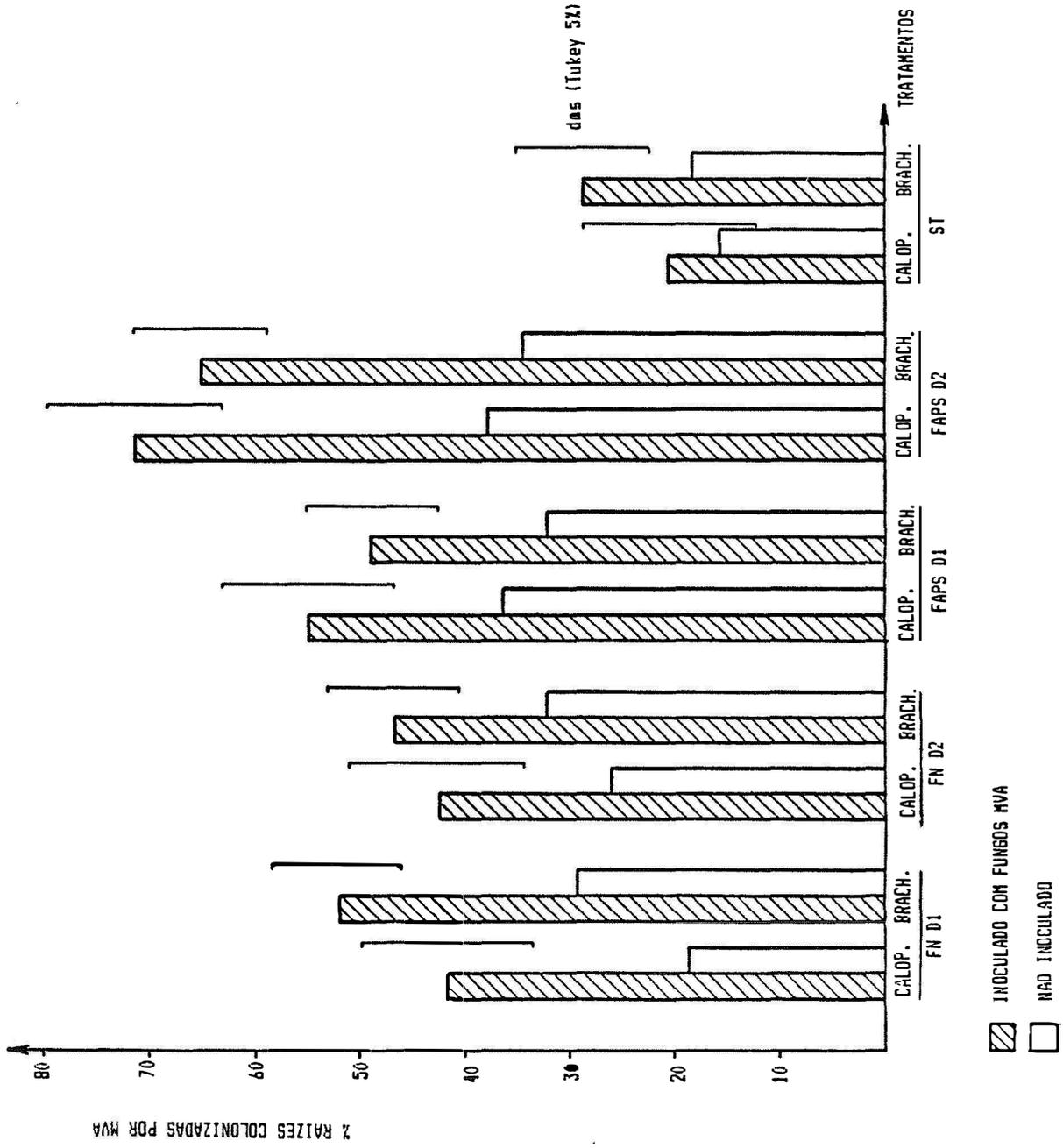


FIGURA 6. Efeito dos diferentes tratamentos aplicados em solo não desinfestado, na percentagem de raízes de *Calopogonium mucunoides* e *Brachiaría humidicola*, colonizadas por fungos micorrízicos-VA.

zes observada nos tratamentos com ST, também se verificou para a braquiária, indicando que 15 ppm P fornecidos como ST inibiram de certa forma a colonização das raízes, sendo que, a presença de fósforo tem sido frequentemente considerada como responsável pelo decréscimo na percentagem de infecção micorrízica nas raízes (*SAME et alii, 1982; THONSON et alii, 1986*).

De maneira geral, os fungos micorrízicos- VA inoculados aliados aos fungos micorrízicos nativos promoveram maior percentagem de colonização das raízes, o que significa que houve provavelmente interação positiva entre os endófitos.

Não se observou correlação significativa do ponto de vista estatístico, entre a percentagem de colonização das raízes e a matéria seca ou o conteúdo de P total. Alguns tratamentos, mesmo tendo alta percentagem de colonização das raízes, não tiveram correspondentes aumentos de matéria seca ou acúmulo de fósforo. Salienta-se novamente, que nem sempre se observam correlações significativas entre esses parâmetros.

LOPES (1980), verificou o efeito positivo das associações micorrízicas, mas não encontrou correlações significativas entre a colonização das raízes e a matéria seca das plantas.

4.2.5. ATIVIDADE ESPECÍFICA DO ^{32}P

A Tabela 19 , apresenta os dados médios obtidos para atividade específica de ^{32}P dada em contagens por minuto por grama de matéria seca (cpm/g m.s.) e contagens por minuto por mg de fósforo (cpm/mg P).

As maiores médias de atividade específica foram obtidas para o tratamento controle, uma vez que não se aplicou fertilizante fosfatado nesse tratamento.

Da mesma forma que o ocorrido com o calopogônio (Tabela 10), os tratamentos que continham FNA, tiveram valores de atividade específica tanto em cpm/g m.s. como em cpm/mg P, mais próximos ao tratamento controle, confirmando que também para a braquiária, o FNA foi menos eficiente que o FAPS e o ST em fornecer fósforo às plantas.

Comparando as atividades específicas entre os tratamentos aplicados ao solo desinfestado, verifica-se que apenas o tratamento FNA D₂ , apresentou médias que diferiram do ponto de vista estatístico, no 2º corte das plantas, sendo que a presença de fungos micorrízicos introduzidos aliados à fungos micorrízicos nativos, teriam diminuído a atividade específica medida em cpm/mg P. Embora a literatura relate que a presença de fungos micorrízicos associados às plantas, não altera a atividade específica, OWOSU-

TABELA 19.

Efeito dos diferentes tratamentos na atividade específica de ^{32}P dada em contagens por minuto por grama de matéria seca (cpm/g m.s.) e contagens por minuto por mg de fósforo (cpm/mg P), em plantas de *B. humidicola*.

Tratamentos	1º Corte		2º Corte	
	Atividade Específica (cpm/g m.s.)	Atividade Específica (cpm/mg P)	Atividade Específica (cpm/g m.s.)	Atividade Específica (cpm/mg P)
MVA-FN D ₁	35356a	34912a	1377a	1004abcd
MVA-FN D ₂	34392ab	31509ab	1252ab	1150abc
MVA-FAPS D ₁	21152cdef	18504def	1159abc	794cd
MVA-FAPS D ₂	23317abcd	14874ef	927c	652d
MVA-ST	18606cdefg	12775fgh	1107abc	1162abc
MVA+MN FN D ₁	27686abc	28992abc	1208abc	853cd
MVA+MN FN D ₂	28520abc	27048abcd	1004bc	820cd
MVA+MN FAPS D ₁	16431defg	14731ef	1141abc	879bcd
MVA+MN FAPS D ₂	13257fgh	8067hi	1029bc	1107abc
MVA+MN-ST	12193fgh	8564ghi	1024bc	1039abc
MN-FN D ₁	19954cdef	22237bcde	1161abc	905bcd
MN-FN D ₂	22952bcde	22106cde	1307ab	1255ab
MN-FAPS D ₁	15264efg	14248fg	1254ab	1167abc
MN-FAPS D ₂	6594h	4687i	1085abc	1320a
MN-ST	10439gh	8036hi	1186abc	884bcd
CONTROLE	44387	49998	2374	3797

F= 19,71 F= 3,81 F= 40,79 F= 6,25
 (>0,00001) (>0,00048) (>0,00001) (>0,00001)
 CV= 9,88% CV= 5,49% CV= 8,65% CV= 7,76%

Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si (TUKEY 5%)

BENNOAH & WILD (1980), comentam sobre a possibilidade de que na presença de fungos micorrízicos, as plantas, por explorarem mais intensamente o fósforo lábil, aumentariam a taxa de liberação de fosfatos fixados do solo. Em nosso experimento entretanto, é possível que as micorrizas, promovendo uma maior absorção de fósforo, tenham feito com que mais fósforo do fertilizante ou fixado ao solo, passasse para a solução do solo, afim de manter as concentrações de P em equilíbrio na solução, ao menos no tratamento FNA-D₂.

4.2.6. EFICIÊNCIA DE UTILIZAÇÃO DO FERTILIZANTE

FOSFATADO

As Tabelas 20 e 21, contêm as médias obtidas para os diversos parâmetros que visam avaliar a eficiência de utilização do fertilizante fosfatado, aos 60 e 120 dias após a germinação das sementes de braquiária.

A percentagem de fósforo na planta derivada do fertilizante fosfatado, no 1º corte, foi consideravelmente maior nos tratamentos que continham ST e FAPS dose2, indicando que esses fertilizantes foram mais efetivos que o FNA em fornecer fósforo às plantas. No 2º corte, observa-se que as percentagens de fósforo na planta derivadas do fertilizante FNA, foram maiores que as respectivas percen

TABELA 20 . Efeito dos diferentes tratamentos nos parame
tros: teor percentual de fósforo na planta de
 rivado do fertilizante (Pdf%) e derivado do so
 lo (Pds%) teor percentual de P do fertilizante
 utilizado (Pfu%), disponibilidade relativa cal
 culada por diluição isotópica (DRDI%) e disponi
 bilidade relativa calculada diretamente (DRD%),
 aos 60 dias após a germinação das sementes de
Brachiaria humidicola.

Tratamentos	Pdf %	Pds %	Pfu %	DRDI %	DRD %
MVA-FN D ₁	30,06	69,94	6,66	40,54	23,04
MVA-FN D ₂	36,93	63,07	2,54	49,80	19,03
MVA-FAPS D ₁	62,42	37,57	21,96	84,18	56,94
MVA-FAPS D ₂	70,44	29,55	13,13	95,00	110,85
MVA-ST	74,15	25,84	38,36	100,00	100,00
MVA+MN-FN D ₁	41,98	58,02	7,28	50,72	16,25
MVA+MN-FN D ₂	45,84	54,16	3,61	55,38	41,61
MVA+MN-FAPS D ₁	70,43	29,57	18,50	85,09	52,18
MVA+MN-FAPS D ₂	83,83	16,17	14,40	100,07	153,87
MVA+MN-ST	82,77	17,23	31,58	100,00	100,00
MN-FN D ₁	55,47	44,53	10,72	66,13	25,81
MN-FN D ₂	55,72	44,28	4,10	66,42	37,54
MN-FAPS D ₁	71,16	28,84	18,73	84,83	55,78
MN-FAPS D ₂	85,46	14,53	9,04	101,88	78,91
MN-ST	83,88	16,11	30,77	100,00	100,00

TABELA 21 . Efeito dos diferentes tratamentos nos parâmetros: teor percentual de fósforo na planta derivado do fertilizante (Pdf%) e derivado do solo (Pds%), teor percentual de P do fertilizante utilizado (Pfu%), disponibilidade relativa calculada por diluição isotópica (DRDI%) e disponibilidade relativa calculada diretamente (DRD%), aos 120 dias após a germinação das sementes de *Brachiaria humidicola*.

Tratamentos	Pdf %	Pds %	Pfu %	DRDI %	DRD %
MVA-FN D ₁	49,96	50,03	7,60	69,33	82,10
MVA-FN D ₂	63,89	36,11	4,73	88,66	150,70
MVA-FAPS D ₁	54,81	45,19	9,43	76,06	74,91
MVA-FAPS D ₂	65,08	34,92	3,63	90,31	85,26
MVA-ST	72,06	27,94	18,88	100,00	100,00
MVA+MN-FN D ₁	54,88	45,11	7,97	74,85	51,62
MVA+MN-FN D ₂	67,66	32,34	4,34	92,28	84,62
MVA+MN-FAPS D ₁	62,97	37,03	13,30	85,88	75,33
MVA+MN-FAPS D ₂	74,77	25,23	6,87	101,98	115,64
MVA+MN-ST	73,32	26,68	22,64	100,00	100,00
MN-FN D ₁	60,63	39,37	8,73	84,23	75,47
MN-FN D ₂	63,87	36,13	3,45	88,73	102,47
MN-FAPS D ₁	64,37	35,63	11,71	89,43	94,68
MN-FAPS D ₂	75,80	24,20	5,75	105,31	153,61
MN-ST	71,98	28,02	15,92	100,00	100,00

tagens obtidas no 1º corte, indicando que o FNA passou a fornecer mais fósforo às plantas depois dos 70 dias de sua aplicação, como aconteceu com o calopogônio (Tabela 12).

Para os fertilizantes FAPS e ST, observa-se que, durante o período relativo ao 1º corte, os teores percentuais de P na planta derivados do fertilizante foram maiores que no 2º corte.

Quanto à inoculação com fungos micorrízicos VA, não se verificaram diferenças entre os tratamentos, similarmente ao ocorrido com as plantas de calopogônio (Tabelas 11 e 12).

Com relação às percentagens de P do fertilizante utilizado, verifica-se que tanto a braquiária como o calopogônio extraíram percentagens similares das fontes fertilizantes no 1º corte das plantas, exceto quando o fertilizante foi o ST, cuja percentagem de utilização pela braquiária foi superior. No 2º corte, verifica-se que o calopogônio (Tabela 12), apresentou maior teor percentual de absorção do fósforo do fertilizante que a braquiária em todos os tratamentos.

Quanto à inoculação micorrízica em solo não desinfestado, verifica-se, ainda na Tabela 12 , que a percentagem de P do fertilizante utilizado (Pfu%) pela braquiária foi maior no tratamento contendo FAPS-D₂, em relação ao mesmo tratamento em solo não inoculado, indicando uma

melhor utilização dessa fonte de fertilizante devido à inoculação.

A disponibilidade relativa calculada por diluição isotópica (DRDI%), para os tratamentos que continham FAPS-D₂, foi similar ou superior à DRDI% para o ST, tanto no 1º corte como no 2º.

Quanto à disponibilidade relativa calculada diretamente, verifica-se que apresentou nos três cortes e no total, médias maiores para o tratamento FAPS-D₂, quando o solo foi inoculado e não desinfestado, mais uma vez indicando, a melhor utilização desse fertilizante quando na presença de fungos micorrízicos inoculados aliados aos nativos (Tabela 22).

A DRD total para a braquiária, foi bastante similar à DRD total do calopogônio (Tabela 14), indicando que as duas plantas utilizaram os fertilizantes praticamente com a mesma eficiência.

As curvas de regressão linear para os parâmetros DRDI x matéria seca e DRD x matéria seca, encontram-se na Tabela 23. Para o 2º corte não houve correlação. Os coeficientes de correlação apesar de significativos não foram muito elevados.

TABELA 22 . Efeito dos diferentes tratamentos na disponibilidade relativa calculada diretamente (DRD%) aos 182 dias após a germinação das plantas de *Brachiaria humidicola* e no decorrer de todo o experimento.

Tratamentos	DRD (%)	
	3º corte	Total
MVA-FN D ₁	78,95	40,31
MVA-FN D ₂	125,26	55,72
MVA-FAPS D ₁	75,09	62,30
MVA-FAPS D ₂	133,68	108,07
MVA-ST	100,00	100,00
MVA+MN-FN D ₁	84,13	38,53
MVA+MN-FN D ₂	110,07	66,24
MVA+MN-FAPS D ₁	81,61	66,36
MVA+MN-FAPS D ₂	158,69	142,08
MVA+MN-ST	100,00	100,00
MN-FN D ₁	76,69	47,42
MN-FN D ₂	74,94	60,04
MN-FAPS D ₁	70,17	60,70
MN-FAPS D ₂	97,24	100,56
MN-ST	100,00	100,00

TABELA 23 . Equações de regressão linear e respectivos coeficientes de correlação entre os parâmetros de disponibilidade relativa e matéria seca das plantas de *Brachiaria humidicola*.

x	y	Equação de regressão linear	r (Tukey 5%)
DRDI	x M.seca (1º corte)	$y=0,093 x + 6,02$	0,746*
DRD	x M.seca (1º corte)	$y=0,055 x + 9,82$	0,818*
DRDI	x M.seca (2º corte)	correlação não significativa	
DRD	x M.seca (2º corte)	correlação não significativa	
DRD	x M.seca (3º corte)	$y=0,012 x + 2,19$	0,792*
DRD	x M.seca (total)	$y=0,081 x + 20,55$	0,744*

5. CONCLUSÕES

1. As plantas de *Calopogonium mucunoides* e *Brachiaria humidicola*, formaram associações micorrízicas tanto com fungos micorrízicos-VA nativos do solo, como com fungos micorrízicos-VA introduzidos.
2. A adubação fosfatada e a presença de fungos micorrízicos tiveram efeito positivo no crescimento e no acúmulo de N e P na parte aérea das plantas e na nodulação da leguminosa.
3. A inoculação com fungos micorrízicos em solo não desinfestado promoveu aumentos na matéria seca e no acúmulo de N e P das plantas de *Calopogonium mucunoides* e *Brachiaria humidicola*, quando o fertilizante utilizado foi o FAPS (dose 45 ppm P).
4. O fertilizante FAPS na dosagem de 45 ppm, teve eficiência de utilização similar ou superior ao fertilizante superfosfato triplo na dosagem de 15 ppm P. O fosfato natural de Araxá teve eficiência de utilização menor, para ambas as plantas.

5. A colonização das raízes por fungos micorrízicos-VA, foi estimulada quando se utilizou o fertilizante FAPS (dose 45 ppm P), sendo que na presença de ST (dose 15 ppm P), a colonização foi efetivamente diminuída.

6. BIBLIOGRAFIA

- AGUILAR, S.A. & VAN DIEST, A. Rock phosphate mobilization induced by the alkaline uptake pattern of legumes utilizing symbiotically fixed nitrogen. *Plant and Soil*, The Hague-Netherlands, 61:27-42, 1981.
- ALLEN, M.F.; SEXTON, J.C.; MOORE, T.S. & CHRISTENSEN, M. Influence of phosphate source on vesicular-arbuscular mycorrhizae of *Bouteloua gracilis*, *New Phytologist*, London, 87:687-694, 1981.
- AMES, R.N. & BETHLENFALVAY, G.J. Localized increase in nodule activity but no competitive interaction of cowpea Rhizobia due to pre-establishment of vesicular-Arbuscular mycorrhiza. *New Phytologist*, 106(2):207-215, 1987.
- BAGYARAJ, D.J. & MANJUNATH, A. Response of crops plants to VA mycorrhizal inoculation in an unsterile indian soil. *New Phytol.*, London, 85(1):33-36, 1980.
- BAREA, J.M. & AZCÓN-AGUILAR, C. Mycorrhizas and their significance in nodulating nitrogen-fixing plants. *Advances in Agronomy*, New York, 36:1-54, 1983.

BAREA, J.M.; AZCÓN, R. & AZCÓN-AGUILAR, C. Effects of vesicular-arbuscular mycorrhiza and "phosphate-solubilizing bacteria" on the utilization of rock phosphate by plants in neutral-alkaline soils. In: Proceedings of a consultants meeting on the use of nuclear techniques to study the role of mycorrhizas in increasing food crop production, Viena, Austria, 1981. Nuclear Techniques to Study the Role of Mycorrhiza in Increasing Food Crop Production Viena, FAO-IAEA, 1985, Technical Document (TECDOC) n° 308:69-83.

BAREA, J.M.; ESCUDERO, J.L. & AZCÓN, G-AGUILAR, C. Effects of introduced and indigenous VA mycorrhizal fungi on nodulation, growth and nutrition of *Medicago sativa* in phosphate-fixing soils as affected by P fertilizers. Plant & Soil, The Hague, 54(2):283-296, 1980.

BEKELE, T.; CINO, B.J.; EHLERT, P.A.I.; VAN DER MAAS, A. A. & VAN DIEST, A. An evaluation of plant-borne factors promoting the solubilization of alkaline rock phosphates. Plant and Soil, The Hague-Netherlands, 75(3):361-378, 1983.

BEVEGE, D.I.; BOWEN, G.D. & SKINNER, M.F. Comparative carbohydrate physiology of ecto and endomycorrhizas. In: Sanders, F.E.; Mosse, B. & Tinker, P.B. Eds. Endomycorrhizas, Academic Press, London, 1975, p.149-174.

- BONETTI, R.; MONTANHEIRO, M. N. S.; SAITO, S. M. T. The effects of phosphate and soil moisture on the nodulation and growth of *Phaseolus vulgaris*. *J. Agricultural Science, Cambridge*, 103:95-102, 1984.
- BONFANTE-FASOLO, P. Anatomy and morphology of VA mycorrhizae
In: Powell, C. L. & Bagyaraj, D. J., Ed. VA Mycorrhiza, Boca Raton, CRC Press, 1984. p.5-33.
- BOWEN, G. D.; BEVEGE, D. I. & MOSSE, B. Phosphate physiology of vesicular-arbuscular mycorrhiza. *In: Sanders, F. E.; Mosse, B. & Tinker, P. B., Eds., Endomycorrhizas, Academic Press, London, 1975, p.241-260.*
- BOWEN, G. D. Mycorrhizal roles in tropical plants and ecosystems. *In: Mikola, P., Ed., Tropical Mycorrhiza Research, Oxford, Oxford University Press, 1980, p.165-190.*
- BOWEN, G. D. Fungus and epidemiological factors in the mycorrhizal response. *In: Proceedings of a Consultants Meeting on the Use of Nuclear Techniques to Study the Role of Mycorrhizas in Increasing Food Crop Production, Vienna, Austria, 1981. FAO-IAEA, 1985, Technical Document (TECDOC) n° 338:85-102.*
- BUWALDA, J. G. & GOH, K. M. Host-fungus competition for carbon as a cause of growth depressions in vesicular-arbuscular mycorrhizal ryegrass. *Soil Biological Biochemistry, Oxford*, 14:103-106, 1982.

- CABALA, R.P. & FASSBENDER, H.W. Formas del fósforo en sue los de la región cacaotera de Bahia, Brasil. Turrialba , Costa Rica, 20(4):439-444, 1970.
- CALDEIRA, S.F.; CHAVES, G.M. & ZAMBOLIM, L. Associação de micorriza vesicular-arbuscular com café, limão-rosa e ca pim gordura. Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília, 18(3):223-228, 1983.
- CALLOW, J.A.; CAPACCIO, L.C.M.; PARISH, G. & TINKER, P.B. De tecton and estimation of polyphosphate in vesicular- ar buscular mycorrhizas. New Phytologist, London, 80:125 - 134, 1978.
- CAPACCIO, L.C.M. & CALLOW, J.A. The enzymes of polyphos - phate metabolism in vesicular-arbuscular mycorrhizas. New Phytologist, London, 91(1):81-91, 1982.
- CARDOSO, E.J.B.N. Efeito da micorriza vesículo-arbuscular e fosfato de rocha na simbiose soja-Rhizobium. R.Brasileira de Ciência do Solo, Campinas, 9(2):125-130, 1985.
- COOPER, K.M. Physiology of VA mycorrhizal Associations. In: Powell, C.Ll. & Bagyaraj, J., Eds., VA Mycorrhiza, CRC Press, Boca Raton, 1984, p.155-186.

EL-HASSANIN, A.S. & LYND, J.Q. Soil fertility effects with tripartite symbiosis for growth, nodulation and nitrigenase activity of *Vicia faba* L. J. of Plant Nutrition , New York, 8(6);491-504, 1985.

FIBGE. Tabulações Avançadas do Censo Agropecuário. IX Recenseamento Geral do Brasil 1980, RJ 1982, 2(2) 228p.

FRIED; M. "E", "L" and "A" Value. Trans. 8th Int. Congr . Soil Science, Bucarest, 4:29-41. 1964.

GERDERMANN, J.W. Vesicular Arbuscular Mycorrhiza and Plant Growth. Ann. Rev. Phytop. Palo Alto, 6:397-418, 1968.

GERDERMANN, J.W. Mycorrhizae. In: Carson, E.W., Ed. The Plant Root and its Environment. Virginia Charlattesville , University Press, 1974, p.205-217.

GERDERMANN, J.W. & NICOLSON, T.H. Spores of mycorrhizal endogone species extracted from soil by wet sieving and decanting. Trans. British, Mycology Soc., London, 46:235-246, 1963.

GIOVANETTI, M. & MOSSE, B. An evaluation of techniques for measuring vesicular arbuscular mycorrhizal infections in roots. New Phytologist, London, 84(3):489-500, 1980.

HAYMAN, D.S. The occurrence of mycorrhiza in crops as affec
ted by soil fertility. In: Sanders, F.E.; Mosse, B. &
Tinker, P.B. Eds., Endomycorrhizas, London, Academic
Press, 1975, p.495-509.

HAYMAN, D.S. Mycorrhizal effects on white clover in rela
tion to hill land improvement. ARC Research Review, Lon
don, 3(3):82-86, 1977.

HAYMAN, D.S. Influence of soils and fertility on activity
and survival of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi
Phytopathology, St. Paul , 72(8):1119-1125, 1982.

HAYMAN, D.S. Effect of plant species, soil and environment
tal factors on vesicular-arbuscular mycorrhizal (VAM) in
fection and nutrient uptake. In: Proceedings of a consult
ants meeting on the use of nuclear techniques to study
the role of mycorrhizas in increasing food crop product
tion, Vienna, Austria, 1981. Nuclear Techniques to Study
the Role of Mycorrhiza in Increasing Food Crop Production
Vienna, FAO-IAEA, 1985, Technical Document (TECDOC)n^o338:
29-47.

HAYMAN, D.S. & MOSSE, B. Plant growth responses to vesicul
lar-arbuscular mycorrhiza. III. Increased uptake of labil
le P from soil. New Phytologist, London, 71:41-47,1972.

- HEAP, A.J. & NEWMAN, E.I. Links between roots by hyphae of vesicular-arbuscular mycorrhizas. *New Phytol.*, London, 85(2):169-171, 1980a.
- HEAP, A.J. & NEWMAN, E.I. The influence of vesicular-arbuscular mycorrhizas on phosphorus transfer between plants. *New Phytologist*, London, 85(2):173-179, 1980b.
- JACKSON, N.E.; FRANKLIN, R.E. & MILLER, R.H. Effects of vesicular-arbuscular mycorrhizae on growth and phosphorus content of three agronomic crops. *Soil Science Soc. Am. Proc.*, Madison, 36(1):64-67, 1972.
- JASPER, D.A.; ROBSON, A.D. & ABBOTT, L.K. Phosphorus and the formation of vesicular arbuscular mycorrhizas. *Soil Biol. Biochem.*, Oxford, 11(5):501-505, 1979.
- KUCEY, R.M.M. & PAUL, E.A. Carbon flow, photosynthesis and N₂ fixation in mycorrhizal and nodulated faba beans (*Vicia faba* L.) . *Soil Biological Biochemistry*, Oxford, 14: 407-412, 1982.
- LARSEN, S. The use of ³²P in the studies on the uptake of phosphorus by plants. *Plant and Soil*, The Hague, 4: 1-10, 1952.

- LOPES, E.S. Eficiência e especificidade das associações micorrízicas do tipo vesicular-arbuscular em gramíneas e leguminosas forrageiras e no cafeeiro (*Coffea arabica* L) Piracicaba, 1980, 111p. (Tese de Doutorado) ESALQ/USP.
- LOPES, E.S.; OLIVEIRA, E. & NEPTUNE, A.M.L. Efeito de espécies de micorrizas vesicular-arbusculares em siratro. *Bragantia*, Campinas, 39():241-245, 1980.
- LOPES, E.S.; SIQUEIRA, J.O. & ZAMBOLIM, L. Caracterização das micorrizas vesicular-arbusculares (MVA) e seus efeitos no crescimento das plantas. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, Campinas, SP, 7(1):1-19, 1983.
- MALAVOLTA, E. Elementos de Nutrição Mineral das Plantas. Ed. Agronômica Ceres, São Paulo, 1980, 251p.
- MALAVOLTA, E. Manual de calagem e adubação das principais culturas. Ed. Agronômica Ceres, São Paulo, 1987, 496p.
- MENGE, J.A. Effect of soil fumigants and fungicides on Vesicular-arbuscular fungi. *Phytopathology*, St. Paul, 72(8):1125-1132, 1982.
- MOSSE, B. Effects of different endogone strains on the growth of *Paspalum notatum*, *Nature*, London, 239:221-223 1972.

MOSSE, B. Advances in the study of vesicular-arbuscular mycorrhiza. Annual Review of Phytopathology, Palo Alto 11: 171-196, 1973.

MOSSE, B. Specificity in VA mycorrhizas. In: Sanders, F. E.; Mosse, B. & Tinker, P.B. Eds. Endomycorrhizas, London, Academic Press, 1975, p.467-484.

MOSSE, B.; POWELL, C.D. & HAYMAN, D.S. Plant growth responses to vesicular-arbuscular mycorrhiza. IX: Interactions between V.A. mycorrhiza, rock phosphate and symbiotic nitrogen fixation. New Phytologist, London, 76:331-342, 1976.

NEWMAN, E.I. Some factors affecting the abundance of mycorrhizas in grassland. In: Proceedings of a consultants meeting on the use of nuclear techniques to study the role of mycorrhizas in increasing food crop production, Vienna Austria, 1981. Nuclear Techniques to Study the Role of Mycorrhiza in Increasing Food Crop Production, Vienna, FAO-IAEA, 1985, Technical Document (TECDOC) n° 338:85-102.

NEWMAN, E.I. & RITZ, K. Evidence on the pathways of phosphorus transfer between vesicular-arbuscular mycorrhizal plants. New Phytol, London, 104(1):77-87, 1986.

- NYE, P.H. Changes of pH across the rhizosphere induced by roots. *Plant and Soil, The Hague-Netherlands*, 61:7-26, 1981.
- OWOSU-BENNOAH, E. & WILD, A. Effects of vesicular-arbuscular mycorrhiza on the size of the labile pool of soil phosphate. *Plant and Soil, The Hague-Netherlands*, 54 (2):233-242, 1980.
- PIMENTEL, A.R. Calopogônio, mais uma opção para os trópicos. *Correio Zootécnico, São Paulo*, 24(495), 06-20/08 / 1984, pg.9.
- PHILLIPS, J.M. & HAYMAN, D.S. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Transactions of the British Mycological Society, London*, 55(1):158-161, 1970.
- POWELL, C.U. Mycorrhizas in hill country soils.III.Effect of inoculation on clover growth in unsterile soils. *New Zealand J. of Agric. Res.*, Wellington, 20:343-348.
- RANGELEY, A.; DAFT, M.J. & NEWBOULD, P. The inoculation of white clover with mycorrhizal fungi in unsterile hill soil. *New Phytologist, London*, 92:89-102.

RATNAYAKE, M.; LEONARD, R.T. & MENGE, J.A. Root exsudation in relation to supply of phosphorus and its possible relevance to mycorrhizal formation. *New Phytologist*, London, 81:543-552. 1978.

ROCHA, G.L. Perspectivas e problemas de adubação de pastagens no Brasil. In: Mattos, H.B. et alii, Eds. Calagem e Adubação de Pastagens, POTAFÓS, Piracicaba. 1986, p. 1-29.

SANDERS, F.E. & TINKER, P.B. Mechanism of absorption of phosphate from soil by endogone mycorrhizas. *Nature*, London, 233:278-279, 1971.

SANO, S.M. Influência de endomicorrizas nativas do cerrado no crescimento de plantas. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, Campinas, 8:25-29, 1984.

SARRUGE, J.R. & HAAG, P.H. Análise química de Plantas. ESALQ/USP. Departamento de Química, 56p. 1974.

SMITH, S.E. & DAFT, M.J. Interactions between growth, phosphate content and nitrogen fixation in mycorrhizal and non-mycorrhizal *Medicago sativa*. *Australian J. of Plant Physiology*, Melbourne, 4(3):403-413, 1977.

- SMITH, S.E.; NICHOLAS, D.J.D. & SMITH, F.A. Effect of early mycorrhizal infection on nodulation and nitrogen fixation in *Trifolium subterraneum* L. Australian J. of Plant Physiology, Melbourne, 6(3):305-316, 1979.
- SPARLING, G.P. & TINKER, P.B. Mycorrhizal infection in Pennine Grassland. II. Effects of mycorrhizal infection on the growth of some upland grasses on γ irradiated soils. J. of Appl. Ecology, Oxford, 15(3):951-958, 1978a
- SPARLING, G.P. & TINKER, P.B. Mycorrhizal infection in Pennine Grassland. III. Effects of Mycorrhizal Infection on the Growth of White Clover. J. of Appl. Ecology, Oxford 15(3):959-964, 1978b.
- SWARD, R.J. Infection of Australian heathland plants by *Gigaspora margarita* (a vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus). Australian J. of Botany, Melbourne, 26:253 - 264, 1978.
- THOMSON, B.D.; ROBSON, A.D. & ABBOTT, L.K. Effects of phosphorus on the formation of mycorrhizas by *Gigaspora colospora* and *Glomus fasciculatum* in relation to root carbohydrates. New Phytol., London, 103(4):751-765, 1986.

- TINKER, P.B. Soil chemistry of phosphorus and mycorrhizal effects on plant growth. In: Sanders, F.E.; Mosse, B. & Tinker, P.B. ed. Endomycorrhizas, London, Academic Press, 1975, p.353-371.
- TINKER, P.B. The role of microorganisms in mediating and facilitating the uptake of plant nutrients from soil. Plant and Soil, The Hague-Netherlands, 76:77-91, 1984.
- TRAPPE, J.M. Mycorrhizae and productivity of arid and semi-arid rangelands. In: Manassah, J.T. & Briskey, E.J. Eds. Advances in Food Producing Systems for Arid and Semi arid Lands. New York, Academic Press, 1981, p.581-599.
- VAN RAIJ, B. Avaliação da Fertilidade do Solo, Instituto da Potassa & Fosfato, 1981, 142p.
- WAIDYANATHA, V.P.S.; YOGARATNAM, N. & ARIYARATNE, W.A. Mycorrhizal infection on growth and nitrogen fixation of *Pueraria* and *Stylosanthes* and uptake of phosphorus from two rock phosphates. New Phytologist, London, 82:147-152, 1979.

WOOLHOUSE, H.W. Membrane structure and transport problems considered in relation to phosphorus and carbohydrate movement and the regulation of endotrophic mycorrhizal associations. In: Sanders, F.E. *et alii*, Eds. Endomy corrhizas, Academic Press, London, 1975, pp.209-239.

ZAPATA, F. & AXMAN, H. A new methodology for the Agronomic evaluation of rock-phosphate sources by means of Radio active Tracers (^{32}P or ^{33}P), FAO-IAEA Agricultural Bio - technology Laboratory, Soil Science Unit, 13p, 1985.

APÉNDICE

TABELA 1. Formulação das soluções utilizadas no processo de avaliação da infecção micorrízica das raízes das plantas

FAA	13ml de formalina (formaldeído 40%) 5ml de ácido acético glacial 200ml de etanol
Lactoglicerol	1 parte de água 2 partes de ácido lático 1 parte de glicerol
Trypan blue estoque	1 g trypan blue 100ml lactoglicerol
Trypan blue solução	50ml de estoque trypan blue 950ml lactoglicerol
