

CINÉTICA DA ABSORÇÃO DE FOSFATO, NUTRIÇÃO MINERAL, CRESCIMENTO E PRODUÇÃO DA SOJA SOB INFLUÊNCIA DE MICORRIZA VESÍCULO-ARBUSCULAR (MVA)

VALDEMAR FAQUIN

Engenheiro Agrônomo

Orientador: Prof. Dr. EURÍPEDES MALAVOLTA

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

PIRACICABA

Estado de São Paulo - Brasil

Setembro de 1988

Faquin, Valdemar

F218c Cinética da absorção de fosfato, nutrição mineral, crescimento e produção da soja sob influência de micorriza vesículo-arbuscular (MVA). Piracicaba, 1988. 136p. ilus.

Tese - ESALQ
Bibliografia.

1. Soja - Crescimento 2. Soja - Micorriza - Absorção
3. Soja - Nutrição I. Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba

CDD 633.34

CINÉTICA DA ABSORÇÃO DE FOSFATO, NUTRIÇÃO
MINERAL , CRESCIMENTO E PRODUÇÃO DA SOJA SOB
INFLUÊNCIA DE MICORRIZA VESÍCULO-ARBUSCULAR (MVA)

Aprovada em: 27.09.1988

Comissão julgadora:

Prof. Dr. Eurípedes Malavolta	CENA/USP
Profª Dra. Elke Jurandy Bran Nogueira Cardoso	ESALQ/USP
Profª Dra. Siu Mui Tsai Saito	CENA/USP
Prof. Dr. Godofredo Cesar Vitti	FCAV/UNESP
Prof. Dr. José Oswaldo Siqueira	ESAL/Lavras



Prof. Dr. Eurípedes Malavolta
Orientador

.iii.

· À memória de meus pais,

OFEREÇO.

À Lígia,

Giovanni e

Giampaolo,

DEDICO.

H O M E N A G E M

À ESAL, pelos 80 anos
de serviços prestados
à Agricultura brasileira.

H O M E N A G E M P Ó S T U M A

Ao saudoso Amigo,

Prof. JEZIEL CARDOSO FREIRE,
pelo exemplo de dedicação
e dignidade.

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

À ESAL, ESALQ, CENA, CAPES e FAPESP, pela oportunidade da realização do curso e deste trabalho e à ANDA, pelos recursos fornecidos para a impressão.

Ao Professor Eurípedes Malavolta pela orientação, confiança e condições oferecidas para realização deste trabalho.

Às Professoras Elke J.B.N. Cardoso (ESALQ) e Siu Mui Tsai Saito (CENA), pelas sugestões e condições oferecidas para a realização das análises microbiológicas; aos professores José Oswaldo Siqueira e Fabiano Ribeiro do Vale (ESAL), pelas sugestões e ao professor Antonio Ilson G. Oliveira (ESAL) pelas sugestões e auxílio nas análises estatísticas.

Aos colegas Adriana P.D. da Silveira e Rubem Marcondes Ferreira, pelo auxílio no preparo de inoculantes e nas análises microbiológicas.

Ao Dr. Takashi Muraoka (CENA) pelas sugestões e auxílio no manuseio do material radioativo.

Aos laboratoristas Francisco Carlos Antonioli, Cleusa Pereira Cabral e Maria Lígia Malavolta, pelo auxílio nas análises químicas.

Aos colegas professores do DCS/ESAL pela confiança depositada no nosso trabalho.

A todos que direta ou indiretamente colaboraram para a realização deste trabalho.

Í N D I C E

	Página
LISTA DE ABREVIATURAS.....	vii
LISTA DE TABELAS.....	viii
LISTA DE FIGURAS.....	x
RESUMO.....	xiv
SUMMARY.....	xvii
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	3
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	17
3.1. Experimento 1: Cinética da absorção de fosfato..	17
3.1.1. Obtenção do material vegetal.....	17
3.1.2. Determinação dos parâmetros cinéticos....	23
3.2. Experimento 2: Nutrição, crescimento e produção.	27
4. RESULTADOS.....	34
4.1. Experimento 1: Cinética da absorção de fosfato..	34
4.2. Experimento 2: Nutrição, crescimento e produção.	44
4.2.1. Colonização das raízes pelo fungo MVA....	44
4.2.2. Crescimento e produção da soja.....	46
4.2.3. Nutrição mineral.....	51
5. DISCUSSÃO.....	67
6. CONCLUSÕES.....	89
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	91
APÊNDICE.....	112

LISTA DE ABREVIATURAS

- K_m = Constante de Michaelis-Menten.
- $V_{m\acute{a}x}$ = Velocidade maxima de absorcao.
- $C_{m\acute{i}n}$ = Concentracao mínima do nutriente ao término da cinética de absorcao.
- μM = Micromolar.
- μCi = Microcurie.
- MVA = Micorriza vesículo-arbuscular.
- M = Micorrizada.
- NM = Não micorrizada.
- ERM = Efeito Relativo da Micorriza.
- CUP = Coeficiente de Utilizacao do P acumulado
- FBN = Fixacao Biológica do Nitrogênio

LISTA DE TABELAS

TABELA		Página
1	Concentrações dos nutrientes usados nas soluções nutritivas aplicadas aos vasos com areia e de adaptação, antes do ensaio de cinética.....	21
2	Concentrações dos nutrientes usados na solução nutritiva de absorção de fosfato.....	24
3	Composição física e química dos substratos utilizados no cultivo da soja.....	28
4	Tratamentos envolvendo doses de P e inoculação com fungo micorrízico.....	30
5	Parâmetros cinéticos de absorção de P (K_m , $V_{m\acute{a}x}$ e $C_{m\acute{i}n}$) pela soja, influenciados pelos níveis de nutrição e micorrização da planta (M - micorrizada; NM - não micorrizada).....	37
6	Equações de regressão dos dados experimentais ajustados à forma linear da equação de Michaelis-Menten, segundo a transformação de LINEWEAVER e BURK (1934)	38

TABELA

Página

7	Efeito da micorrização da soja (M - micor rizada/NM - não micorrizada), no influxo líquido de P por unidade de raiz fresca , nos três níveis de nutrição utilizados, na faixa de 1 a 15 μ M de P na solução.....	41
8	Efeito da micorrização da soja (M - micor rizada/NM - não micorrizada), no influxo líquido de P por planta, nos três níveis de nutrição utilizados, na faixa de 1 a 15 μ M de P na solução.....	43

LISTA DE FIGURAS

FIGURA		Página
1	Detalhes do sistema utilizado para obtenção de plantas micorrizadas em areia....	19
2	Exaustão do P da solução pela soja, em função do tempo de absorção, nível de nutrição e micorrização da planta (M - micorrizada; NM - não micorrizada).....	36
3	Influxo líquido de fósforo por unidade de raiz fresca de soja, influenciado pela concentração de P na solução, nível de nutrição e micorrização da planta (M - micorrizada; NM - não micorrizada). Curvas traçadas de acordo com a equação de Michaelis-Menten.....	40
4	Influxo líquido de fósforo por planta, influenciado pela concentração de P na solução, nível de nutrição e micorrização da soja (M - micorrizada; NM - não micorrizada). Curvas traçadas de acordo com a equação de Michaelis-Menten,.....	42
5	Efeito das doses de P aplicadas sobre a percentagem de colonização de raízes de soja pelo fungo micorrízico, em função da idade da planta.....	45

FIGURA

Página

6	Efeito das doses de P aplicadas na produção total de matéria seca e de grãos pela soja micorrizada (M) e não micorrizada (NM), nas diferentes épocas de colheita da planta (Equações: Apêndice 2)....	47
7	Efeito da micorriza na produção da matéria seca total pela soja, em função das doses de P aplicadas e da idade da planta.....	48
8	Efeito relativo da micorriza (ERM) na produção de matéria seca total e de grãos pela soja, nas diferentes épocas de colheita da planta, em função das doses de P aplicadas, bem como, teor de P no substrato, determinado pelo método da resina, em função das doses de P (Equações: Apêndice 3).....	50
9	Doses de fósforo necessárias para produção de 90% da produção máxima de grãos pela soja micorrizada (M) e não micorrizada (NM) (Equações: Apêndice 2).	
10	Efeito das doses de fósforo nos parâmetros da fixação biológica do nitrogênio em soja micorrizada (M) e não micorrizada (NM), aos 60 dias de idade da planta. (Equações: Apêndice 5).....	54

FIGURA

Página

11	Efeito das doses de P aplicadas na concentração e acumulação de N pela soja micorrizada (M) e não micorrizada (NM), nas diferentes épocas de colheita da planta (Equações: Apêndice 8).....	56
12	Efeito das doses de P aplicadas na concentração e acumulação de P pela soja micorrizada (M) e não micorrizada (NM), nas diferentes épocas de colheita da planta (Equações: Apêndice 11).....	58
13	Efeito das doses de P aplicadas, sobre o Coeficiente de Utilização de Fósforo (CUP) em soja micorrizada (M) e não micorrizada (NM), nas diferentes épocas de colheita da planta (CUP = g mat. seca/mg P acumulado) (Equações: Apêndice 12).....	60
14	Efeito das doses de P aplicadas na concentração e acumulação de K pela soja micorrizada (M) e não micorrizada (NM), nas diferentes épocas de colheita da planta (Equações: Apêndice 21).....	61
15	Efeito das doses de P aplicadas na concentração e acumulação de S pela soja micorrizada (M) e não micorrizada (NM), nas diferentes épocas de colheita da planta (Equações: Apêndice 22).....	62

FIGURA

Página

- 16 Efeito das doses de P aplicadas na concentração e acumulação de cobre pela soja micorrizada (M) e não micorrizada (NM), nas diferentes épocas de colheita da planta (Equações: Apêndice 23)..... 63
- 17 Efeito das doses de P aplicadas na concentração e acumulação de Zn pela soja micorrizada (M) e não micorrizada (NM), nas diferentes épocas de colheita da planta (Equações: Apêndice 24)..... 64
- 18 Distribuição dos nutrientes nas partes da planta de soja micorrizada (M) e não micorrizada (NM), no final do ciclo, como percentagem do total acumulado (médios 4 níveis de P). Relação M. seca vagens/M.seca total: M = 0,436; NM=0,440. 66

CINÉTICA DA ABSORÇÃO DE FOSFATO, NUTRIÇÃO MINERAL,
CRESCIMENTO E PRODUÇÃO DA SOJA SOB INFLUÊNCIA
DE MICORRIZA VESÍCULO-ARBUSCULAR (MYA)

Autor: VALDEMAR FAQUIN

Orientador: EURÍPEDES MALAVOLTA

RESUMO

Foi estudado o efeito da micorrização pelo fungo *Glomus macrocarpum* e do estado nutricional, nos parâmetros cinéticos de absorção de P (K_m , $V_{m\acute{a}x}$, $C_{m\acute{m}n}$) em soja [*Glycine max* L. (Merrill.) cv. Viçõja]. Cultivaram-se plantas de soja em vasos contendo 2 litros de areia lavada, submetidas a 3 níveis de nutrição, denominados 1, 2 e 3, correspondendo às concentrações dos nutrientes na solução nutritiva aplicada aos vasos (1/5; 2/5 e 3/5 da solução de Hoagland e Arnon, nº 2); na presença e ausência de fungo micorrízico, arranjos em esquema fatorial 3 x 2. Após 40 dias da germinação em casa de vegetação, as plantas foram transplantadas para vasos com solução nutritiva correspondente, por um período de 7 dias para adaptação, antes do experimento de cinética. Este foi realizado sob condições de laboratório mediante o esgotamento do P de solução contendo ^{32}P , por um período de 12 horas e os parâmetros cinéticos determinados. A taxa de colonização das raízes avaliadas após a retirada das plantas da areia, foi de 53; 58 e 64%, para os níveis de nutrição 1; 2 e 3, respectivamente. As plantas micorrizadas apresentaram valores de K_m e $V_{m\acute{a}x}$, 28 e 33%, respectivamente, maiores que as não micorrizadas, para o nível

de nutrição 1, com tendência de redução dos valores absolutos e nas diferenças entre plantas com e sem micorriza, com o aumento do nível de nutrição. A $C_{\text{mín}}$ foi 62% menor nas plantas micorrizadas no nível de nutrição 1, com tendência de se igualarem com o aumento do nível de nutrição. A micorrização promoveu um aumento médio no influxo líquido de P nos níveis de nutrição 1 e 2, respectivamente, de 22 e 9% por grama de raiz fresca por hora e de 50 e 20% por planta por hora.

Em outro experimento também conduzido em casa de vegetação, usando-se a mesma variedade de soja e espécie de fungo, foi estudado o efeito da inoculação com *G. macrocarpum* na nutrição mineral e crescimento da soja em diferentes fases do ciclo da planta, na fixação biológica do nitrogênio aos 60 dias de idade e na produção de grãos no final do ciclo, em função de doses crescentes de P aplicadas. Utilizou-se neste experimento amostras de um Latossolo Vermelho Escuro misturado com areia grossa na proporção 3:1, esterilizado por vapor fluente em autoclave. Após a devida calagem e adubação básica sem N e P e inoculação com *Bradyrhizobium japonicum*, aplicaram-se os seguintes tratamentos: 4 níveis de P aplicado (0; 10; 30 e 90 ppm, na forma de $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$); presença e ausência de fungo micorrízico e 5 épocas de colheita (20; 40; 60 e 80 dias após a germinação e final do ciclo). Estes tratamentos foram arranjados em esquema fatorial 4x2x5 com 4 repetições. Os resultados obtidos mostraram que as doses de P utilizadas não afetaram significativamente a taxa de colonização das raízes. Foram distinguidas várias fases na dinâmica da colonização, sendo: fase lenta, até aos 40 dias; fase de crescimento extensivo, dos 40 aos 60 dias e fase de estabilização, a partir dos 60 dias de idade da planta. A micorrização foi benéfica para o crescimento da planta em todas as doses de P aplicadas, sendo maior na faixa de doses entre 40 a 50 ppm de P, que corresponde de 20 a 25 ppm de P disponível no solo pelo método da resina tro-

cadora de íons, proporcionando no final do ciclo, aumentos de 350% na matéria seca total e 400% na produção de grãos; redução de 43% na dose de P e 22,5% no nível crítico de P disponível no solo para obtenção de 90% da produção máxima; aumentos no número e peso dos nódulos e na atividade da nitrogenase nas doses intermediárias de P; aumentos nos teores foliares de P, K e Cu aos 40 dias e, diminuição nos teores de N, S e Zn, a partir desta idade. Verificou-se ainda, maior alocação de nutrientes das partes vegetativas para as vagens nas plantas micorrizadas em comparação com aquelas sem micorrizas.

Ficou evidenciado a influência dos fungos MVA nos parâmetros cinéticos de absorção de fosfato (K_m , $V_{m\acute{a}x}$ e $C_{m\acute{i}n}$), na nutrição, crescimento e produção da soja, sob condições de baixa disponibilidade de P e N.

KINETICS OF PHOSPHATE ABSORPTION, MINERAL NUTRITION,
GROWTH AND PRODUCTION OF SOYBEANS UNDER THE
INFLUENCE OF VESICULAR ARBUSCULAR MYCORRHIZA (VAM)

Author: VALDEMAR FAQUIN

Adviser: EURÍPEDES MALAVOLTA

SUMMARY

The effect of mycorrhizal inoculation (*Glomus macrocarpum*) and plant nutritional status (as pretreatment) on the parameters of the kinetics of ^{32}P labelled ortophosphate (K_m , V_{\max} and C_{\min}) by intact soybeans [*Glycine max* L. (Merrill) cv. Viçoja] was studied. Previously, soybeans was grown in sand culture with 3 nutritional levels (1/5; 2/5 and 3/5 of number 2 Hoagland & Arnon solution), either in the presence or absence of *Glomus macrocarpum*, arranged as 3x2 factorial design. Fourty days after germination, plants were transfered to pots containing the respective nutrient solution, and maintained during 7 days for adaptation, prior to the kinetics study. Plants were allowed to absorb radiophosphate during 12 hours, when nutrient solution samples were taken at differents times for the residual ^{32}P determination and the kinetics parameters calculated. Root colonization rates by the fungus was 53, 58 and 64% for the nutri-

tional levels 1, 2 and 3, respectively. Mycorrhizal plants exhibited K_m and $V_{m\hat{a}x}$ value 28 and 33%, respectively, higher than non-mycorrhizal plants at the lowest nutritional level. Raising the nutritional level decreased the absolute value of those parameters and the differences between mycorrhizal and non-mycorrhizal plants. C_{min} was 62% lower in mycorrhizal plants from lowest nutritional level, such an effect was inversely proportional to the plant nutritional level. The net influx in mycorrhizal plants, were 22 and 9% higher, considering one gram of root; and 50 and 20% higher, considering the whole root system, than non-mycorrhizal plants at nutritional levels one and two, respectively.

The effects of mycorrhiza and P application on biological nitrogen fixation, mineral nutrition and growth at different stages and grain yield of soybeans, were also evaluated in a separated experiment. Seeds were inoculated with *Bradyrhizobium japonicum*, and grown in Dark Red Latosol mixed with coarse sand in a proportion of 3:1. After sterilization, the soil was limed and fertilized, except for N and P. Four levels of P were applied (0, 10, 30 and 90 ppm) as monocalcium phosphate and the half of plants were inoculated with *G. macrocarpum*. Plants were harvested 20, 40, 60 and 80 days after germination and at the end of growth cycle. These treatments were arranged in factorial design 4x2x5 with 4 replications. P rates had no significant effects on root colonization rate which ex-

hibited a slow growth phase from germination to 40 days; a extensive phase from 40 to 60 days, and a stabilization phase from 60 days on. Inoculation with *G. macrocarpum* showed the following effects: improved plant growth regardless of P application. This effect was maximum when 40 to 50 ppm of P were applied (20 and 25 ppm extracted by ion exchange resin); increased total dry matter by 350% and grain yield by 400%; reduced the external P requirement and the critical soil P level required to obtain 90% of the maximum grain yield by 43 and 22.5%, respectively; favoured nodulation and nitrogenase activity at intermediate P levels; increased concentration of P, K and Cu in the leaves at 40 days and decreased N, S and Zn from this stage on; changed the partition of nutrients in the plant. Mycorrhizal plants allocated more nutrients to the pods compared to non-mycorrhizal ones.

The influence of VAM fungi on the kinetics of uptake (K_m , V_{max} and C_{min}) nutrition, growth and grain production of soybeans, under low P and N availability was evidenced in this study.

1. INTRODUÇÃO

[Os solos das regiões tropicais, de maneira geral, apresentam elevado grau de intemperização, evidenciado pela baixa capacidade de troca de cátions, baixa retenção de bases e elevada acidez. Na fração argila, predominam minerais do grupo caulinita e óxidos de ferro e alumínio, condições favoráveis à fixação do fósforo (P) e conseqüente redução da sua disponibilidade. Assim, as condições são propícias para a perda de nutrientes, portanto, o estudo de técnicas visando ao aumento da eficiência das adubações são importantes. Dentro deste contexto, ressalta-se a importância dos fungos micorrízicos, que aparecem relacionados com uma infinidade de espécies vegetais, dentre elas a soja, que responde positivamente à colonização por micorriza vesículo-arbuscular (MVA) (GERDEMANN, 1968 e MOSSE, 1973a).

A soja, uma das principais fontes de divisa do Brasil, representa atualmente 18,3% do total de fertilizantes consumidos no país (ANDÁ, 1987) e com os grandes aumentos verificados nos preços desses insumos, estes participam em grande parcela no custo de produção desta cultura.

O P é o nutriente cuja deficiência mais tem limitado a produção agrícola nas regiões tropicais, sendo ainda o mais aplicado nas adubações das culturas anuais. Neste particular, as associações MVA têm sido consideradas como uma alternativa para maximizar a utilização dos fertilizantes fosfatados, visto que, na maioria dos casos, as respostas à micorrização são devidas a maior absorção de P (ZAMBOLIM e SIQUEIRA, 1985), embora, podem ser essenciais na absorção de zinco (COO-

PER e TINKER, 1978) e de cobre (GILDON e TINKER, 1983), todos de baixa mobilidade no solo. A maior absorção de nutrientes pelas plantas micorrizadas tem sido atribuída ao fato de que os fungos absorvem os nutrientes além da zona imediata da rizosfera e os translocam para as raízes. Também, há modificações fisiológicas na planta, que podem alterar as características relacionadas com a cinética de absorção, translocação e utilização do P (COOPER, 1984 e ZAMBOLIM e SIQUEIRA, 1985).

Nos solos tropicais, tanto a deficiência de nitrogênio (N) quanto a de P, representam um fator limitante ao crescimento das plantas. Os fungos MVA, comuns em leguminosas, aumentam a absorção de P, provavelmente o mais importante nutriente para o crescimento e efetiva nodulação das leguminosas, sendo de grande interesse o possível uso da associação tríplice leguminosa-rizóbio-MVA, como um meio de aumentar a produtividade das leguminosas (BAREA e AZCÓN-AGUILAR, 1983).

A eficiência da associação MVA, depende da complexa interação entre a planta, o solo, o fungo e o ambiente. Isto implica em que a melhor combinação entre estes fatores deve ser estudada, a fim de possibilitar o manejo adequado desta associação.

Este trabalho, que constou de dois experimentos distintos, teve como objetivos o estudo dos efeitos da inoculação do fungo MVA e da aplicação de doses de P, nos parâmetros cinéticos de absorção de fosfato (K_m , $V_{máx}$ e C_{min}) pelas raízes, fixação biológica do nitrogênio, nutrição mineral e crescimento em diferentes fases do ciclo e, produção de grãos pela soja.

2. REVISÃO DE LITERATURA

O termo micorriza (do grego, mykes = fungo, rhi za = raiz) foi designado por Frank, em 1885 (ZAMBOLIM e SIQUEIRA, 1985) e compreende as associações simbióticas e mutualísticas não antagônicas entre fungos do solo e radículas das plantas, nas quais os membros se beneficiam da interação. As associações micorrízicas ocorrem nas plantas superiores tão frequentemente que aquelas que não interagem com estes fungos simbiontes constituem uma exceção na natureza (Marx e Brian, 1975, citados por ZAMBOLIM e SIQUEIRA, 1985). Três grandes grupos de associações simbióticas de fungos e raízes de plantas são caracterizados, de acordo com o arranjo das hifas nas células do córtex da raiz: ectomicorrizas, endomicorrizas e ectendomicorrizas (PEYRONEL et alii, 1969). Dos vários tipos, a endomicorriza vesicular-arbuscular (MVA), é a mais comum e amplamente distribuída, devido principalmente a diversidade de ambientes em que é encontrada, como também, a enorme gama de plantas às quais se associa (RHODES e GERDEMANN, 1980).

Estas são formadas por fungos pertencentes aos gêneros *Glomus*, *Gigaspora*, *Scutellospora*, *Acaulospora*, *Sclerocystis* e *Entrophospora*, da família Endogonaceae, ordem Endogonales, na classe Zygomycetes (GERDEMANN e TRAPPE, 1974; TRAPPE, 1982; WALKER, 1987). Estes fungos, são simbiontes obrigatórios e, até o momento, não foi possível cultivá-los "in vitro". Associam-se à maioria das plantas, embora sejam raros ou ausentes em famílias como, por exemplo, Cruciferae, Chenopodiaceae, Caryophyllaceae e Cyperaceae (POWELL e BAGYARAJ, 1984).

{ As MVA desenvolvem-se a partir da infecção ini-

cial da raiz por uma hifa ou tubo germinativo de esporos formando um extenso micélio inter- e intracelular no córtex, dando origem às vesículas, que parecem ter como função a de reserva e os arbúsculos, considerados como uma região de troca entre a planta e o fungo (TINKER, 1980). Ao redor das raízes, o fungo forma uma rede miceliana que se desenvolve no solo.)

O maior crescimento da planta é atribuído a uma maior capacidade de absorção de nutrientes do solo. Esta maior absorção deve-se a um aumento na superfície de absorção do sistema radicular, bem como, à exploração de maior volume de solo pelas hifas externas do fungo, que, segundo RHODES e GERDEMANN (1975), podem atingir até 8cm da superfície da raiz. Estabelece-se, portanto, uma estrutura que confere ao sistema radicular uma superfície extra de absorção, que ultrapassa a região de esgotamento das raízes não infectadas (LOPES, 1980). Os maiores efeitos das MVA na absorção tem sido verificados para aqueles nutrientes que se movem no solo por difusão, portanto, de lenta mobilidade, como o P, principalmente, o Cu e o Zn (MOSSE, 1973a; HAYMAN, 1983 e COOPER, 1984). Aumentos na absorção de outros nutrientes têm sido também verificados, para o S (GRAY e GERDEMANN, 1973; RHODES e GERDEMANN, 1978), o K (POWELL, 1975a) para o Ca (ROSS, 1971). As modificações fisiológicas que se verificam nas plantas micorrizadas, podem interferir nas características relacionadas com a cinética de absorção, translocação e utilização de P (COOPER, 1984; ZAMBOLIM e SIQUEIRA, 1985).

Os benefícios causados às plantas pelos fungos MVA não estão somente relacionados à melhoria do estado nutricional do hospedeiro. As micorrizas conferem também às plantas, uma maior tolerância ao estresse hídrico e aumento na absorção

de água (SAFIR et alii, 1972; NELSEN e SAFIR, 1982; ALLEN et alii, 1981; PAULA e SIQUEIRA, 1987c; BETHLENFALVAY et alii, 1987); tolerância a patógenos do solo (ZAMBOLIM, 1986 e 1987); maior taxa fotossintética (ALLEN et alii, 1981); produção de fatores de crescimento (ALLEN et alii, 1980 e 1982) entre outros.

Embora a micorrização tenha efeitos quantitativos e qualitativos sobre a nutrição da soja (YOST e FOX, 1982; CARDOSO, 1985), seu efeito mais acentuado e com interesse econômico, é o aumento na absorção de P do solo, que permitiria o uso mais eficiente e racional de fertilizantes fosfatados, aplicados aos solos deficientes e com alta capacidade de fixação de P, como os de cerrado (SIQUEIRA e PAULA, 1986). De acordo com BIELESKY (1973), aproximadamente 95-99% do P do solo ocorre em formas não prontamente disponíveis às plantas e, a sua concentração na solução dos solos tropicais é muito baixa e a sua difusão extremamente reduzida (LEWIS e QUIRK, 1967), limitando assim, o bom desenvolvimento das culturas.

Em geral, o P da solução do solo apresenta-se em concentrações inferiores às verificadas no interior das raízes, devendo ser absorvido, portanto, contra um gradiente de concentração, envolvendo consumo de energia, conforme comprovado pela utilização de inibidores metabólicos como a cianamida sódica (BEEVER e BURNS, 1980).

A absorção de íons da solução do solo pelas plantas é governada por dois fatores principais: (a) a transferência de íons do solo em direção da superfície da raiz e, (b) o poder de absorção radicular. O primeiro fator é função da mobilidade dos íons no solo e da densidade radicular. O segundo, é influenciado pela superfície total de absorção e a taxa de absorção do íon a uma determinada concentração na solução. Os fungos micorrízicos, além de aumentarem a superfície de absorção a-

través das hifas, alterações fisiológicas podem estar envolvidas no processo de absorção iônica das plantas micorrizadas, como revisado por ZAMBOLIM e SIQUEIRA (1985). Dentro deste contexto, CRESS et alii (1979), estudando o efeito da micorriza nos parâmetros cinéticos de absorção de P, demonstraram em tomateiro que a presença do fungo micorrízico promoveu uma diminuição nos valores de K_m (constante de Michelis-Menten que corresponde à concentração do íon na solução que garante metade da velocidade máxima de absorção, sendo uma medida da afinidade do carregador pelo íon), embora os valores da $V_{m\acute{a}x}$ (velocidade máxima de absorção = quantidade do íon absorvida, quando todas as moléculas do carregador estiverem ocupadas pelo íon) fossem semelhantes para as plantas colonizadas ou não colonizadas. Assim, estes resultados sugerem que as plantas micorrizadas possuem maior afinidade pelo P, proporcionando um mecanismo importante para as plantas cultivadas em solos tropicais, onde as concentrações de P na solução são extremamente baixas.

Os resultados acima mencionados para o K_m não foram confirmados em trabalhos recentes, com soja (KARUNARATNE et alii, 1986) e feijoeiro (SILVEIRA et alii, 1987), apesar de que valores do $V_{m\acute{a}x}$ fossem maiores nas plantas micorrizadas, indicando um aumento na absorção de P, devido ao aumento no número de sítios de absorção, conferidos pelas hifas dos fungos.

Medidas da taxa de influxo de P nas MVA e nas raízes não colonizadas no solo, têm demonstrado que nas hifas o influxo de P é de aproximadamente 18×10^{-4} moles. $cm^{-1} \cdot s^{-1}$, ou seja, aproximadamente 6 vezes maior que a taxa observada para a raiz não colonizada (Sanders e Tinker, 1973, citados por COOPER, 1984). De acordo com COOPER e TINKER, (1978), a absorção de P na solução pode ser parcialmente controlada pela demanda do hospedeiro. BIELESKY (1973) afirmou que a maior absorção de fosfato por plantas com micorriza poderia ser atribuída

à maior taxa de conversão de P-inorgânico para P-orgânico observada nestas plantas, o que aumentaria o gradiente de P-inorgânico das raízes para as folhas e o dreno para o fosfato, facilitando a absorção deste íon.

O movimento do P absorvido pelas hifas externas do fungo MVA em direção às raízes do hospedeiro foi demonstrado (PEARSON e TINKER, 1975). A constatação de grânulos de polifosfato nos vacúolos das hifas (COX et alii, 1975) e a expectativa de que estes vacúolos seriam transferidos através da movimentação citoplasmática caracteriza o processo pelo qual o P transloca dentro do fungo, em direção à planta hospedeira. Acredita-se que os arbúsculos sejam os sítios responsáveis pelas trocas entre o fungo e o hospedeiro, do P e outros íons (TINKER, 1980). A transferência do P do arbúsculo para a célula do córtex da raiz do hospedeiro é um processo ativo (WOOLHOUSE, 1975). Com base em estimativas das taxas de decomposição dos arbúsculos, COX e TINKER (1976) assinalaram que este mecanismo não seria relevante para explicar o fornecimento de P adicional para a raiz infectada, sendo a passagem dos nutrientes pelo arbúsculo intacto, seguido pela absorção através do plasmalema das células das raízes do hospedeiro, indicado como um processo mais importante (COOPER, 1984). Embora tenha sido demonstrado que a raiz micorrizada absorve mais Zn (BOWEN et alii, 1974) e mais S (GRAY e GERDEMANN, 1973; RHODES e GERDEMANN, 1978; COOPER e TINKER, 1978), parece que as quantidades relativas transportadas nas hifas são diferentes, conforme foi demonstrado por COOPER e TINKER (1978), para P, S e Zn, onde a taxa relativa de transporte em hifas de *Glomus mosseae* foi de 35:6:1, respectivamente.

Assim, o fungo MVA pode ser considerado como um organismo funcionando em série com as raízes no processo de ab

sorção iônica pelas plantas. Em troca, ocorre em direção oposta, uma translocação de fotossintatos da planta hospedeira para o fungo (HO e TRAPPE, 1973).

A hipótese de que os fungos micorrízicos poderiam utilizar formas de P do solo de baixa disponibilidade tem sido investigada, com diferentes espécies de plantas (SANDERS e TINKER, 1971; HAYMAN e MOSSE, 1972; MOSSE et alii, 1973; POWELL, 1975b; GIANINAZZI-PEARSON et alii, 1981), em experimentos nos quais o "pool" de P-lábil foi marcado com ^{32}P . A observação de que a atividade específica ($^{32}\text{P}/^{31}\text{P}$) do P nos tecidos das plantas colonizadas e não colonizadas era semelhante descartou esta possibilidade, embora a absorção total das primeiras era mais elevada. Da mesma maneira, o maior aproveitamento do P de fontes de baixa solubilidade foi evidenciado (ROSS e GIULLIAN, 1973). Mais recentemente, diversos trabalhos foram realizados com soja em diferentes condições (GIANINAZZI-PEARSON et alii, 1981; CARDOSO, 1985 e 1986a; AZCÓN-AGUILAR et alii, 1986; SIQUEIRA et alii, 1987; MIRANDA, 1982) e as conclusões da maioria destes podem ser sumarizados pelas evidências propostas por HAYMAN (1978), que relata que a melhor utilização do P dos fosfatos de rocha e outras fontes de baixa solubilidade pode ser atribuída: (a) ao maior contato entre a rede de hifas externas do fungo com as partículas dos fosfatos; (b) maior capacidade absorptiva das raízes micorrizadas, abaixando as concentrações de P e de Ca da solução do solo, favorecendo a dissolução do material e, (c) modificações químicas, físico-químicas e biológicas na rizosfera (BARREA e AZCÓN-AGUILAR, 1983).

As micorrizas VA resultam de uma condição de equilíbrio entre o fungo, a planta e o ambiente (clima e solo), sendo que cada um destes componentes é afetado por fatores que podem atuar separadamente, inter-relacionados direta ou indiretamente (LOPES et alii, 1983). Fatores como: disponibilidade de

nutrientes (MOSSE, 1973b), pH (SKIPPER e SMITH, 1979; DANIELS e TRAPPE, 1980; SIQUEIRA et alii, 1982), umidade (DANIELS e TRAPPE, 1980; BETHLENFALVAY et alii, 1987; PAULA e SIQUEIRA, 1987c), aeração (SAIF, 1981), temperatura (SCHENK e SMITH, 1982), intensidade de luz e fotoperíodo (FERGUSON e MENGE, 1982; BETHLENFALVAY e PACOVSKY, 1983), fatores da própria planta como grau de dependência, variedade, estado nutricional (SIQUEIRA, 1986), entre outros, afetam o estabelecimento, o funcionamento e a multiplicação das MVA. Isto implica em que a combinação ótima entre estes componentes do sistema deve ser estudada a fim de possibilitar o manejo desta associação.

A disponibilidade de P no solo constitui o mais importante fator edáfico que afeta as MVA, pois ao mesmo tempo que a maior absorção deste elemento é o principal mecanismo de resposta das plantas à micorrização, ele exerce um efeito controlador sobre o grau de colonização das raízes pelo fungo (SIQUEIRA, 1986). Em condições subótimas de P, a taxa de colonização é alta e a planta tem grande benefícios da micorrização. Por outro lado, condições de níveis muito baixos ou altos de P no meio, a micorrização pode provocar redução no crescimento, conferindo à simbiose natureza parasítica. Segundo MIRANDA (1982), a efetividade da associação endomicorrízica estaria vinculada a um teor mínimo de disponibilidade de fósforo no solo.

Quanto ao efeito do P sobre a colonização, não se conhece o exato mecanismo. A concentração de P disponível no meio, não se tem mostrado como um fator inibidor da germinação de esporos "in vitro" (SIQUEIRA et alii, 1984) e no solo (DANIELS e TRAPPE, 1980). MOSSE (1973b) sugeriu inicialmente, que a colonização das raízes era diminuída por altas concentrações de P na célula hospedeira, cuja hipótese foi corroborada por SANDERS (1975) e MENGE et alii (1978), que concluíram que o P no interior da planta inibia a colonização das raízes pelos

fungos MVA. Algumas hipóteses têm sido formuladas para explicar o mecanismo pelo qual o P no interior da planta inibe o processo de formação da associação MVA: WOOLHOUSE (1975), propôs um mecanismo envolvendo as enzimas fosfatases ácidas e lecitinas; RATNAYAKE et alii (1978), relacionando o efeito do P na biossíntese de fosfolipídeos, propôs um mecanismo baseado na permeabilidade das membranas e exsudação de carboidratos e aminoácidos na rizosfera e, mais recentemente, SIQUEIRA et alii (1984) fundamentam-se na estreita relação entre o aumento no suprimento de P e o acúmulo de açúcares na raiz, proporcionando condições desfavoráveis à penetração e crescimento do fungo no córtex, reduzindo a taxa de colonização.

Estudos quantitativos de colonização micorrízica nos sucessivos estádios de desenvolvimento do hospedeiro tem indicado um modelo de 3 fases (OCAMPO, 1980); (a) fase de colonização lenta - causada possivelmente pelo tempo requerido para a germinação dos esporos, crescimento do tubo germinativo e penetração na raiz do hospedeiro (SUTTON, 1973 e SAIF, 1977) e tendo duração de 20 a 30 dias após a realização da inoculação, embora varia segundo a planta hospedeira; (b) fase logarítmica - ocorre um extensivo desenvolvimento da micorriza. Depois de 4 a 8 semanas de crescimento, novos esporos são formados, os quais podem germinar e infectar novas raízes, causando portanto, a colonização rápida que caracteriza esta fase (SUTTON, 1973; SAIF, 1977) e, (c) fase de estabilização - ocorre a partir de 30 a 60 dias da inoculação e varia segundo a planta hospedeira. Esta estabilização deve-se, possivelmente, a mudanças fisiológicas produzidas nas raízes do hospedeiro, normalmente relacionadas com o crescimento dos órgãos reprodutivos do mesmo, que podem restringir direta ou indiretamente o crescimento do endófito e prevenir novas infecções (SUTTON, 1973; SAIF, 1977). Segundo estes autores, em algumas plantas não se tem en

contrado esta fase.

Este modelo tem sido observado para condições controladas e de campo, embora nesta última, a intensidade de infecção é menor e o desenvolvimento das 3 fases é mais variado, devido à influência de fatores mais diversificados (OCAMPO, 1980).

A soja, está entre as muitas espécies de plantas que respondem positivamente à colonização por fungos MVA (GERDEMANN, 1968; MOSSE, 1973a), surgindo portanto, como uma alternativa para aumentar a eficiência das adubações e elevar a produtividade da cultura em solos de baixa fertilidade. O efeito da micorriza mais acentuado sobre a soja é no aumento da absorção de P, o que permite um uso mais racional e eficiente de fertilizantes fosfatados, em solos deficientes e com alta capacidade de fixação de P. (SIQUEIRA e PAULA, 1986).

Nos solos tropicais, a deficiência de N é tão importante quanto a deficiência de P, como um fator limitante ao crescimento das plantas. O P é, provavelmente, o mais importante nutriente para o crescimento e efetiva nodulação das leguminosas e tem sido demonstrado que a fixação de N_2 pelo rizóbio, tem um alto requerimento de energia na forma de ATP (SHANMUGAM et alii, 1978). Os fungos MVA, que são comuns em leguminosas, aumentam a absorção de P, sendo portanto, de grande interesse o possível uso da associação tríplice leguminosa-rizóbio-MVA, como um meio de aumentar a produtividade das leguminosas (BAREA e AZCÓN-AGUILAR,

Parece que a absorção de N do solo pelas hifas dos fungos MVA não seja suficiente para atender as exigências das plantas (AMES et alii, 1983). Em um solo pobre em N, CARLING et alii (1978) utilizando plantas de soja não nodulantes, colonizadas por fungo MVA, verificaram sintomas evidentes

de carência deste nutriente, bem como baixas concentrações nos tecidos, o que não foi observado nas plantas nodulantes. Mas, nestas últimas, quando o fungo MVA foi substituído por P, o mesmo desenvolvimento foi obtido, donde concluíram que as MVA não têm efeito significativo na absorção de N do solo e nem efeito direto sobre o rizóbio e sim, indiretamente sobre a fixação de N_2 devido a maior absorção de P.

Diversos são os trabalhos encontrados na literatura que demonstraram o efeito benéfico da micorrização sobre a fixação de N_2 pelo rizóbio em soja, sob condições controladas (CARLING et alii, 1978; ASIMI et alii, 1980; BETHLENFALVAY e YODER, 1981; CARDOSO, 1985 e 1986a; PAULA e SIQUEIRA, 1987a,b e PAULA et alii, 1988 entre outros), e no campo (BAGYARAJ et alii, 1979; ROSS e HARPER, 1970; CANRY et alii, 1982), nos quais foram avaliados parâmetros tais como, nodulação, atividade da nitrogenase e N fixado. Os maiores efeitos dos fungos MVA sobre estes parâmetros, são verificados em condições subótimas de P no solo, portanto, acompanhando o grau de colonização. Em níveis extremos de P disponível, este efeito torna-se desprezível. ASIMI et alii (1980), verificaram em um solo limo-argiloso, originalmente com 56 ppm de P disponível (Olsen), que a aplicação de 57 ppm P (KH_2PO_4) eliminava o efeito do fungo MVA *Glomus mosseae* sobre o crescimento da soja, enquanto que o efeito sobre a nodulação e atividade da nitrogenase foram eliminados com a aplicação de 114 e 228 ppm de P, respectivamente, ocorrendo nestas doses, progressivamente, redução da colonização.

A interação entre o rizóbio e os fungos MVA, não está esclarecida, embora, a melhor nutrição fosfatada da planta deve ser responsável por boa parte dos resultados obtidos, principalmente, pelo aumento da nodulação e fixação do N_2 . Entretanto, segundo SMITH et alii (1979), o aumento da absorção

de micronutrientes como o Zn, Cu e Mo pelos fungos MVA, pode também influenciar estes parâmetros.

Ainda permanecem dúvidas se os fungos MVA apresentam algum efeito fisiológico direto sobre o rizóbio, no processo de nodulação e na fixação do N_2 . No processo de infecção parece que ambos ocorrem simultaneamente, não havendo competição por sítios de infecção (SMITH e BOWEN, 1979). Usualmente, os tecidos dos nódulos não são colonizados pelas MVA (CRUSH, 1974; SMITH et alii, 1979), embora a produção de vesículas e esporos no interior dos nódulos de feijoeiro foi relatado por Kucey et alii (1985) e em nódulos de trevo por Lin, ambos citados por CARDOSO (1986b).

Embora a principal razão para a interação entre fungos MVA e rizóbio tenha uma base nutricional, outros efeitos secundários, não nutricionais, tem sido sugeridos (BAREA e AZCÓN-AGUILAR, 1983) como: produção de compostos que aumentam a permeabilidade celular, facilitando a infecção dos microssimbiontes e, produção de reguladores de crescimento que podem promover mudanças fisiológicas e morfológicas no hospedeiro, que favoreceriam o estabelecimento da simbiose.

Os fungos MVA apresentam um potencial para aumentar a eficiência da simbiose leguminosa-rizóbio (CRUSH, 1974), necessitando melhor entendimento dos fatores ambientais e bióticos que favoreçam o crescimento micotrófico, para tornar o uso de ambos uma prática agronômica viável.

O efeito da micorriza sobre a absorção e utilização dos outros nutrientes em soja, além do P e N, tem mostrado resultados bastante variados. Esta avaliação tem sido feita através de suas concentrações e quantidade total acumulada nos tecidos da planta. A absorção de nutrientes e o crescimento da planta são dinamicamente relacionados e as taxas destes podem

ou não ser completamente coordenadas. Um exemplo de diferentes taxas é o "efeito de diluição" (JARREL e BEVERLY, 1981), o qual é o resultado de um crescimento mais rápido que a absorção dos nutrientes. As plantas micorrizadas podem conter quantidades totais de nutrientes mais altas do que as não micorrizadas, devido a sua maior biomassa em resposta a maior absorção de P, por exemplo, enquanto a concentração dos outros nutrientes pode diminuir, devido ao efeito de diluição. Inversamente, uma grande absorção de um nutriente com um crescimento não proporcional da planta, impedida por um outro fator, deficiência de outro nutriente, por exemplo, pode promover a concentração do elemento no tecido.

Para demonstrar de maneira inequívoca, o efeito da micorriza na absorção de um determinado nutriente, os outros devem estar em níveis não limitantes. Como se sabe, o P em níveis adequados ao desenvolvimento da planta, afeta a formação e a efetividade da simbiose (SIQUEIRA et alii, 1984). Em soja, de maneira geral, tem-se observado que tanto o crescimento, quanto a concentração dos nutrientes no tecido, tem convergido para um mesmo ponto, com o aumento das doses de P aplicadas, possivelmente, devido à supressão na formação da micorriza no mesmo sentido. Este fato tem sido verificado para o Cu e para o Zn, como comentado por LAMBERT et alii (1979).

Como evidenciado pela revisão da literatura, a micorrização da soja melhora o seu estado nutricional, principalmente em relação ao P e, indiretamente através deste, a fixação do N₂ pelo rizóbio. Esta melhor nutrição da soja, conferida pela MVA, reflete diretamente sobre o crescimento e a produção da cultura. Tal como acontece com a colonização e com a nutrição da planta, os maiores benefícios dos fungos MVA sobre o crescimento e produção, são verificados nas condições subótimas de P no solo. O delicado equilíbrio entre a disponibili-

dade de P, a formação de MVA e a resposta da planta, é ilustrada nos resultados da inoculação com *Glomus fasciculatum*, em soja crescida em 4 níveis de P (BETHLENFALVAY et alii, 1982a, b e 1983). Estes autores verificaram que pode haver redução no crescimento da planta em consequência da presença do fungo MVA nas raízes, quando o nível de P disponível no solo não é o adequado aos simbioses em associação.

No Brasil, foram realizados alguns trabalhos com o objetivo de avaliar o efeito da micorrização no crescimento e produção da soja, sob condições controladas em diferentes solos desinfestados (CARDOSO, 1985 e 1986a; PAULA e SIQUEIRA, 1987a, b e c; FERNANDES et alii, 1987; PEREIRA, 1986, HOSHIKA et alii, 1987; PAULA et alii, 1988), em solo natural (PEREIRA, 1986; CARDOSO, 1986a; PAULA e SIQUEIRA, 1987a; PAULA et alii, 1988; WANG e WANG, 1987) e no campo (MIRANDA, 1982). De maneira geral, os maiores efeitos foram observados nos solos desinfestados e com níveis médios de P disponível. Naqueles não tratados, os resultados dependem do tipo de solo (CARDOSO, 1986a), da cultivar (WANG e WANG, 1987), da espécie do fungo MVA (CARDOSO, 1986a; PEREIRA, 1986 e PAULA et alii, 1988). Em estudo conduzido a campo em solo sob cerrado, MIRANDA (1982) justificou o potencial dos fungos MVA introduzidos, devido à baixa população natural e baixa efetividade dos fungos MVA presentes nestes solos.

Na maioria destes trabalhos, as plantas foram colhidas na fase vegetativa do ciclo da planta e, baseado nos resultados obtidos, foram feitas inferências quanto ao potencial de produção de grãos. Em trabalho cujas colheitas foram realizadas periodicamente até o final do ciclo da planta, PACOVSKY e FULLER (1986), mostraram que um vigoroso desenvolvimento vegetativo inicial da soja micorrizada, não foi um bom parâmetro para predizer a produção final de grãos, mostrando o risco de interpretações de trabalhos conduzidos em pequeno vo-

lume de solo ou experimento de curta duração (BAATH e HAYMAN, 1984). Poucas são as informações sob condições brasileiras, a respeito do efeito da micorrização na nutrição e no crescimento da soja nas diferentes fases do ciclo da planta (HOSHIKA et alii, 1987), bem como, na produção final de grãos (MIRANDA, 1982; CARDOSO, 1985; HOSHIKA et alii, 1987).

Assim, visto que a baixa fertilidade predomina nos solos brasileiros e que os baixos teores de P, N e Zn são fatores extremamente limitantes do potencial produtivo das plantas, associado à grande elevação nos preços dos fertilizantes, espera-se um papel importante das micorrizas para aumentar a eficiência das adubações e a produção das culturas. Para tanto, são necessárias pesquisas direcionadas a viabilização da exploração prática desta simbiose.

No presente trabalho foram testadas as seguintes hipóteses:

(1) Os parâmetros cinéticos de absorção de P são influenciados pela micorrização e pelo estado nutricional;

(2) A inoculação com rizóbio e fungos micorrízicos tem efeitos diferenciados em função da disponibilidade de P no meio de crescimento.

3. MATERIAL E MÉTODOS

Este estudo foi dividido em 2 experimentos conforme a seguir:

3.1. EXPERIMENTO 1: CINÉTICA DA ABSORÇÃO DE FOSFATO

Este experimento teve como objetivo avaliar o efeito da micorriza nos parâmetros cinéticos (K_m , $V_{m\acute{a}x}$ e $C_{m\grave{i}n}$) de absorção de fosfato pela soja. Tornou-se necessário a realização de uma série de ensaios preliminares, devido pouca informação existente na literatura. Assim, diversos ensaios foram realizados com a finalidade de ajustar a metodologia para obtenção das plantas micorrizadas em meio sólido, para posterior trabalho em solução nutritiva, visando definir a composição e manejo da solução nutritiva, substrato e recipiente a ser utilizado. Este experimento constou de duas fases:

3.1.1. Obtenção do material vegetal

Nesta fase, o ensaio foi realizado sob condições de casa-de-vegetação do CENA-Centro de Energia Nuclear na Agricultura, utilizando como recipiente, vasos de cerâmica com capacidade para 2 litros. Estes foram impermeabilizados com "Neutrol" e revestidos internamente com um saco plástico transparente de igual diâmetro, com a finalidade de facilitar a transferência das plantas cultivadas na areia para a solução nutritiva, com o menor dano possível às raízes. No orifício existen

te no fundo do vaso, ligado ao saco plástico, adaptou-se uma rolha de borracha furada, ligada a uma fina mangueira plástica, permitindo, assim, a drenagem livre do excesso de água de irrigação ou de solução nutritiva. Os detalhes da montagem dos vasos utilizados, são mostrados na Figura 1.

Como substrato utilizou-se areia grossa, que após peneiramento em malha de 2 mm, foi colocada por uma semana em uma solução de HCl 5%. O excesso de ácido foi eliminado através de lavagens com água de torneira e, após, colocada em uma solução de NaOH 5% durante uma semana. Foram realizadas lavagens sucessivas com água de torneira e, finalmente, com água destilada.

O inóculo do fungo, obtido em vasos de multiplicação com milho em substrato esterilizado, constou de 50 g do inóculo, composto de solo, raízes, hifas e cerca de 1.850 esporos, que foi misturado à areia logo abaixo a superfície do vaso (Figura 1). Os tratamentos não inoculados com o fungo MVA, da mesma maneira, receberam 50 g do inóculo, porém autoclavado, e 10 ml/vaso de um filtrado a fim de repor a microbiota do inóculo natural.

A planta utilizada foi a soja [*Glycine max* L. (Merril) cv. Viçoja], cujas sementes foram obtidas no banco de germoplasma da Seção de Leguminosas do IAC, Campinas, SP.

A espécie de fungo micorrízico utilizada foi a *Glomus macrocarpum* Tul. e Tul. var. *macrocarpum* obtida na Seção de Microbiologia do Solo do Departamento de Solos, Geologia e Fertilizantes da ESALQ, mantida e multiplicada em vasos com solo esterilizado e cultivados com milho, cujo substrato foi utilizado para a obtenção do inóculo.

A escolha da cultivar de soja e da espécie de fungo foi baseada em resultados obtidos por CARDOSO (1984), que utilizou a cultivar Viçoja, com diversas espécies de fungos mi

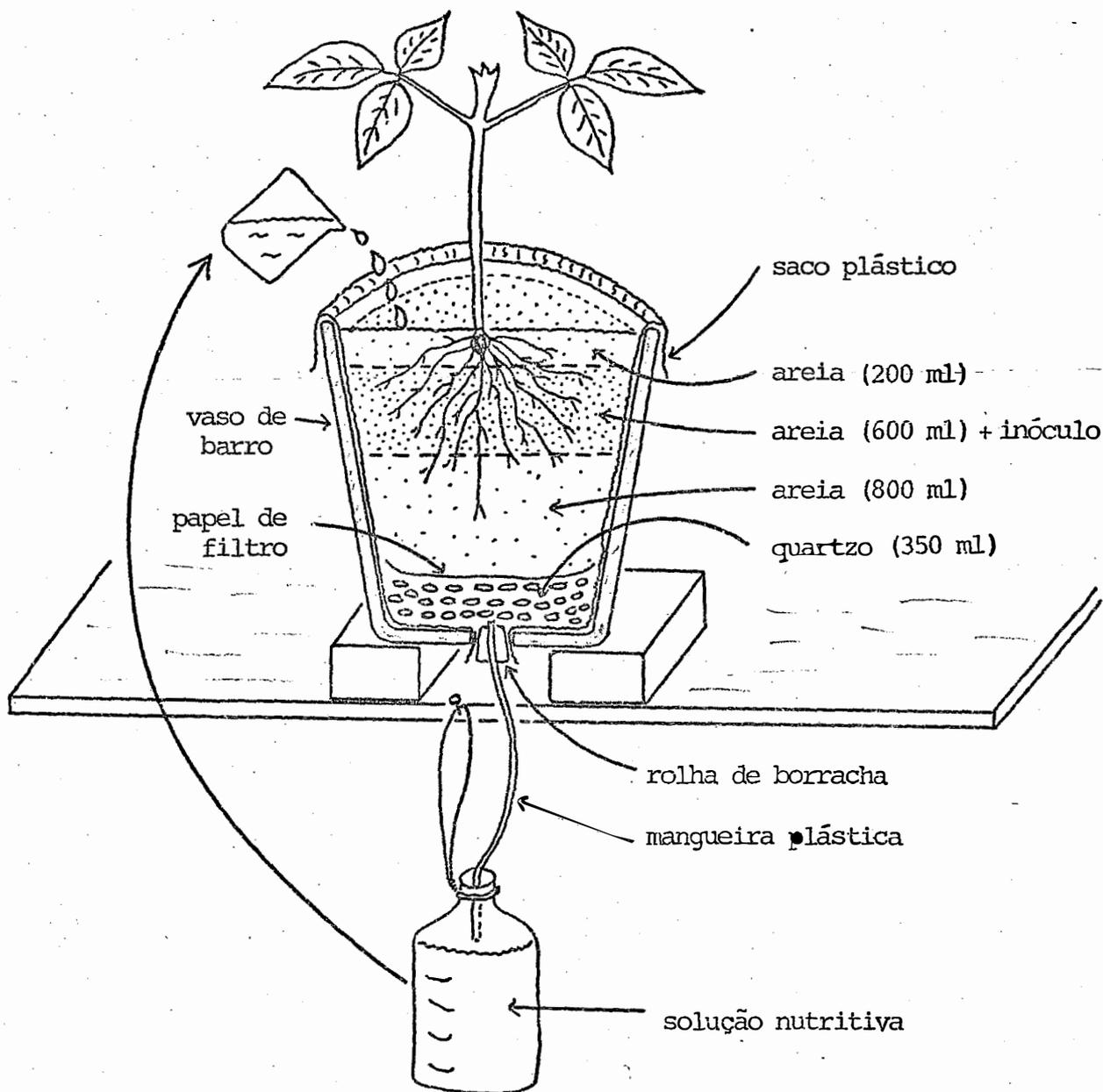


Figura 1 - Detalhes do sistema utilizado para obtenção de plantas micorrizadas em areia.

corrízicos, sendo que a *G. macrocarpum* foi a que melhor se comportou em todos os parâmetros analisados nos diversos tipos de solo utilizados.

As sementes foram desinfestadas por imersão por 5 minutos em solução de água sanitária 10% e lavadas sucessivamente com água destilada. Para inoculação, elas foram imersas por 10 minutos em suspensão de *Bradyrhizobium japonicum* (CPAC-93, SEMIA-587 e SEMIA-5061, obtidas na Seção de Microbiologia do Solo do Departamento de Solos, Geologia e Fertilizantes da ESALQ), aplicando-se ainda 10 ml/vaso da suspensão sobre as sementes, logo após o plantio. Foram semeadas 5 sementes por vaso, desbastando-se para uma planta, 7 dias após a germinação.

Os tratamentos foram arranjados em esquema fatorial 3x2, com 8 repetições sendo: 3 níveis de nutrição, correspondendo às concentrações dos nutrientes na solução nutritiva aplicada à areia dos vasos [1/5; 2/5 e 3/5 da solução nº 2 de HOAGLAND e ARNON (1950) modificada (Tabela 1)]; na presença (M) e ausência (NM) de fungo micorrízico. Os vasos inoculados com fungo micorrízico, foram mantidos em mesa separada dos não inoculados, para evitar contaminação.

A aplicação das soluções nutritivas aos vasos, seguiu o seguinte esquema:

. desde o plantio, até o 13º dia após a germinação, aplicação apenas de água desmineralizada, de acordo com a necessidade, evitando-se o excesso;

. 14º dia - 200 ml/vaso da solução nutritiva correspondente, com drenagem livre do excesso para o frasco (Figura 1);

. do 17º ao 37º dia de cultivo, a cada intervalo de dois dias, aplicou-se 200 ml/vaso, tal como no 14º dia;

. no 23º e 31º dias, antes da aplicação da solução nutritiva, adicionou-se 400 ml/vaso de água desmineralizada, com

Tabela 1 - Concentrações dos nutrientes usados nas soluções nutritivas aplicadas aos vasos com areia e de adaptação, antes do ensaio de cinética.

Nutrientes	Completa ^{1/}	Diluições da completa ^{2/}		
		1/5	2/5	3/5
----- ppm -----				
N	140	28,0	56,0	84,0
P	31	1,0 ^{3/}	12,4	18,6
K	117	23,4	46,8	70,2
Ca	120	24,0	48,0	72,0
Mg	24,3	4,86	9,72	14,58
S	32	6,4	12,8	19,2
B	0,5	0,1	0,2	0,3
Cu	0,02	0,004	0,008	0,012
Fe	5,0	1,0	2,0	3,0
Mn	0,5	0,1	0,2	0,3
Mo	0,01	0,002	0,004	0,006
Zn	0,05	0,01	0,02	0,03
Co	-	1,0 ^{4/}	1,0 ^{4/}	1,0 ^{4/}

^{1/} Solução nº 2 de HOAGLAND e ARNON (1950), modificada para N, K, Ca, Mg e S;

^{2/} As diluições de 1/5, 2/5 e 3/5 da solução completa, correspondem aos níveis de nutrição 1, 2 e 3, respectivamente;

^{3/} Não corresponde a 1/5, mas sim 1/31 da solução completa;

^{4/} Partes por bilhão (ppb).

drenagem livre, com o objetivo de eliminar o possível acúmulo de sais na areia do vaso;

.. 40º dia - transferência de 4 repetições para solução nutritiva correspondente e colheita das 4 repetições restantes.

Observações:

. nos intervalos entre as aplicações de solução nutritiva, água desmineralizada era aplicada de acordo com a necessidade, evitando-se o excesso;

. antes de cada aplicação, o volume do frasco de solução nutritiva era completado a 1 litro, com água desmineralizada;

. no 23º e 31º dias, as soluções nutritivas dos frascos foram trocadas;

. o pH inicial das soluções foi ajustado a 5,5 com NaOH 0,5 N ou HCl 0,5 N.

Aos 40 dias após a germinação, as plantas foram cuidadosamente retiradas dos vasos, através dos sacos plásticos. Estes, eram cortados lateralmente com uma lâmina e eliminados, e o excesso de areia das raízes foi cuidadosamente retirado, mergulhando-se o sistema radicular em uma bandeja contendo 30 litros de água.

Das 8 repetições de cada tratamento, 4 foram selecionadas pela uniformidade e colocadas em vasos de 3 litros, contendo a solução nutritiva correspondente, com aeração constante e o pH ajustado a 5,5, onde permaneceram por uma semana em adaptação, antes do ensaio de cinética de absorção de fosfato. Das 4 repetições restantes, amostras das raízes foram obtidas para a determinação da percentagem de colonização pelos fungos micorrízicos, sendo as amostras clarificadas e coradas,

conforme técnica descrita por PHILLIPS e HAYMAN (1970), com corante azul de tripano, seguido da determinação da infecção pe-
lo método descrito por GIOVANETTI e MOSSE (1980).

3.1.2. Determinação dos parâmetros cinéticos

Após o período de adaptação das plantas em solu-
ção nutritiva, das 4 repetições de cada tratamento, 3 foram se-
leccionadas pela uniformidade e levadas para condições de labo-
ratório, para a realização do ensaio de cinética, formando um
fatorial 3x2 com 3 repetições, tal como comentado no item 3.1.1,
totalizando 18 vasos. Exatamente a 40 horas do início do en-
saio de absorção de ^{32}P , ainda na casa-de-vegetação, as plan-
tas foram transferidas para vasos com a solução nutritiva deno-
minada de solução de absorção (Tabela 2), mas, com a omissão
do P. A exclusão do P desta solução, visa aumentar a capacida-
de das raízes em absorver este nutriente (Jungk, 1975, citado
por VALE, 1982). Decorrido este tempo, agora no laboratório,
as plantas foram transferidas para vasos contendo solução de i-
dêntica composição, mas com $15\ \mu\text{M}$ de ^{31}P (Tabela 2), por um pe-
ríodo de uma hora. Com isso, objetivou-se alcançar o equilí-
brio estacionário de absorção de fosfato, requerido para a a-
plicação do modelo cinético (EPSTEIN e HAGEN, 1952).

Após este período, teve início o estudo da ciné-
tica de absorção, com a transferência das plantas para vasos
com a solução de absorção (Tabela 2), agora na presença do ^{32}P .
O volume dos vasos das plantas do nível de nutrição 1, foi de
1,5 litros e dos níveis de nutrição 2 e 3 foi de 3,0 litros, mar-
cados com 84,5 e 169 μCi de ^{32}P /vaso, respectivamente, com
 $\text{NaH}_2\ ^{32}\text{PO}_4$ livre de carregador. Após a adição do radiofósforo,
a solução foi agitada fortemente com um bastão de vidro, garan

Tabela 2 - Concentrações dos nutrientes^{1/} usados na solução nutritiva de absorção de fosfato.

Nutriente	Concentração (ppm)
N	14,0
P	0,465 ^{2/}
K	11,7
Ca	12,0
Mg	2,43
S	3,2
B	0,25
Cu	0,01
Fe	ausente
Mn	0,25
Mo	0,005
Zn	0,025

^{1/} diluição a 1/10 e 1/2, para os macro e micronutrientes, respectivamente, da solução completa da Tabela 1, à exceção do P.

^{2/} 0,465 ppm P = 15 µMP.

tindo assim, perfeita homogeneização dos isótopos. O volume dos vasos foram diferentes, devido ao crescimento diferenciado das plantas, em função do nível de nutrição aplicado. O volume dos vasos, bem como a concentração inicial de P ($15 \mu\text{M}$, Tabela 2), foram determinados através de ensaios preliminares, para se obter a curva característica de exaustão do P da solução nutritiva, num período de 5-8 horas.

O período de absorção do ^{32}P foi de 12 horas, sendo que até a 5ª hora as amostragens, em duplicatas, foram realizadas a cada 0,5 hora e após, em intervalos de 1,0 hora. Em cada amostragem, alíquotas de 1 ml foram tomadas e colocadas em cubetas com 14 ml de água destilada e posteriormente levadas a um espectrômetro beta de cintilação líquida para a determinação da atividade do ^{32}P pelo efeito Cerenkov (NASCIMENTO Fº e LOBÃO, 1977). Pesou-se no início e no final do ensaio, cada conjunto vaso-planta, o que permitiu estimar a quantidade de água perdida por transpiração, para fazer a correção do volume da solução no vaso, em cada tempo de amostragem.

Logo após o ensaio, as plantas foram retiradas dos vasos e as raízes lavadas várias vezes em água corrente e destilada. Após a secagem em papel toalha, as raízes foram separadas da parte aérea e o seu peso fresco obtido.

A temperatura do laboratório durante a realização do ensaio, variou de 29 a 32°C ; a umidade relativa de 50 a 60%, com aproximadamente $150 \mu\text{E}/\text{m}^2 \cdot \text{s}$ de luz ao nível das folhas superiores. O pH da solução de absorção de ^{32}P foi ajustado a 5,0, não sendo corrigido durante o período experimental. O ensaio de cinética iniciou-se aproximadamente 3 horas após do início do período claro e foi mantida aeração constante nos vasos.

Os parâmetros cinéticos de absorção de fosfa-

to (K_m , $V_{m\acute{a}x}$ e $C_{m\acute{i}n}$), foram determinados mediante o esgotamento do P da solução de absorção em função do tempo, segundo a metodologia proposta por CLAASSEN e BARBER (1974), para ensaios com plantas inteiras e baixa concentração do nutriente na solução. A concentração mínima ($C_{m\acute{i}n}$), corresponde a concentração de P da solução, onde o influxo iguala-se ao efluxo, ou seja, o influxo líquido é igual a zero. Portanto, as raízes das plantas não esgotam completamente o P da solução, mas reduzem-no a $C_{m\acute{i}n}$. Assim, devido às evidências da ocorrência do efluxo de P das raízes (ROVIRA, 1969), um novo termo deve ser includido na equação de Michaelis e Menten, para o ajuste do influxo líquido (I), a $C_{m\acute{i}n}$:

$$I = \frac{V_{m\acute{a}x} (C - C_{m\acute{i}n})}{K_m + (C - C_{m\acute{i}n})}$$

Foi assumido ser o efluxo passivo e constante ao longo de um gradiente eletroquímico.

Para o cálculo dos valores de $V_{m\acute{a}x}$ e K_m , utilizaram-se apenas os dados de concentração de P maiores que 1 μM na solução de exaustão. Estes dados experimentais foram ajustados  forma linear da equação de LINEWEAVER e BURK (1934) e os valores de $V_{m\acute{a}x}$ e K_m determinados através de equações de regressão. $C_{m\acute{i}n}$ foi determinada pela média dos valores de concentração de P na solução de exaustão, que apresentaram uma tendência de permanecerem constantes nas amostragens finais do experimento.

Tomando-se por base o peso fresco do sistema radicular, calculou-se o influxo radicular líquido por unidade de raiz ($\mu\text{moles P. g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$) e por planta ($\mu\text{moles P. planta}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$).

3.2. EXPERIMENTO 2: NUTRIÇÃO, CRESCIMENTO E PRODUÇÃO

Este experimento teve como objetivos, verificar o efeito da micorriza na nutrição mineral e no crescimento da soja em diferentes fases do ciclo, na produção de grãos, bem como na fixação biológica do N_2 atmosférico pelo rizóbio, em função das doses de P aplicadas ao solo, possibilitando assim, a determinação do P disponível no meio que permite a máxima eficiência da associação.

Foi utilizado um Latossolo Vermelho Escuro, franco-argilo-arenoso, de baixa fertilidade, do município de Piracicaba, SP. Uma porção de terra suficiente foi coletada da camada superficial de 0 a 20 cm, tomando-se o cuidado de limpar a superfície do terreno. Após seca ao ar, foi peneirada em malha de 4 mm, esterilizada em autoclave com vapor fluente por duas horas, à 121°C. Uma amostra desta porção de terra foi retirada para análises químicas e físicas (Tabela 3, amostra 1).

O substrato em que as plantas foram conduzidas, constou de uma mistura de solo: areia grossa de construção, na proporção de 3:1 na base de peso seco ao ar, ambos esterilizados em autoclave. A mistura de areia teve como finalidade facilitar a remoção das raízes na época de colheita das plantas. Ressalta-se que a areia, antes da esterilização foi tratada com ácido clorídrico a 5% e lavada várias vezes em água até a eliminação do ácido. Após a homogeneização, uma amostra da mistura foi tomada para análises químicas e físicas (Tabela 3, amostra 2).

A calagem foi realizada com base na análise química da mistura solo-areia (amostra 2), para elevar a saturação de bases a 70% da CTC (RAIJ et alii, 1985), utilizando-se um calcário comercial concentrado, micropulverizado com PRNT aproximadamente de 130%. A dose calculada foi aplicada ao subs-

Tabela 3 - Composição física e química dos substratos utilizados no cultivo da soja*.

Amostras**	Análise granulométrica				Análise química						
	Areia	Silte	Argila	pH CaCl ₂	M.O. (%)	P (resina)	K ⁺	Ca ²⁺	Mg ²⁺	H ⁺ +Al ³⁺	
	-----				µg/cm ³ ----- meq/100 cm ³ -----						
(1)	62,2	15,8	22,0	5,0	3,16	3,3	0,20	2,40	0,72	2,77	
(2)	72,0	10,3	17,7	4,9	2,79	5,4	0,17	2,08	0,69	2,77	
(3)	72,0	10,3	17,7	5,3	2,33	4,2	0,18	2,86	1,41	2,25	
(4)	72,0	10,3	17,7	5,5	2,42	6,3	0,19	3,24	1,59	2,02	
(5)	72,0	10,3	17,7	5,7	2,33	17,9	0,15	2,94	1,37	1,82	
(6)	72,0	10,3	17,7	5,8	2,51	32,9	0,18	3,08	1,41	1,82	

* Análises realizadas no Departamento de Solos, Geologia e Fertilizantes da ESALQ/USP.

- ** (1) Solo puro, autoclavado e sem calagem.
 (2) Solo: areia, 3:1, autoclavados e sem calagem.
 (3) Solo: areia, 3:1, autoclavados - P₀ + calagem.
 (4) Solo: areia, 3:1, autoclavados - P₁₀ + calagem.
 (5) Solo: areia, 3:1, autoclavados - P₃₀ + calagem.
 (6) Solo: areia, 3:1, autoclavados - P₉₀ + calagem.

trato, cuidadosamente homogeneizado e incubado com umidade adequada por 40 dias. Após seco ao ar, foram aplicadas as doses de P correspondentes aos tratamentos e incubados com umidade adequada por mais quinze dias, antes do plantio.

Foram utilizados vasos de cerâmica com capacidade para 3,5 kg de solo, impermeabilizados internamente com "neutrol". Na colocação do substrato, os vasos foram revestidos internamente com um saco plástico transparente das mesmas dimensões, visando facilitar a remoção do substrato na retirada das raízes das plantas.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, distribuído em esquema fatorial 4x2x5, com 4 repetições, sendo 4 níveis de P aplicado [0; 10; 30 e 90 ppm de P, na forma de fosfato monocálcico p.a., $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$, denominados de P_0 , P_{10} , P_{30} e P_{90} , respectivamente]; na presença (M) e ausência (NM) de fungo micorrízico *Glomus macrocarpum* (Tabela 4) e, 5 épocas de colheita [20; 40; 60 e 80 dias após a germinação e no final do ciclo (E_1 ; E_2 ; E_3 ; E_4 e E_5 , respectivamente)]. O ensaio constou de um total de 160 vasos, sendo colhidos 32 vasos em cada época.

As análises químicas do substrato utilizado, após a calagem e a aplicação das doses de P, encontram-se na Tabela 3 (amostras 3, 4, 5 e 6).

Utilizaram-se a cultivar Viçoja e o fungo micorrízico *G. macrocarpum*, como no experimento anterior. Da mesma maneira, as sementes foram desinfestadas e inoculadas com a suspensão de estirpes de rizobio, estando prontas para o plantio. A semeadura foi realizada plantando-se 7 sementes por vaso, desbastando-se para 2 plantas 5 dias após a germinação.

Tabela 4 - Tratamentos envolvendo doses de P e inoculação com fungo micorrízico.

Nº	Dose P (ppm)	Micorriza ^{1/}	Símbolos
1	0	M	P ₀ - M
2	0	NM	P ₀ - NM
3	10	M	P ₁₀ - M
4	10	NM	P ₁₀ - NM
5	30	M	P ₃₀ - M
6	30	NM	P ₃₀ - NM
7	90	M	P ₉₀ - M
8	90	NM	P ₉₀ - NM

^{1/} M - inoculado com fungo micorrízico.

NM - não inoculado.

A inoculação com fungo micorrízico, foi realizada na semeadura, aplicando-se sobre as sementes, aproximadamente 800 esporos de fungo por vaso, em 10 ml de água. Os esporos foram obtidos pela técnica de decantação e peneiramento (GERDEMANN e NICOLSON, 1963), de inóculo proveniente de vasos-estoque para multiplicação do fungo em milho. Todos os tratamentos receberam 10 ml de um filtrado de suspensão do solo inóculo, isento de propágulos do fungo, visando fornecer a mesma microbiota existente no inóculo. Imediatamente após o plantio, 10 ml da suspensão de estirpes de rizóbio foram aplicados por vaso em todos os tratamentos, com uma aplicação suplementar na época do desbaste.

Os vasos foram mantidos em casa-de-vegetação no

CENA, fazendo-se irrigações diárias com água destilada conforme a necessidade.

Os tratamentos não receberam adubação nitrogenada, visto que foram inoculados com uma suspensão de estirpes de *Bradyrhizobium japonicum* eficientes para soja (CPAC-93; SEMIA-587 e SEMIA-5061), como no experimento anterior. A adubação básica correspondeu ao seguinte: o K e o S foram fornecidos na forma de K_2SO_4 , equivalente a 150 ppm de K e 60 ppm de S, aplicados em solução nutritiva em 3 parcelamentos, sendo 1/3 no desbaste das plantas (5 dias após a germinação), 1/3, 18 dias após a germinação e 1/3 restante 42 dias após a germinação. Os micronutrientes, também sob a forma de solução nutritiva, foram aplicados na época do desbaste, nas quantidades de: B - 0,25 ppm (H_3BO_3); Cu - 0,75 ppm ($CuSO_4 \cdot 5 H_2O$); Mn - 1,5 ppm ($MnCl_2 \cdot 4 H_2O$); Mo - 0,05 ppm ($H_2MoO_4 \cdot H_2O$) e Zn - 2,5 ppm ($ZnSO_4 \cdot 7 H_2O$), que formaram a solução de micronutrientes. O Fe foi aplicado na forma de Fe-EDTA, na dose de 2,5 ppm ($FeSO_4 \cdot 7 H_2O$).

Um controle de açúcar foi necessário, pulverizando-se as plantas com "Avermectim", na dose de 1 ml de produto por litro de água, protegendo-se a superfície do vaso com o saco plástico.

As plantas colhidas em cada época, foram separadas em raízes, caule + ramos, folhas e vagens (quando presentes), e acondicionadas em sacos de papel devidamente identificados, levadas à estufa com circulação forçada de ar a 65-70°C, até peso constante, obtendo-se em seguida, o peso da matéria seca de cada parte. Com estes dados obteve-se a marcha de acumulação de matéria seca das plantas, para todos os tratamentos. A matéria seca de cada parte foi moída em moinho tipo Willey, provido de peneira de aço inoxidável com 20 malhas por polegada (0,42 mm). A concentração de N foi determinada pelo método de

Kjeldhal conforme SARRUGE e HAAG (1974). Os teores de P, K, S, Cu e Zn nos tecidos, foram determinados através da digestão nitroperclórica (SARRUGE e HAAG, 1974) e a concentração no extrato, como se segue: P - colorimetria; K - fotometria de chama; S - turbidimetria; Cu e Zn - espectrofotometria de absorção atômica.

A quantidade dos nutrientes acumulada nos tecidos de cada parte da planta, foi calculada com base no teor destes no tecido e a produção de matéria seca. A quantidade total acumulada pela planta, através da soma da acumulação em cada parte.

A fixação do N_2 foi avaliada pela concentração e quantidade de N nas partes das plantas em cada época de colheita; número e peso dos nódulos e atividade da nitrogenase (Nase) aos 60 dias de idade da planta. Para a determinação da atividade da Nase pela técnica da redução do C_2H_2 (acetileno), as plantas colhidas entre 9 e 10 h da manhã, tiveram as raízes separadas da parte aérea e foram colocadas em frascos de vidro de 1.000 ml e fechados hermeticamente. Após a retirada de 10% da atmosfera do vidro, injetou-se a mesma quantidade de C_2H_2 . Incubou-se por 1 hora, quando amostras de 1 cm^3 foram retiradas com seringas plásticas descartáveis. Injetou-se 0,5 cm^3 em cromatógrafo a gás Beckman GC-65, com gás de arraste N_2 , contendo Porapak N (80 - 100 mesh), operada a $50^\circ C$, para a determinação do C_2H_4 (etileno) produzido. Um padrão de 500 ppm de C_2H_4 foi preparado para determinação do controle, vidros sem raízes e com injeção de C_2H_2 . Os resultados foram expressos em atividade por planta ($\mu\text{moles } C_2H_4 \cdot \text{planta}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$), e atividade específica ($\mu\text{moles } C_2H_4 \cdot \text{g nódulos secos}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$). Esta determinação foi realizada no laboratório de Microbiologia do Solo do CENA, de acordo com SAITO (1978).

Em todas as épocas de colheita, amostras das raízes das plantas foram obtidas para a determinação da porcentagem de colonização pelos fungos micorrízicos, através da metodologia citada no experimento anterior, o que permitiu determinar a dinâmica de colonização das raízes pelo fungo.

Foram realizadas análises de variância dos parâmetros analisados, de acordo com PIMENTEL GOMES (1978).

O efeito da micorriza no crescimento, no teor foliar e na acumulação total de nutrientes, em todas as épocas de colheita; nos parâmetros da fixação biológica do nitrogênio (peso e número de nódulos, atividade da nitrogenase), aos 60 dias de idade e na produção de grãos no final do ciclo da planta, foi determinado através das equações de regressão ajustadas relacionando-se estes parâmetros obtidos para as plantas micorrizadas (M) e não micorrizadas (NM), como variável dependente das doses de P aplicadas. O efeito relativo da micorriza (ERM), em percentagem, na produção de matéria seca total durante o ciclo da planta e para a produção de grãos no final do ciclo, em função das doses de P aplicadas, foi calculado pela fórmula: $ERM = (M - NM) \times 100/NM$. Através das equações de regressão ajustadas entre o ERM e as doses de P, determinou-se a faixa de P aplicado que maximizou o efeito da micorrização para estes parâmetros, bem como, a faixa correspondente de P disponível no substrato pelo método da resina. Também foram estimadas através de equações de regressão ajustadas, as doses de P necessárias para a produção de 90% da produção máxima de grãos para plantas M e NM, bem como, os níveis críticos correspondentes de P no solo.

4. RESULTADOS

4.1. EXPERIMENTO 1: CINÉTICA DE ABSORÇÃO DE FOSFATO

A taxa de colonização micorrízica, determinada nas 4 repetições adicionais de cada tratamento após a retirada das plantas nos vasos com areia, mostrou valores médios de 53, 58 e 64%, para os níveis de nutrição 1, 2 e 3, respectivamente, enquanto as plantas não inoculadas não apresentaram sinais de colonização.

No período de adaptação das plantas compreendido entre a retirada da areia e o experimento de cinética, observou-se uma grande emissão de raízes novas, sendo que esta foi maior nas plantas não micorrizadas e crescente com os níveis de nutrição. Dado às dificuldades de determinação, esta proliferação de raízes não foi quantificada, o que pode ter alterado a taxa de colonização micorrízica acima citada.

Observou-se claramente o efeito dos níveis de nutrição e da inoculação com fungo MVA, no crescimento das plantas. Este foi crescente com os níveis de nutrição 1, 2 e 3 utilizados, caracterizando, possivelmente, estados nutricionais baixo, médio e adequado, respectivamente. Como esperado, o efeito da micorrização foi decrescente com o aumento do nível de nutrição: no nível 1, as plantas micorrizadas (M), apresentaram maior crescimento que as não micorrizadas (NM); no nível 2, o efeito foi diminuído e no nível 3, pequenas diferenças foram observadas. Os pesos da matéria seca da parte aérea das repetições adicionais coletadas aos 40 dias, quando as plantas

foram retiradas da areia, foi, em gramas/planta, para os níveis de nutrição 1, 2 e 3, respectivamente, de 2,15; 4,86 e 6,70 para as plantas M e, de 1,28; 4,09 e 6,41 para as plantas NM.

Na Figura 2, é mostrada a exaustão do fósforo avaliada pela diminuição da atividade do ^{32}P da solução, em função do tempo de absorção, o que permitiu calcular os valores do influxo de P nos diferentes tratamentos. Observa-se que o efeito da micorrização na exaustão do P da solução, variou em função do nível de nutrição da planta. No nível de nutrição 1, ou seja, a planta no estado nutricional mais baixo, plantas M exauriram mais rapidamente o P da solução em relação às NM. Esta diferença foi diminuída no nível de nutrição 2 e, no nível 3, nas concentrações de P mais baixas na solução, obteve-se uma inversão das tendências (Figura 2).

Os parâmetros cinéticos de absorção de P (K_m , $V_{m\acute{a}x}$ e $C_{m\acute{i}n}$) foram calculados (Tabela 5), através do ajuste dos valores de influxo (I) versus concentração de P (C), em cada tempo de amostragem, de acordo com a transformação linear da equação de Michaelis-Menten, proposta por LINEWEAVER e BURK (1934), cujas equações de regressão linear, que relacionam $1/I$ e $1/C$, para cada tratamento, são apresentadas na Tabela 6. Verifica-se que os parâmetros cinéticos foram influenciados pelos níveis de nutrição e pela micorrização da soja (Tabela 5). As plantas M do nível de nutrição 1, apresentaram valores de K_m e $V_{m\acute{a}x}$, 28 e 33%, respectivamente, maiores que as plantas NM, com tendência de redução dos valores absolutos, bem como nas diferenças entre as plantas M e NM, com o aumento do nível de nutrição. A $C_{m\acute{i}n}$ foi menor nas plantas M do nível de nutrição 1, com a mesma tendência observada para o K_m e $V_{m\acute{a}x}$, quando se elevou o nível de nutrição da planta.

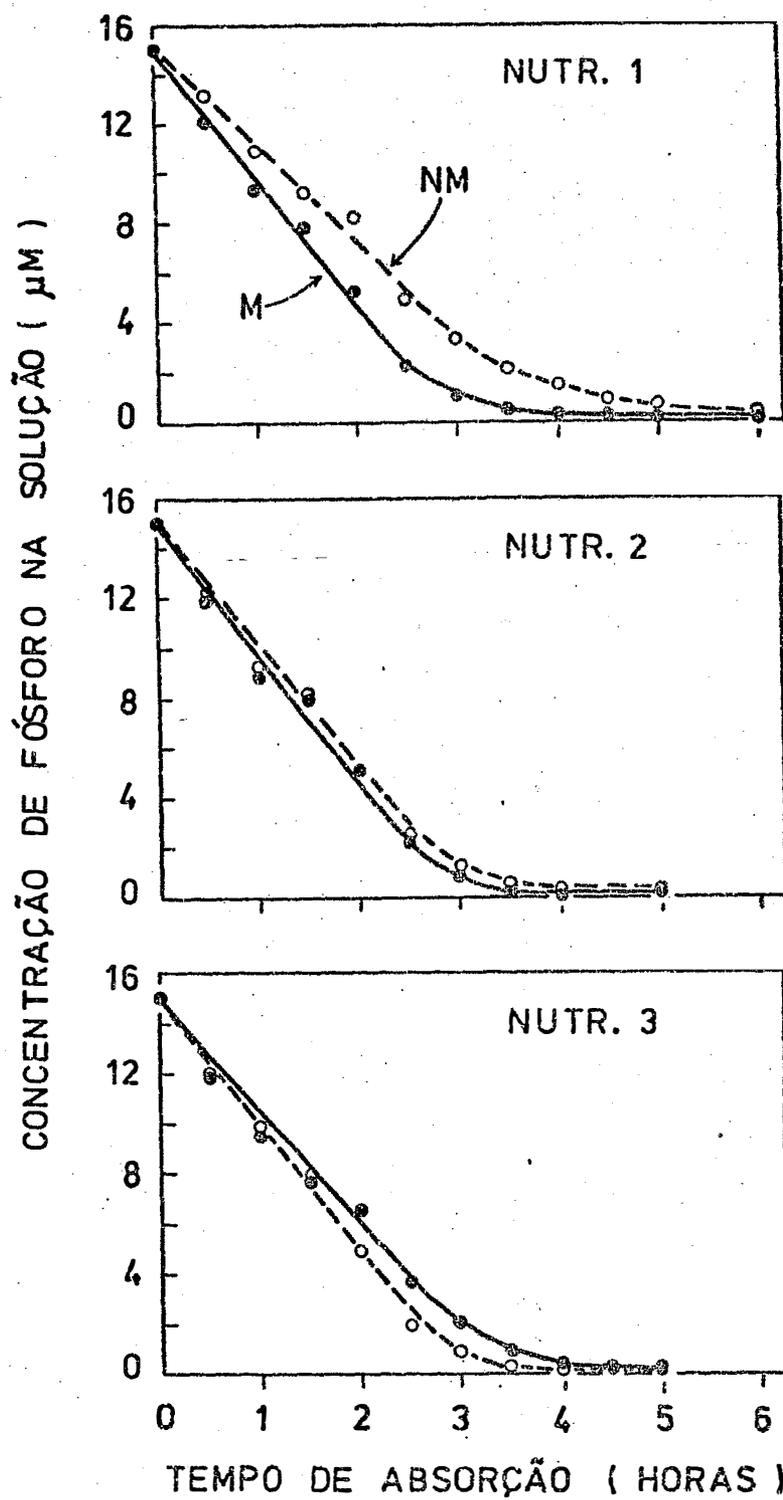


Figura 2 - Exaustão do P da solução pela soja, em função do tempo de absorção, nível de nutrição e micorrização da planta (M - micorrizada; NM - não micorrizada).

Tabela 5 - Parâmetros cinéticos (K_m , $V_{m\max}$ e $C_{m\min}$) de absorção de P pela soja, influenciados pelos níveis de nutrição e micorrização da planta (M - micorrizada; NM - não micorrizada).

Nível de nutrição	K_m		$V_{m\max}$		$C_{m\min}$	
	M	NM	M	NM	M	NM
1	6,70	5,24	1,50	1,13	0,11	0,29
2	4,92	4,29	1,02	0,88	0,08	0,12
3	4,08	3,49	0,76	0,72	0,08	0,07

----- μM ----- $\mu moles \cdot g^{-1} \cdot h^{-1}$ ----- μM -----

Tabela 6 - Equações de regressão dos dados experimentais ajustados à forma linear da equação de Michaelis-Menten, segundo a transformação de LINEWEAVER e BURK (1934).

Nível de nutrição	Micorriza ^{1/}	Equação de ajuste	R ^{2/}
1	M	$1/I = 0,6649 + 4,4571 \cdot 1/C$	0,97**
	NM	$1/I = 0,8867 + 4,6475 \cdot 1/C$	0,91**
2	M	$1/I = 0,9796 + 4,8155 \cdot 1/C$	0,99**
	NM	$1/I = 1,1329 + 4,8598 \cdot 1/C$	0,96**
3	M	$1/I = 1,3166 + 5,3802 \cdot 1/C$	0,93**
	NM	$1/I = 1,3852 + 4,8297 \cdot 1/C$	0,99**

^{1/} M - micorrizada; NM - não micorrizada.

^{2/} ** - Significativo ao nível de 1% de probabilidade.

A micorrização da soja, promoveu maior influxo líquido de P por unidade de raiz fresca ($\mu\text{moles P.g raiz fresca}^{-1} . \text{h}^{-1}$, Figura 3), sendo este efeito decrescente com o nível de nutrição das plantas. A quantificação deste efeito, no intervalo de 1 a 15 μM de P na solução, foi, em média, de 22 e 9% (M/NM, Tabela 7), nas plantas submetidas aos níveis de nutrição 1 e 2, respectivamente. Verifica-se que o maior influxo conferido pelas plantas M, foi acompanhado por menor efluxo de P (Figura 3). Independentemente da micorrização, o influxo de P por unidade de raiz (Figura 3 e Tabela 7) foi decrescente com o aumento do nível nutricional das plantas.

O mesmo efeito foi verificado no influxo líquido de P por planta ($\mu\text{moles P . planta}^{-1} . \text{h}^{-1}$, Figura 4), embora, o efeito foi mais acentuado, sendo em média, de 50 e 20% maior nas plantas M, submetidas aos níveis de nutrição 1 e 2, respectivamente (M/NM, Tabela 8). Ao contrário do observado para o influxo de P por unidade de raiz (Figura 3 e Tabela 7), o influxo de P por planta (Figura 4 e Tabela 8), independentemente da micorrização, foi crescente do nível de nutrição 1, para os níveis de nutrição 2 e 3.

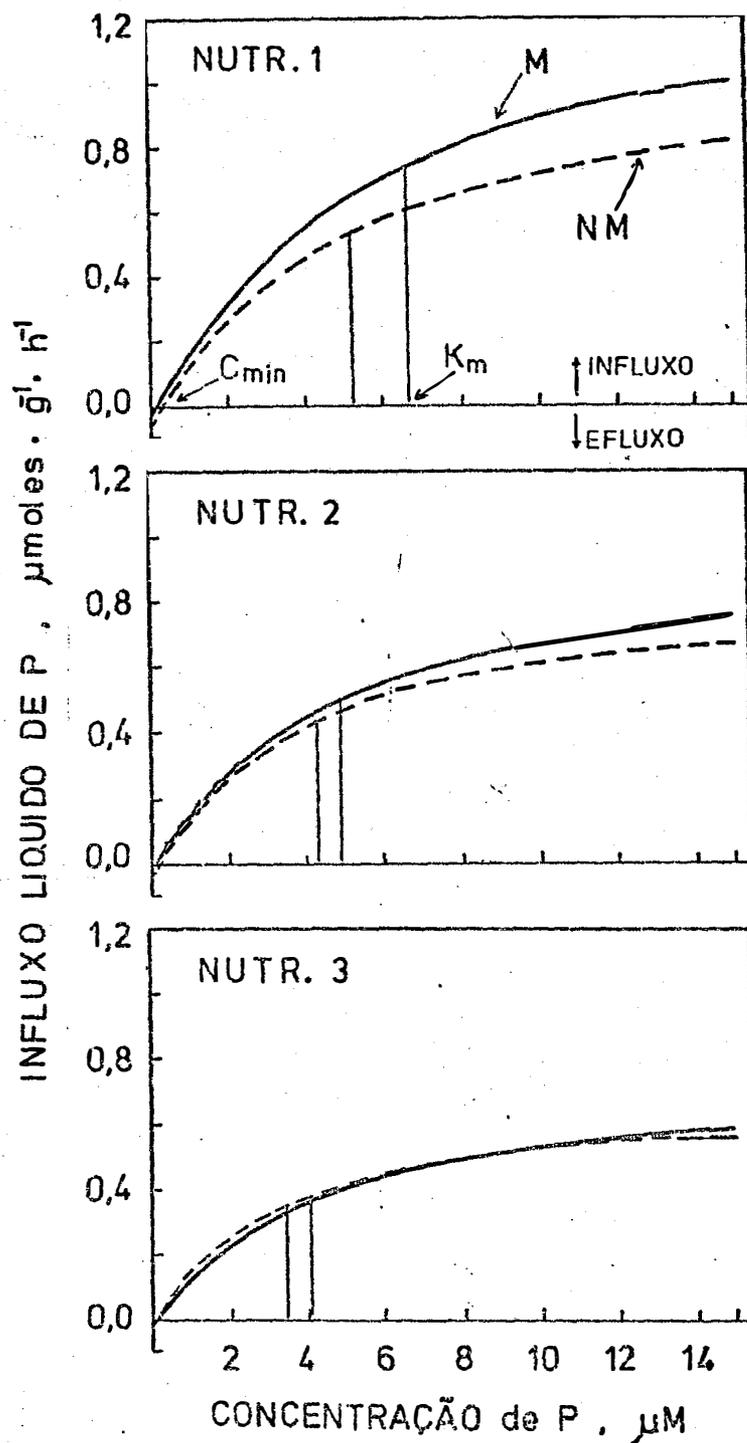


Figura 3 - Influxo líquido de fósforo por unidade de raiz fresca de soja, influenciada pela concentração de P na solução, nível de nutrição e micorrização da planta (M - micorrizada; NM - não micorrizada). Curvas traçadas de acordo com a equação de Michaelis-Menten.

Tabela 7 - Efeito da micorrização da soja (M - micorrizada/NM - não micorrizada), no influxo líquido de P por unidade de raiz fresca, nos três níveis de nutrição utilizados, na faixa de 1 a 15 μM de P na solução.^{1/}

Concentração de P μM	Nível nutrição 1			Nível nutrição 2			Nível nutrição 3		
	M	NM	M/NM	M	NM	M/NM	M	NM	M/NM
	--- $\mu\text{moles P.g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ --- $\mu\text{moles P.g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ --- $\mu\text{moles P.g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ ---								
1	0,18	0,13	1,38	0,16	0,15	1,07	0,14	0,15	0,93
2	0,33	0,28	1,18	0,29	0,27	1,07	0,24	0,26	0,92
3	0,45	0,38	1,18	0,38	0,35	1,09	0,32	0,33	0,97
4	0,55	0,47	1,17	0,45	0,42	1,07	0,37	0,38	0,97
6	0,70	0,59	1,18	0,56	0,51	1,10	0,45	0,45	1,00
8	0,82	0,67	1,22	0,63	0,57	1,10	0,50	0,50	1,00
10	0,90	0,73	1,23	0,68	0,62	1,10	0,54	0,53	1,02
12	0,96	0,78	1,23	0,72	0,65	1,11	0,57	0,56	1,02
15	1,00	0,83	1,20	0,77	0,68	1,13	0,60	0,58	1,03

média M/NM = 1,22

média M/NM = 1,09

média M/NM = 0,98

^{1/} No cálculo do influxo líquido em cada concentração de P, aplicou-se a equação de Michaelis-Menten

$$I = \frac{V_{\text{máx}} (C - C_{\text{min}})}{K_m + (C - C_{\text{min}})}$$

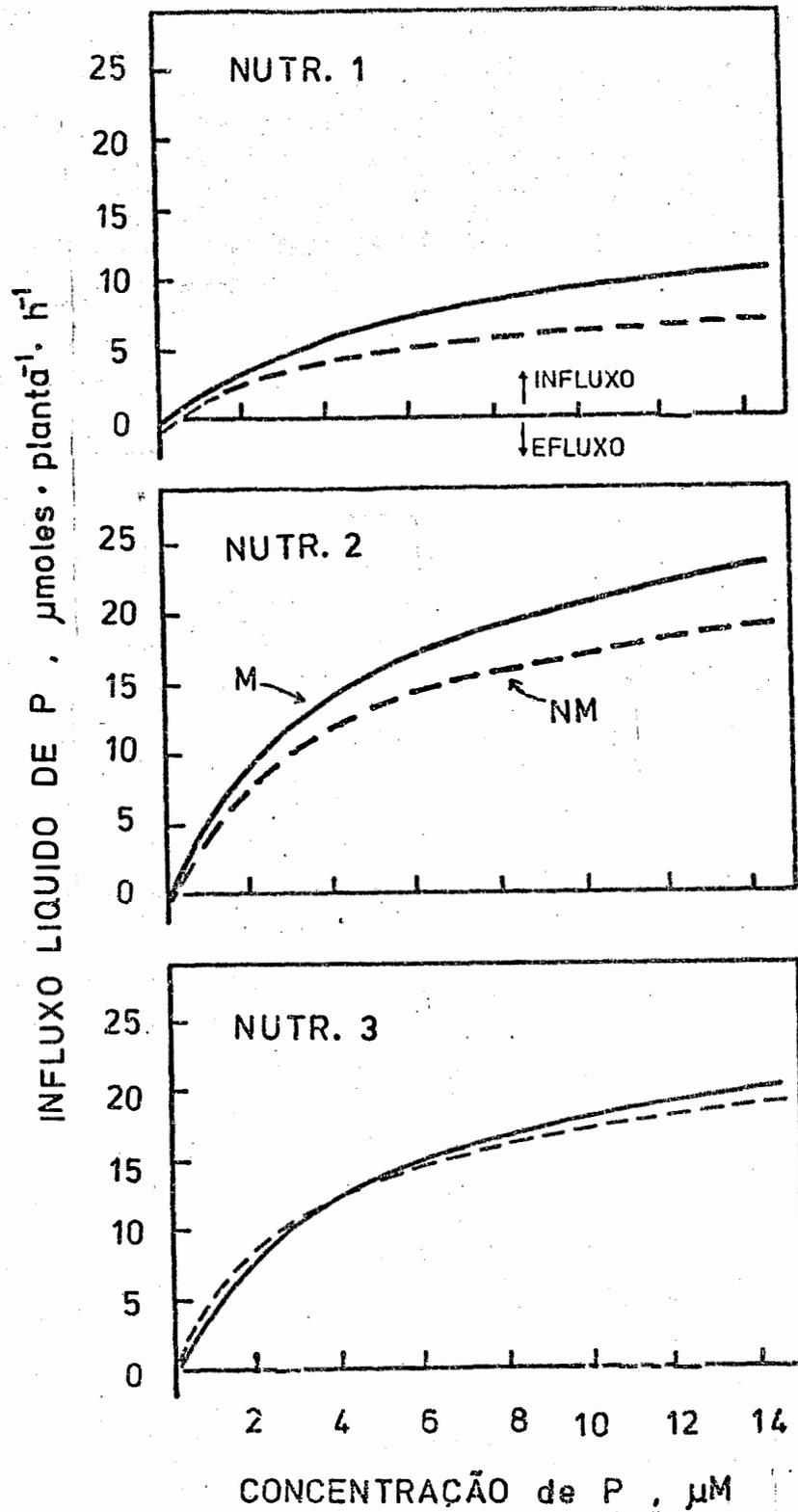


Figura 4 - Influxo líquido de fósforo por planta, influenciado pela concentração de P na solução, nível de nutrição e micorrização da soja (M - micorrizada; NM - não micorrizada). Curvas traçadas de acordo com a equação de Michaelis-Menten.

Tabela 8 - Efeito da micorrização da soja (M - micorrizada/NM - não micorrizada), no influxo líquido de P por planta, nos três níveis de nutrição utilizados, na faixa de 1 a 15 µM de P na solução.

Concentração de P µM	Nível nutrição 1			Nível nutrição 2			Nível nutrição 3		
	M	NM	M/NM	M	NM	M/NM	M	NM	M/NM
	- - µmoles P.pl. ⁻¹ .h ⁻¹ - - µmoles P.pl. ⁻¹ .h ⁻¹ - - µmoles P.pl. ⁻¹ .h ⁻¹ - -								
1	1,82	1,13	1,61	4,90	4,20	1,17	4,67	4,91	0,95
2	3,42	2,33	1,47	8,90	7,56	1,18	8,01	8,50	0,94
3	4,68	3,20	1,46	11,66	9,80	1,19	10,68	10,80	0,99
4	5,71	3,96	1,44	13,80	11,76	1,17	12,35	12,43	0,99
6	7,27	4,97	1,46	17,18	14,28	1,20	15,02	14,77	1,02
8	8,41	5,64	1,49	19,30	15,96	1,21	16,69	16,36	1,02
10	9,27	6,15	1,50	20,80	17,36	1,20	18,02	17,34	1,04
12	9,94	6,57	1,51	22,09	18,20	1,21	18,89	18,32	1,03
15	10,72	6,99	1,53	23,62	19,04	1,24	20,03	18,98	1,06
	média M/NM = 1,50			média M/NM = 1,20			média M/NM = 1,01		

1/ No cálculo do influxo líquido em cada concentração de P, aplicou-se a equação de Michaelis-Menten

$$I = \frac{V_{\text{máx}} (C - C_{\text{mín}})}{K_m + (C - C_{\text{mín}})}$$

4.2. EXPERIMENTO 2; NUTRIÇÃO, CRESCIMENTO E PRODUÇÃO

Após a calagem e aplicação das doses de P, 0; 10; 30 e 90 ppm ao substrato e incubação, a análise do P disponível pelo método da resina trocadora de íons, apresentou valores de 4,2; 6,3; 17,9 e 32,9 ppm (Tabela 3), respectivamente, sendo classificados de acordo com RAIJ et alii (1985), como níveis muito baixo, baixo, médio e médio.

4.2.1. Colonização das raízes pelo fungo MVA

O efeito das doses de P aplicadas, sobre a percentagem de raízes colonizadas pelo fungo MVA, em função da idade da planta, é apresentado na Figura 5. Observa-se que, de maneira geral, independentemente da idade da planta, não houve um efeito definido das doses de P aplicadas sobre a percentagem de colonização, exceto aos 40 dias, onde o aumento da dose promoveu uma diminuição na colonização, embora sem diferenças significativas.

Com relação à dinâmica de colonização, verifica-se que independentemente das doses de P, três fases distintas foram observadas em relação à idade da planta: fase de colonização lenta - que foi do plantio até aos 40 dias; fase de colonização extensiva - que foi dos 40 aos 60 dias e, fase de estabilização - observada após 60 dias de idade da planta. (Figura 5).

Pelos resultados dos tratamentos que não foram inoculados, ficou evidente que o tratamento térmico utilizado foi suficiente para eliminar os fungos MVA nativos e, também, que não houve contaminação dos vasos, pois estas plantas não apresentaram sinais de colonização.

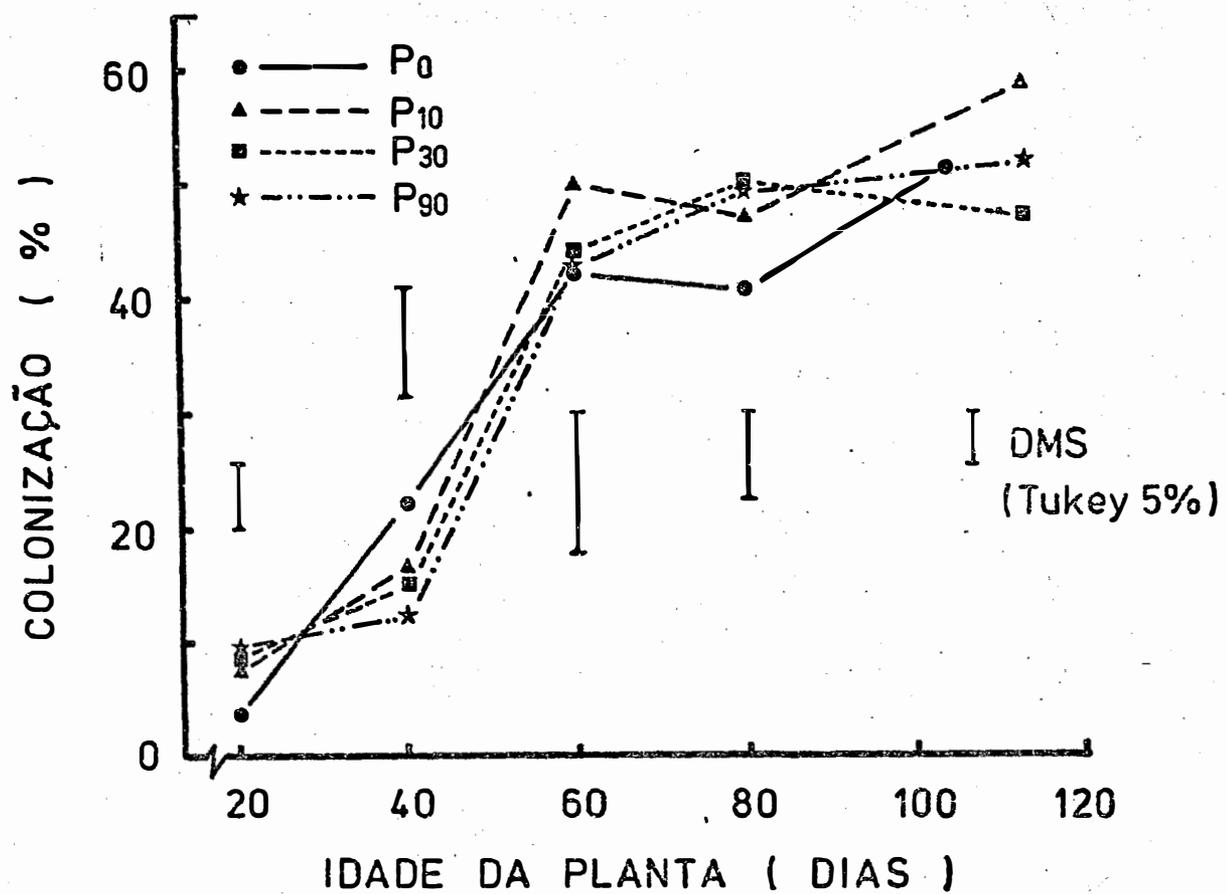


Figura 5 - Efeito das doses de P aplicadas sobre a percentagem de colonização de raízes da soja pelo fungo micorrízico, em função da idade da planta.

4.2.2. Crescimento e produção da soja

As análises de variância dos dados obtidos (Apêndice 1), mostraram que a micorriza e as doses de P utilizadas, influenciaram significativamente ($P > 0,001$) o crescimento da soja em todas as épocas de colheita e a produção de grãos, à exceção da micorriza aos 20 dias; o mesmo foi observado para a interação micorriza x fósforo. O desdobramento das interações (Apêndice 1), mostrou que as doses de P afetaram significativamente ($P > 0,001$) o crescimento da soja em todas as épocas de colheita, bem como a produção de grãos, tanto nas plantas micorrizadas (M), como nas não micorrizadas (NM), sendo que nestas, este efeito não foi observado aos 20 dias. Nas plantas NM, o efeito das doses de P foi quadrático para todas as épocas na produção de matéria seca e de grãos e, nas plantas M, este efeito foi linear aos 20 e 40 dias e quadrático para as épocas subsequentes.

O efeito das doses de P na produção de matéria seca e de grãos pela soja micorrizada e não micorrizada, nas diferentes épocas de colheita, é mostrado na Figura 6, cujas equações de regressão aparecem no Apêndice 2. Uma melhor visualização deste efeito, é mostrado na Figura 7. Verifica-se que a presença da micorriza promoveu aumentos na produção de matéria seca da soja, a partir dos 40 dias e foi acentuando-se com o aumento da idade da planta. (Figuras 6 e 7). Nenhuma diferença foi observada no crescimento das plantas M e NM na dose 0 de P aplicado onde o teor de P disponível pela resina no substrato foi de 4,2 ppm (Tabela 3). Com o aumento das doses de P, efeito significativo da micorriza foi observado, sendo que a máxima produção de matéria seca no final do ciclo para as plantas M (Figura 6), foi estimada pela equação de regressão (Apêndice 2), na dose de 82,2 ppm de P aplicado. Para a produção de

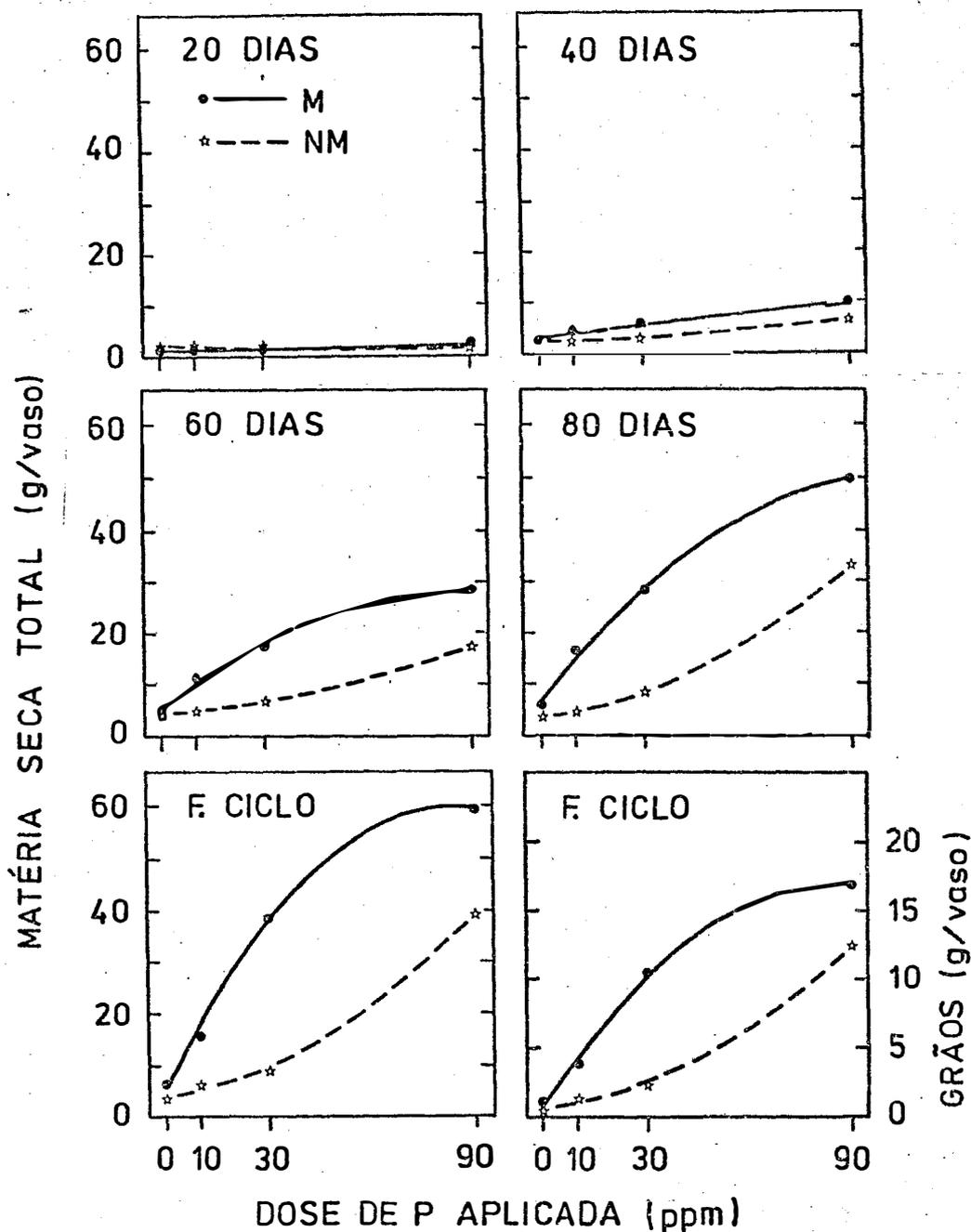


Figura 6 - Efeito das doses de P aplicadas na produção total de matéria seca e de grãos pela soja micorrizada (M) e não micorrizada (NM), nas diferentes épocas de colheita da planta. (Equações: Apêndice 2).

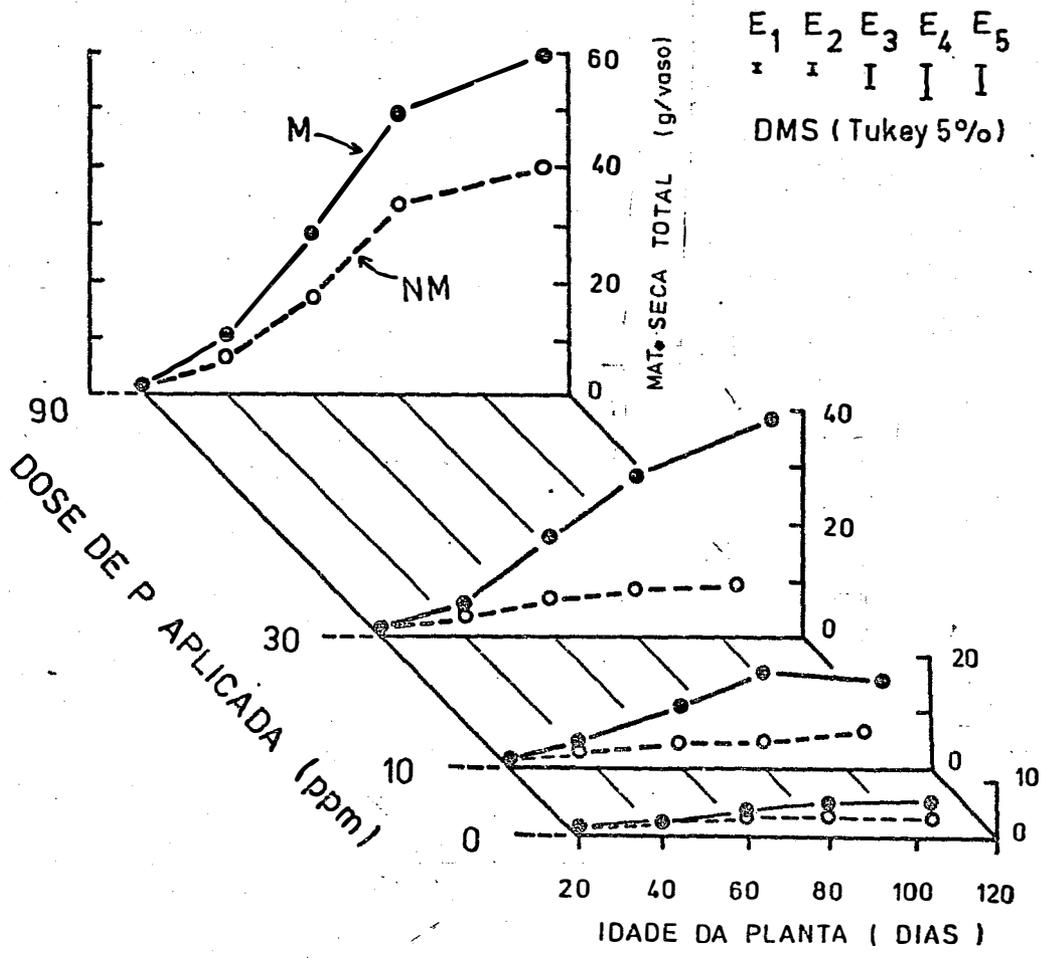


Figura 7 - Efeito da micorriza na produção de matéria seca total pela soja, em função das doses de P aplicadas e da idade da planta.

grãos (Figura 6), a mesma tendência foi observada, sendo que a produção máxima foi obtida nas plantas M, na dose de 85,7 ppm de P aplicado. Observa-se na Figura 7, que dos 40 aos 80 dias de idade, as plantas micorrizadas apresentaram uma velocidade de crescimento logarítmica e crescente com as doses de P, enquanto que, tendência semelhante nas plantas não micorrizadas foi observada apenas na dose de 90 ppm de P; as plantas M nas doses de 10, 30 e 90 ppm de P, bem como, as NM nesta última dose, apresentaram um ciclo de crescimento maior que as demais; as plantas M na dose de 30 ppm de P, apresentaram um crescimento similar às NM na dose de 90 ppm de P e, as plantas M na dose de 10 ppm de P, a partir dos 60 dias, produziram significativamente mais matéria seca que as NM na dose de 30 ppm de P.

Ficou bem evidenciado (Figuras 6 e 7) que o maior efeito da micorriza sobre o crescimento da planta e produção de grãos, ocorreu nas doses intermediárias de P aplicado. Portanto, com o objetivo de estimar a faixa de doses de P, que permitiu o máximo benefício da micorrização no crescimento, em todas as épocas de colheita, bem como na produção da soja, foi calculado o efeito relativo da micorriza $[ERM(\%) = (M-NM) \times 100 / NM]$, cujas equações de regressão ajustadas, que relacionam a ERM e as doses de P aplicadas, são mostradas no Apêndice 3. Observa-se (Figura 8 e Apêndice 3), que exceto aos 20 dias, a relação entre a ERM e as doses de P foi quadrática, o que permitiu estimar as doses que proporcionaram o maior efeito da micorriza no crescimento, em todas as épocas de colheita e na produção de grãos no final do ciclo, situando-se na faixa de doses de 40 a 50 ppm de P aplicado (Figura 8). O máximo efeito da micorriza na produção de grãos, ocorreu na dose de 43 ppm de P aplicado, correspondendo a um aumento de 400%.

Utilizando a equação de regressão que relaciona as doses de P aplicadas com o P disponível pelo método da resi

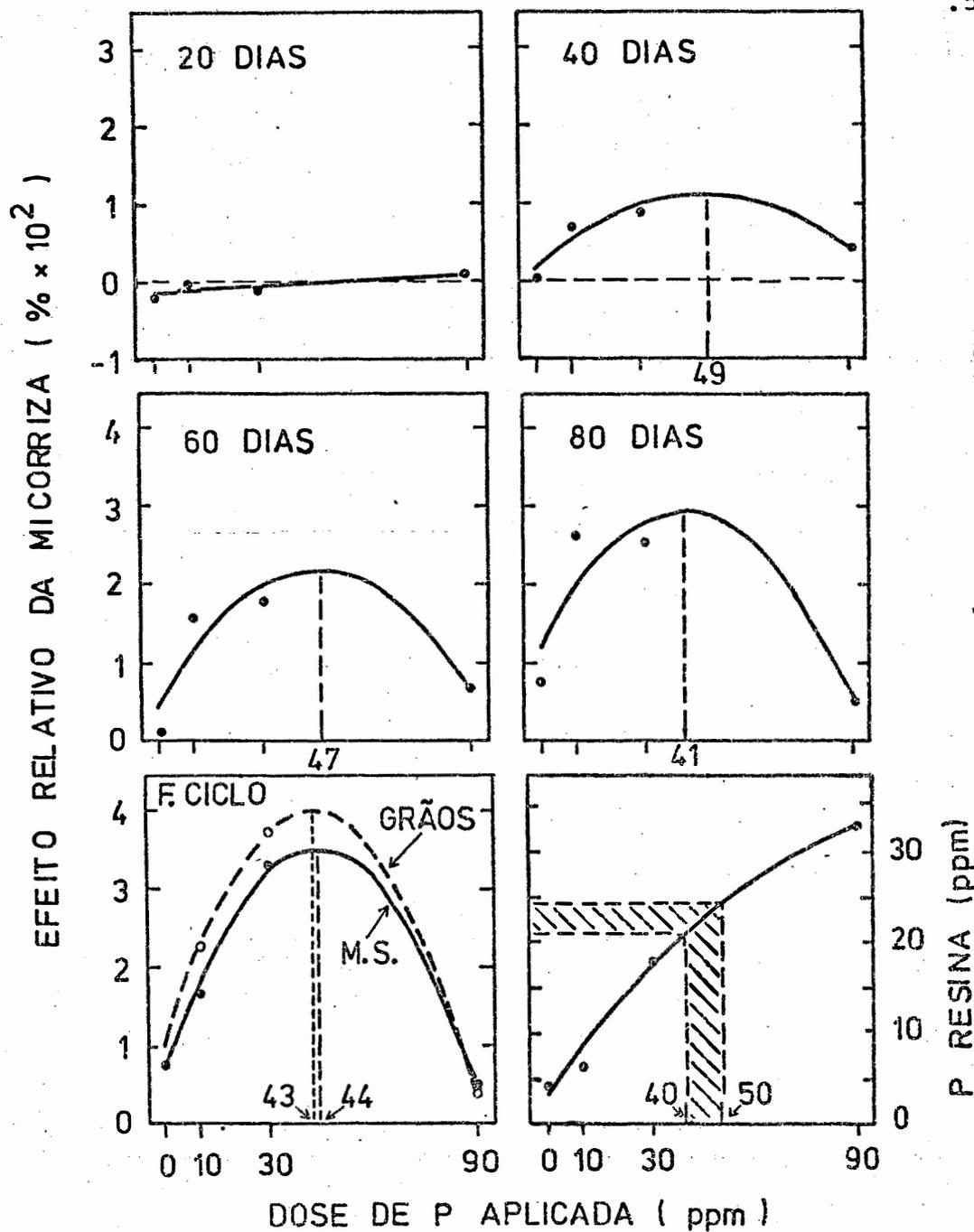


Figura 8 - Efeito relativo da micorriza. (ERM = $(M-NM) \times 100 / NM$) na produção de matéria seca total e de grãos pela soja, nas diferentes épocas de colheita da planta, em função das doses de P aplicadas, bem como, teor de P no substrato, determinado pelo método da resina, em função das doses de P. (Equações: Apêndice 3).

na (Apêndice 3), determinou-se a faixa de P disponível que permitiu o maior ERM, correspondendo, aproximadamente 20 a 25 ppm de P (Figura 8). Portanto, nas doses abaixo de 40 ppm ou acima de 50 ppm de P, que correspondem respectivamente, níveis menores que 20 ppm e maiores que 25 ppm de P disponível pelo método da resina, o efeito da micorriza sobre o crescimento e produção da soja foi diminuído.

As doses de P necessárias para obter 90% da produção máxima de grãos pela soja M e NM, foram estimadas através das equações de regressão ajustadas que relacionam a produção de grãos e as doses de P (Apêndice 2) e foram de 58 e 102 ppm de P, respectivamente (Figura 9). Isto representa uma redução de 43% no requerimento externo de P devido à micorrização. Os níveis críticos de P disponível no solo, para obter 90% da produção máxima de grãos estimados pela equação que relaciona o P disponível pelo método da resina e as doses de P aplicadas (Apêndice 3), foram de 26,5 e 34,2 ppm de P, respectivamente para a planta M e NM. Isto representa uma redução de 22,5% no nível crítico de P devido a presença da micorriza.

4.2.3. Nutrição Mineral

As análises de variância dos parâmetros da fixação biológica do nitrogênio (FBN) pelo *Bradyrhizobium japonicum* (Apêndice 4), aos 60 dias de idade das plantas, mostraram que tanto a micorriza quanto as doses de P, influenciaram significativamente ($P > 0,001$) estes parâmetros, o mesmo sendo observado para a interação micorriza x fósforo. O desdobramento das interações (Apêndice 4), mostrou que as doses de P afetaram significativamente ($P > 0,0001$) os parâmetros da FBN, tanto para as plantas M como para as NM. Este efeito, para as plantas NM foi

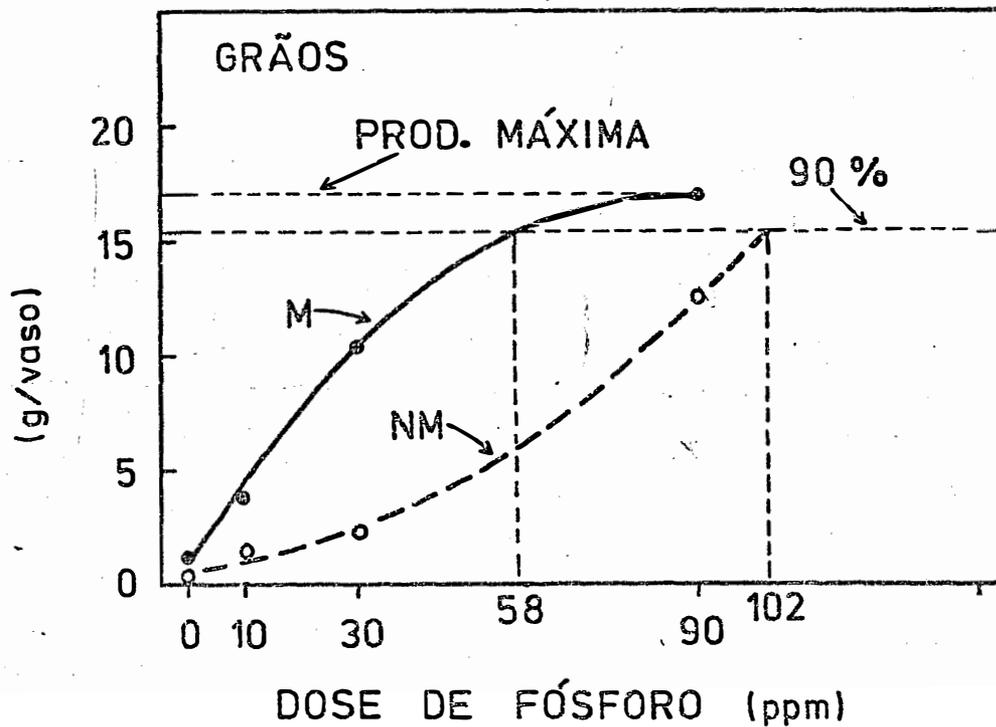


Figura 9 - Doses de fósforo necessárias para produção de 90% da produção máxima de grãos pela soja micorrizada (M) e não micorrizada (NM). (Equações: Apêndice 2).

quadrático para o número de nódulos (n° nód./pl.), atividade da nitrogenase por planta (Nase/pl.) e matéria seca de nódulos (M.seca nód./pl.), e linear para a atividade específica dos nódulos (Nase/g nód.). Para as plantas M, o efeito das doses de P foi quadrático para o número de nódulos e atividade da nitrogenase por planta e, linear para matéria seca de nódulos por planta e atividade específica dos nódulos.

O efeito das doses de P sobre estes parâmetros, para as plantas M e NM, aparece na Figura 10, cujas equações de regressão ajustadas são mostradas no Apêndice 5. Verifica-se, de maneira geral, que os maiores efeitos da micorriza sobre os parâmetros da fixação biológica do N_2 , ocorreram nas doses intermediárias de P aplicado (Figura 10). Para as plantas M, o número, o peso e a atividade da Nase por planta, em níveis de P muito baixo (dose 0), apresentaram valores semelhantes às plantas NM. Mas, com a aplicação de 10 ppm de P, os valores foram significativamente aumentados e crescentes com a elevação nas doses, enquanto que, as plantas NM, apresentaram tendência de aumento destes parâmetros, apenas com doses superiores a 30 ppm P. A atividade específica da nitrogenase (Nase/g nód., Figura 10), também foi significativamente maior para as plantas M nas doses baixas e intermediárias de P, igualando-se nas doses mais elevadas. Ressalta-se, que para o cálculo das equações de regressão que relacionam a atividade específica da nitrogenase com as doses de P, tanto para as plantas M como para as NM (Apêndice 5), os dados da dose 0 não foram utilizados, visto que, mesmo com uma atividade da nitrogenase por planta muito baixa nesta dose (Figura 10), a atividade específica foi bastante aumentada, devido à massa seca de nódulos ser extremamente pequena, elevando os valores da relação a resultados muito maiores do que a tendência normal observada.

As doses de P e a micorrização da soja, afeta-

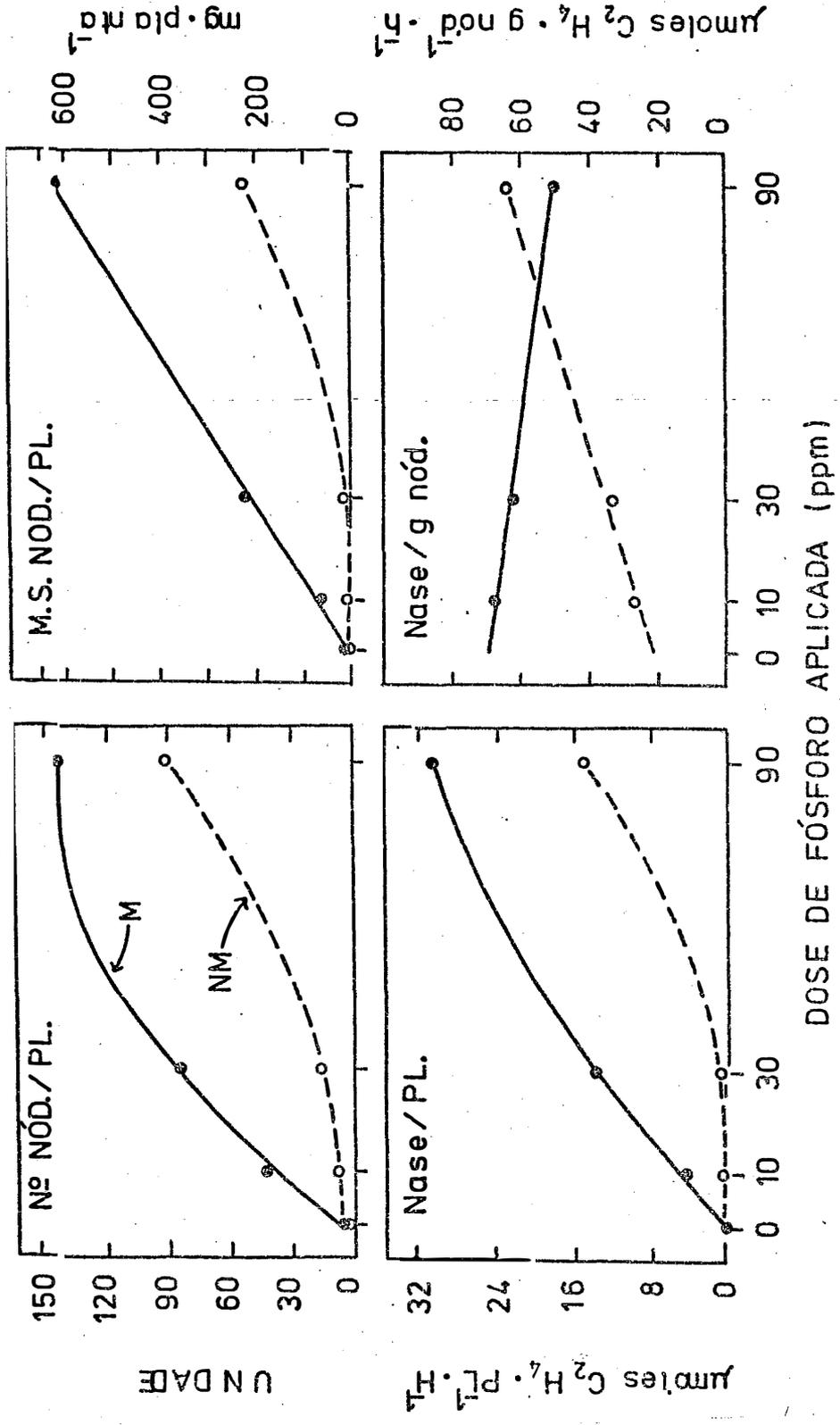


Figura 10 - Efeito das doses de fósforo nos parâmetros da fixação biológica do nitrogênio em soja micorrizada (M) e não micorrizada (NM), aos 60 dias de idade da planta (Equações: Apêndice 5).

ram significativamente ($P > 0,001$) tanto a concentração de N nas folhas, quanto a acumulação total pela planta (Apêndices 6 e 7), o mesmo sendo observado para a interação micorriza x fósforo. Apenas a concentração e a acumulação de N aos 20 dias para a micorriza e a interação micorriza x fósforo para a concentração aos 20 dias e acumulação aos 20 e 40 dias não apresentaram valores significativos. O desdobramento mostrou que as doses de P afetaram significativamente ($P > 0,001$) a concentração e acumulação de N (Apêndices 6 e 7), em todas as épocas de colheita, tanto para as plantas M como NM, exceto a concentração nas plantas M e acumulação nas NM aos 20 dias. O efeito do P foi quadrático na concentração de N nas folhas das plantas M e NM, exceto no final do ciclo, para estas últimas, que foi linear (Apêndice 6). A acumulação de N foi afetada linearmente pelas doses de P aos 40 e 60 dias nas plantas NM e aos 20, 60 e 80 dias nas plantas M e de forma quadrática aos 80 dias e final do ciclo e aos 40 dias e final do ciclo nas plantas M e NM, respectivamente (Apêndice 7).

O efeito das doses de P sobre a concentração nas folhas e acumulação total de N pela soja M e NM, nas diferentes épocas de colheita, é mostrado na Figura 11 e as respectivas equações de regressão aparecem no Apêndice 8. Observa-se, de maneira geral, que a partir de 20 dias de idade a concentração de N nas folhas apresentou uma tendência de diminuição nos seus valores, com o aumento das doses de P e com a idade da planta. As plantas M, apresentaram concentração de N nas folhas menores que as NM, nas doses intermediárias de P aplicado, igualando-se nas doses extremas (Figura 11). A acumulação total de N na planta, apresentou uma tendência crescente com as doses de P e com a idade da planta, a partir dos 40 dias de idade, sendo que, o aumento devido à micorrização foi crescente com as doses de P, apresentando os maiores efeitos no final do ciclo e nas doses intermediárias.

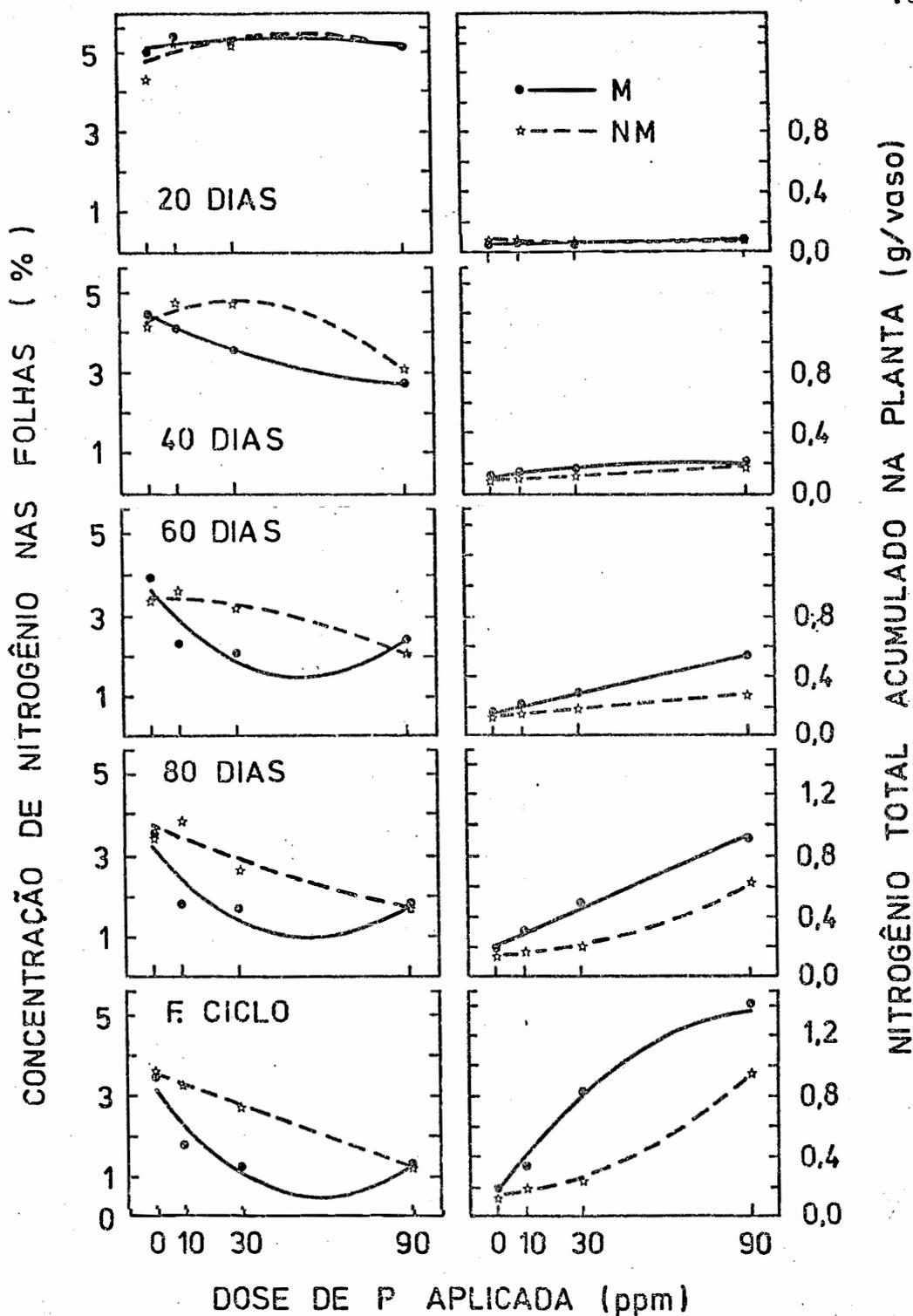


Figura 11 - Efeito das doses de P aplicadas na concentração e acumulação de N pela soja micorrizada (M) e não micorrizada (NM), nas diferentes épocas de colheita da planta (Equações: Apêndice 8).

Os Apêndices 9 e 10, mostram que a micorrização e as doses de P, afetaram significativamente ($P > 0,001$) a concentração de P nas folhas, bem como a acumulação de P total pela soja e a interação micorriza x fósforo, em todas as épocas de colheita, exceto a micorriza e a interação aos 20 dias, para o P acumulado. O desdobramento mostrou que as doses de P afetaram significativamente ($P > 0,001$) estes dois parâmetros, tanto para as plantas M como para as NM. Para a concentração de P nas folhas nestas últimas, este efeito foi quadrático aos 20 e 60 dias e no final do ciclo e linear aos 40 e 80 dias; para as M, efeito quadrático foi observado, exceto aos 80 dias que foi linear (Apêndice 9). Para o P total acumulado, tanto para as plantas M como NM, o efeito das doses de P foi quadrático em todas as épocas de colheita, exceto aos 20 dias que foi linear.

A Figura 12, mostra o efeito das doses de P, sobre a concentração de P nas folhas e o P total acumulado pela soja M e NM, nas diferentes épocas de colheita. As respectivas equações de regressão aparecem no Apêndice 11. Observa-se que tanto a concentração de P, como o P total acumulado nas plantas M e NM, apresentaram uma tendência de aumentar os valores, com a elevação da dose de P. Com o aumento da idade da planta, a concentração de P nas folhas diminuiu, independentemente da micorrização, enquanto que a acumulação aumentou. As plantas micorrizadas apresentaram maiores concentrações de P nas folhas do que as não micorrizadas, em todas as épocas de colheita, sendo que as maiores diferenças foram observadas aos 40 dias de idade, verificando-se uma diminuição deste efeito nas épocas subsequentes. As plantas M acumularam mais P que as NM, a partir de 20 dias, exceto na dose 0 de P, sendo os maiores efeitos observados nas doses intermediárias de P.

O coeficiente de utilização do fósforo (CUP), expresso em gramas de matéria seca produzida por unidade (mg) de

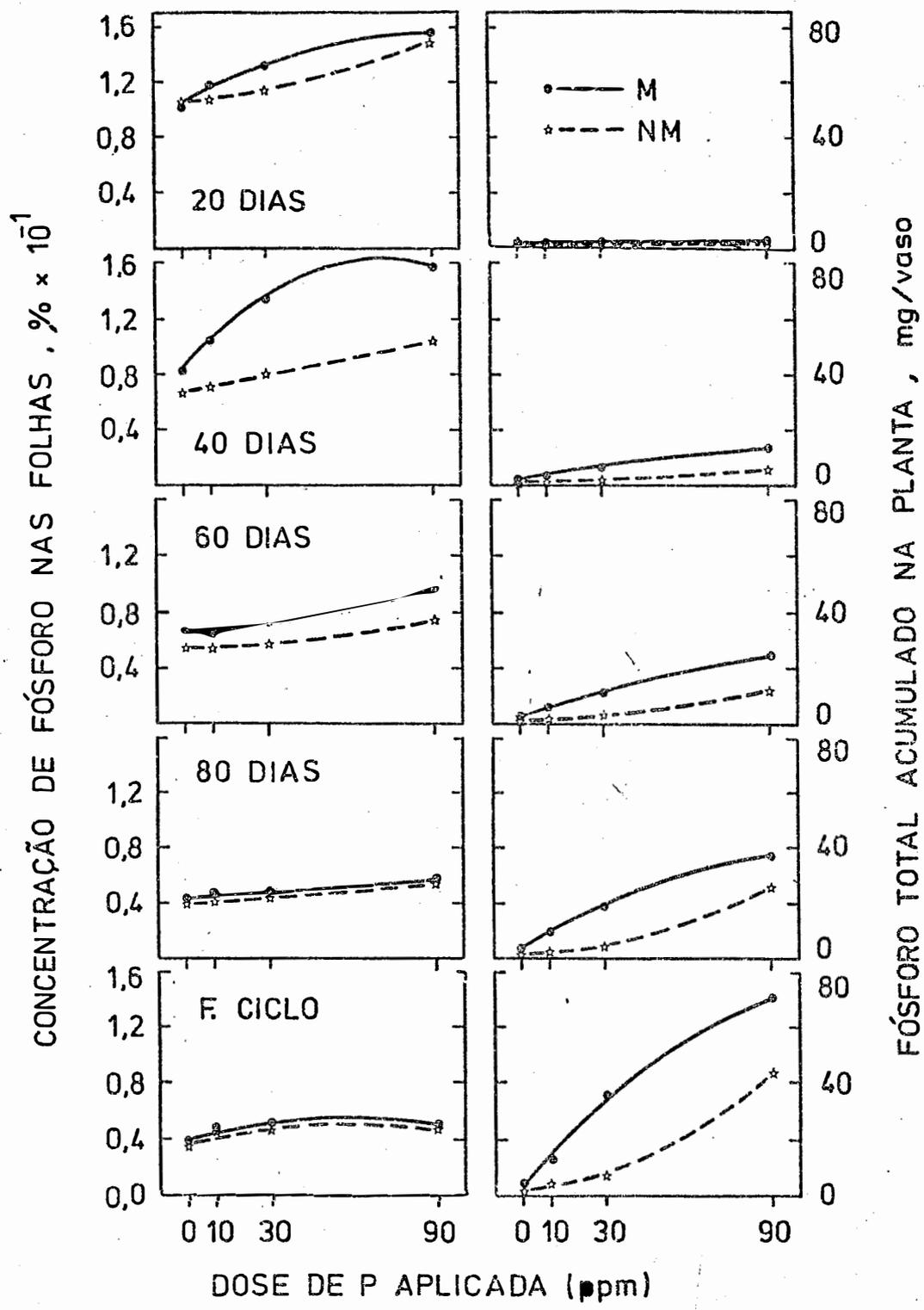


Figura 12 - Efeito das doses de P aplicadas na concentração e acumulação de P pela soja micorrizada (M) e não micorrizada (NM), nas diferentes épocas de colheita da planta (Equações: Apêndice 11).

P acumulado pela planta apresentou uma tendência de diminuição com o aumento das doses de P (Figura 13 e Apêndice 12). As plantas M, apresentaram menor CUP que as NM, dos 40 aos 80 dias de idade, sendo que, no final do ciclo diferenças foram observadas apenas em condições de disponibilidade de P muito baixas (P_0).

As análises de variância para concentração e acumulação de K, S, Cu e Zn, são mostradas respectivamente nos Apêndices 13 e 14, 15 e 16, 17 e 18, 19 e 20. As equações de regressão que relacionam a concentração e acumulação destes nutrientes, com as doses de P aplicadas, aparecem nos Apêndices 21, 22, 23 e 24, respectivamente. Embora efeitos significativos da micorriza e das doses de P, bem como das interações micorriza x fósforo foram observadas em diversas épocas de colheita (Apêndices 13, 15, 17), as concentrações de K, S e Cu nas folhas da soja, não apresentaram uma tendência definida em função desses fatores e da idade da planta (Figuras 14, 15 e 16, respectivamente). Já, a concentração de Zn nas folhas, foi significativamente afetada pela micorriza e pelas doses de P em todas as épocas de colheita, à exceção do P aos 20 dias (Apêndice 19). O desdobramento das interações, mostrou que as doses de P influenciaram significativamente a concentração de Zn, tanto nas plantas M, quanto nas NM, em todas as épocas. A partir dos 40 dias de idade da planta (Figura 17), houve uma tendência de redução da concentração de Zn nas folhas, com o aumento das doses de P e aumento nos teores com a idade da planta, tanto nas M quanto nas NM, além, das plantas M, apresentarem menores concentrações nas doses intermediárias de P. Por outro lado, as acumulações de K, S, Cu e Zn, foram significativamente afetadas pela micorriza e pelas doses de P a partir de 40 dias de idade (Apêndices 14, 16, 18 e 20, respectivamente), sendo que as plantas M, acumularam maiores quantidades destes nutrientes que as NM, sendo os maio

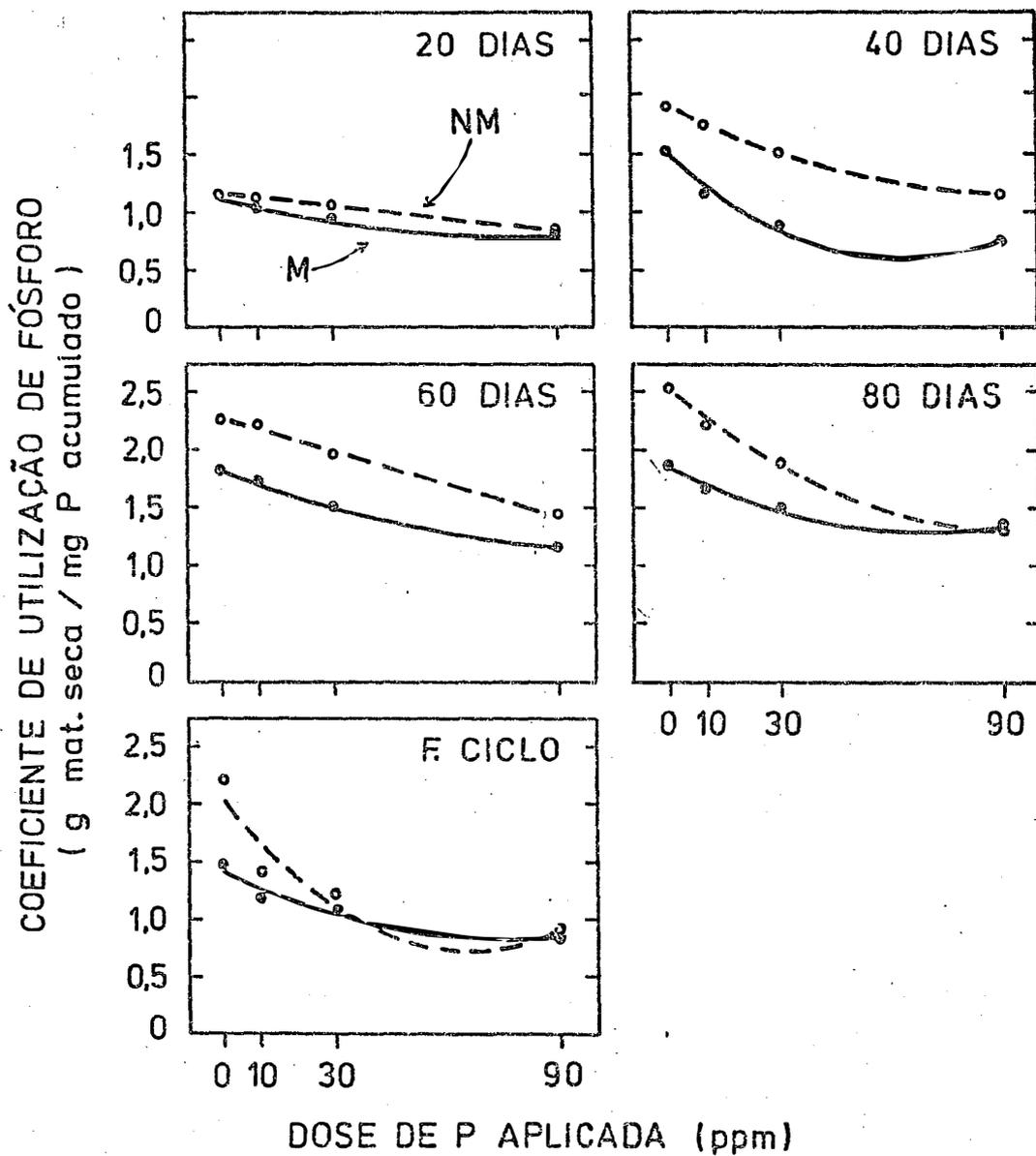


Figura 13 - Efeito das doses de P aplicadas, sobre o Coeficiente de Utilização de Fósforo (CUP) em soja micorrizada (M) e não micorrizada (NM), nas diferentes épocas de colheita da planta (CUP = g mat. seca/mg P acumulado). (Equações: Apêndice 12).

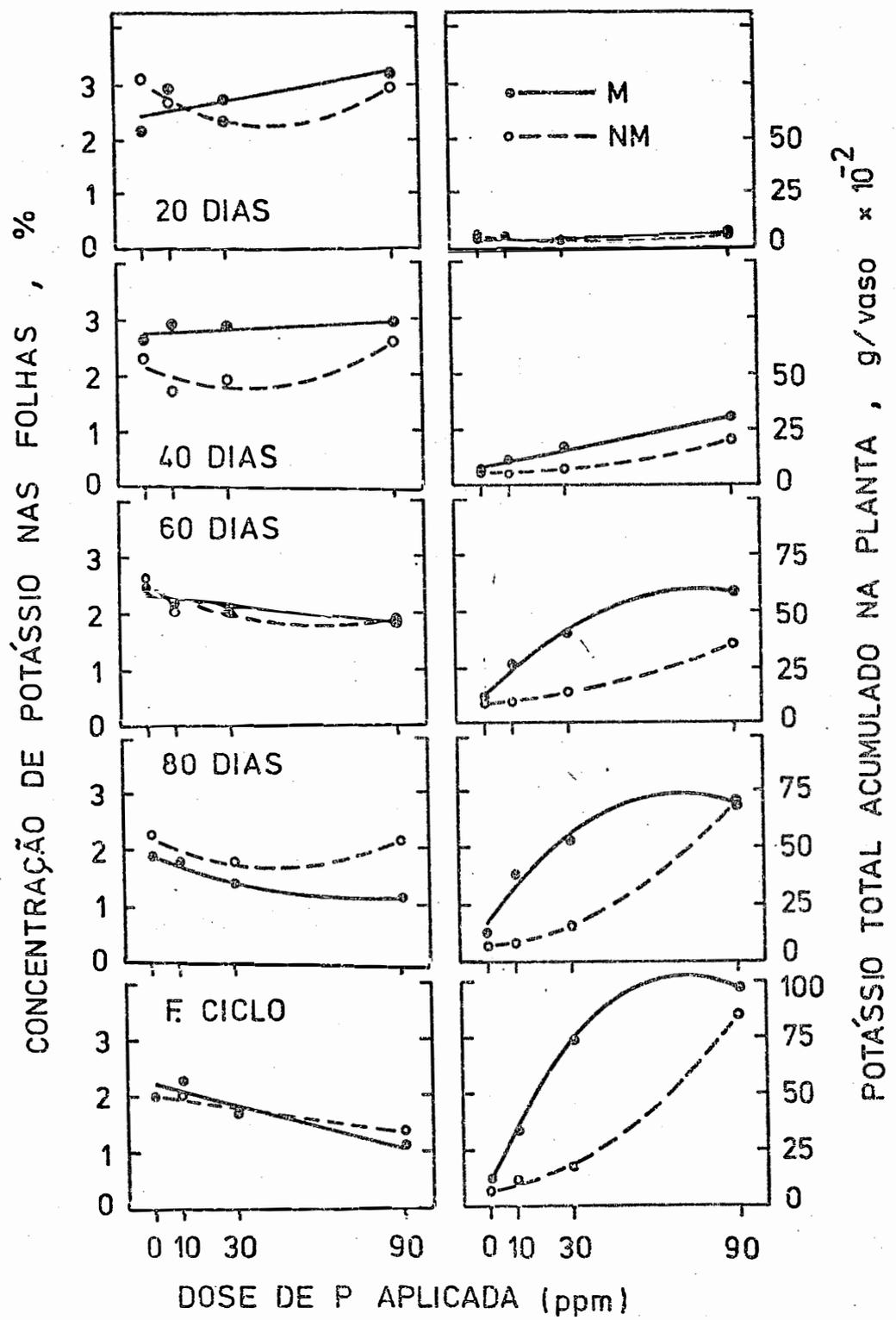


Figura 14 - Efeito das doses de P aplicadas na concentração e acumulação de K pela soja micorrizada (M) e não micorrizada (NM), nas diferentes épocas de colheita da planta (Equações: Apêndice 21).

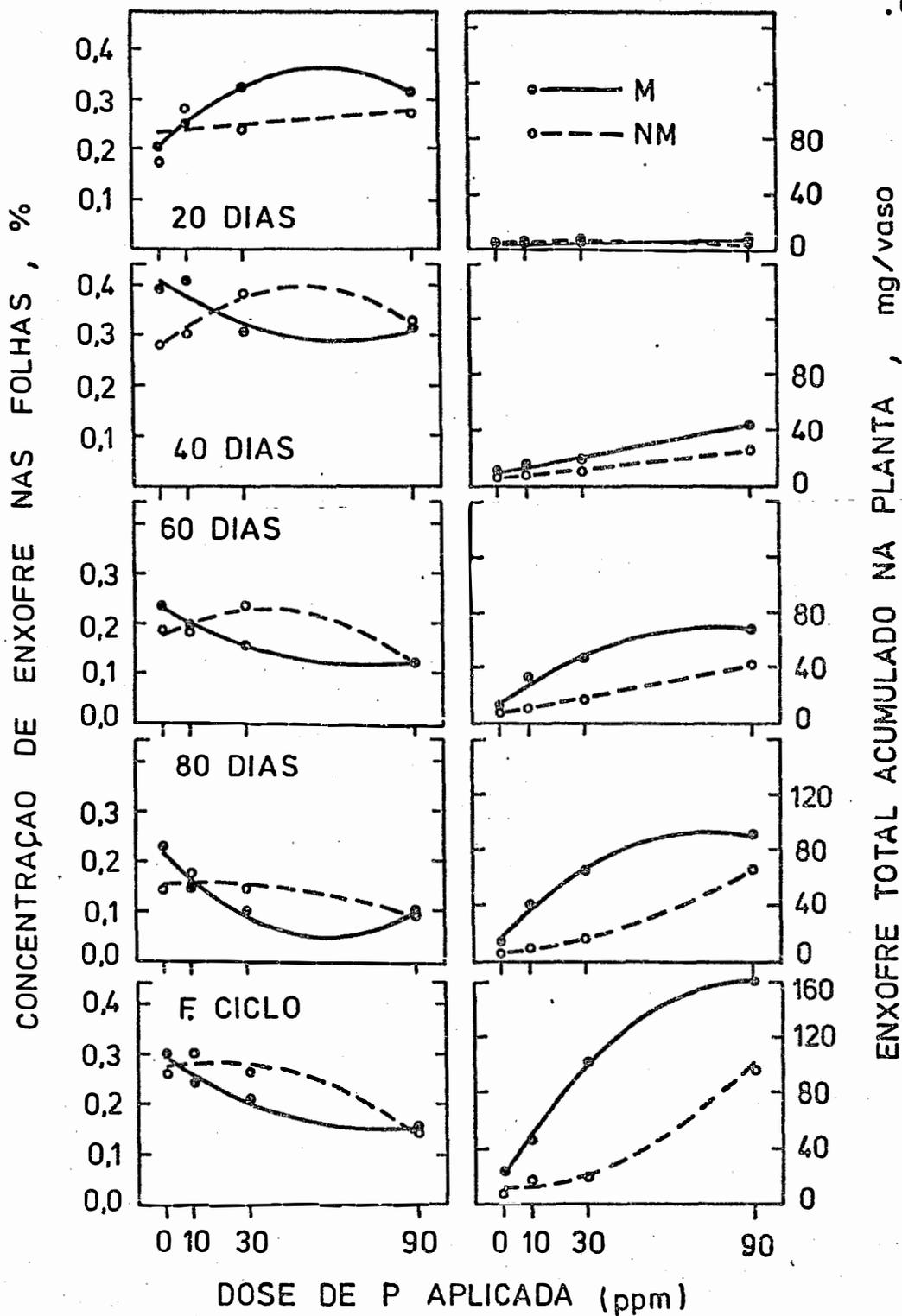


Figura 15 - Efeito das doses de P aplicadas na concentração e acumulação de S pela soja micorrizizada (M) e não micorrizizada (NM), nas diferentes épocas de colheita da planta. (Equações: Apêndice 22).

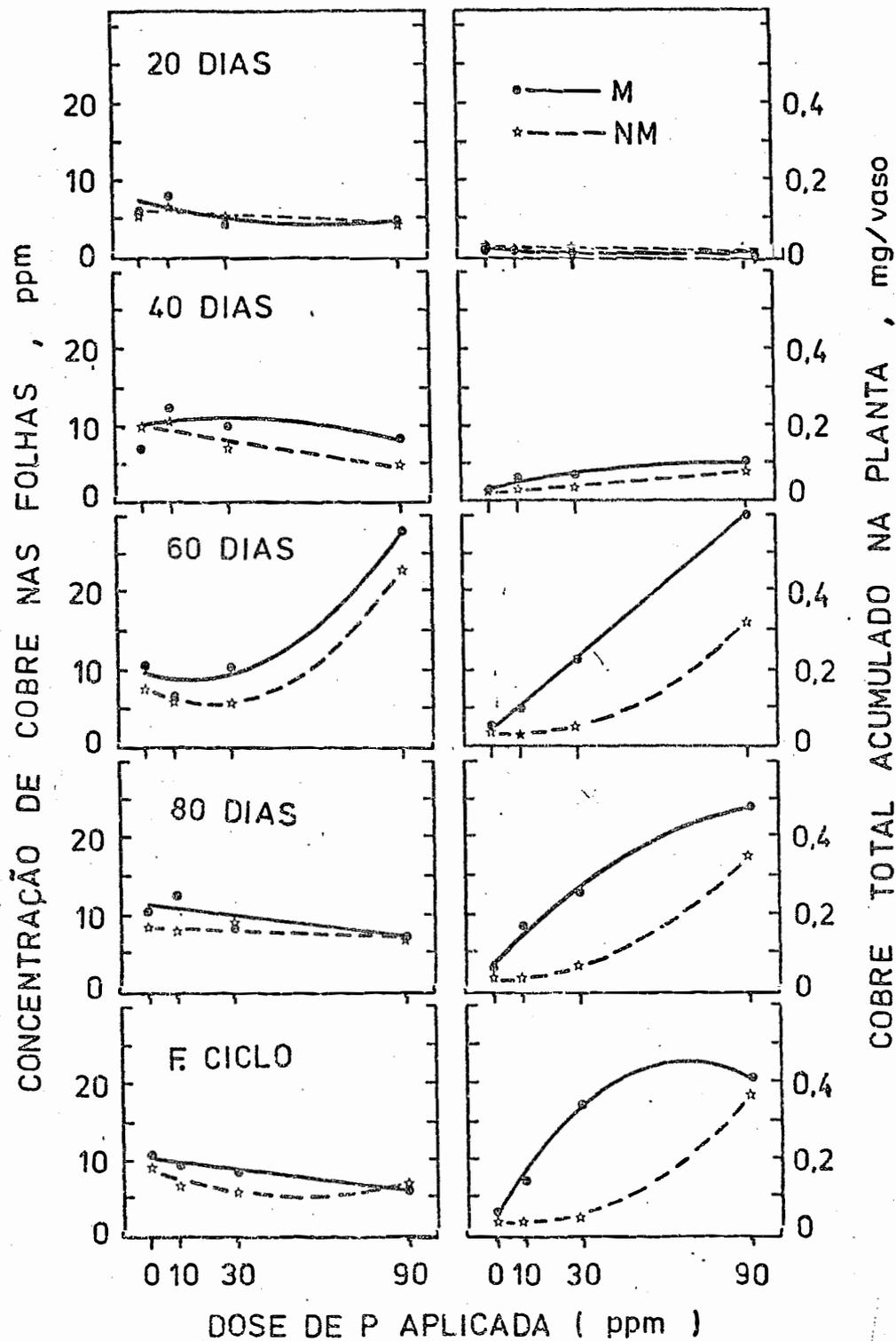


Figura 16 - Efeito das doses de P aplicadas na concentração e acumulação de cobre pela soja micorrizada (M) e não micorrizada (NM), nas diferentes épocas de colheita da planta (Equações: Apêndice 23).

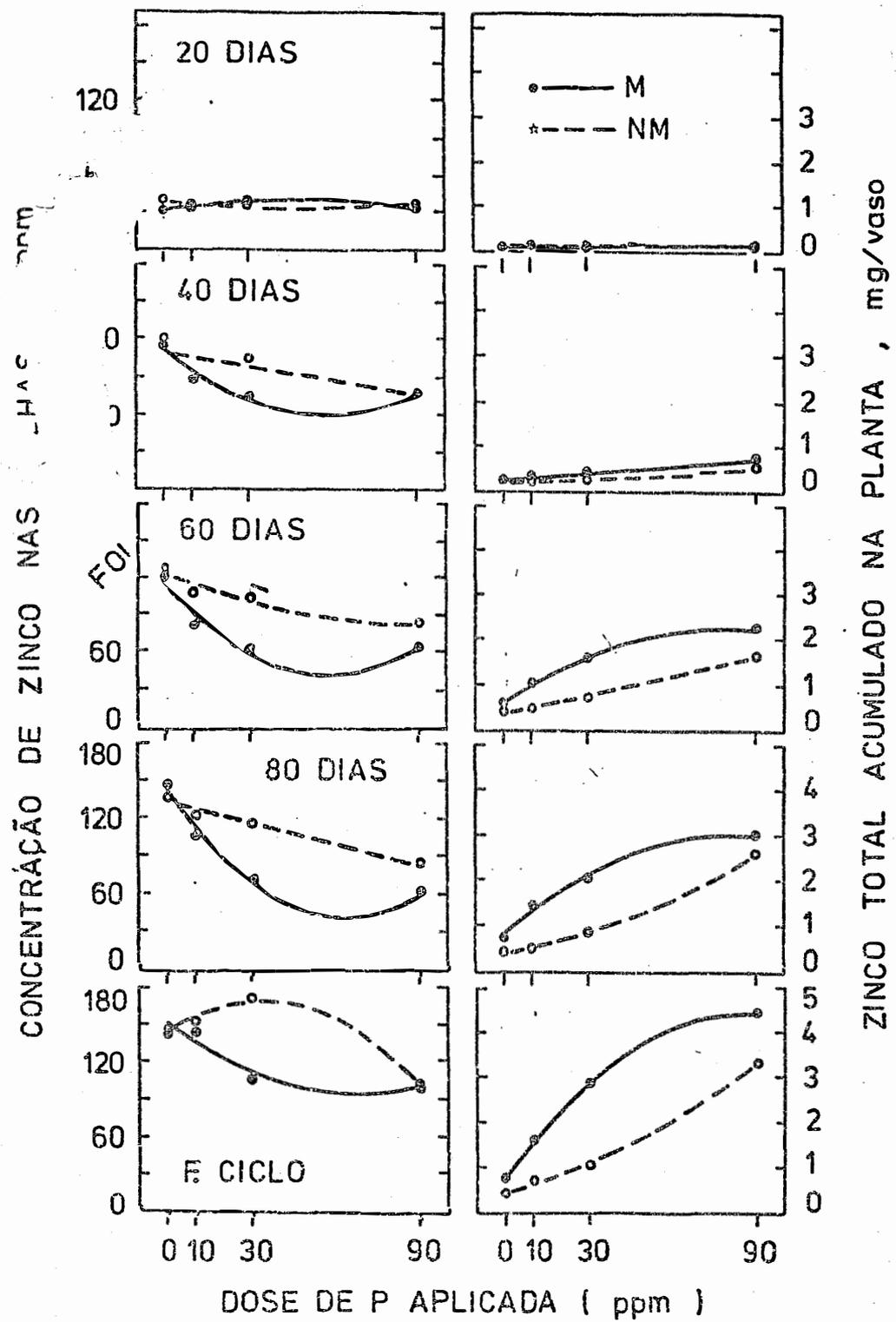


Figura 17 - Efeito das doses de P aplicadas na concentração e acumulação de Zn pela soja micorrizada (M) e não micorrizada (NM), nas diferentes épocas de colheita da planta. (Equações: Apêndice 24).

res efeitos observados nas doses intermediárias de P aplicado (Figuras 14, 15, 16 e 17, respectivamente).

Na Figura 18, é mostrada a distribuição dos nutrientes nas partes da planta de soja no final do ciclo, como percentagem do total acumulado, para as plantas micorrizadas e não micorrizadas. Observa-se que as plantas M, proporcionalmente, acumularam mais nutrientes nas vagens e grãos, do que as NM. De maneira geral, nas folhas e no caule, o contrário foi observado e, nas raízes, não houve uma tendência definida.

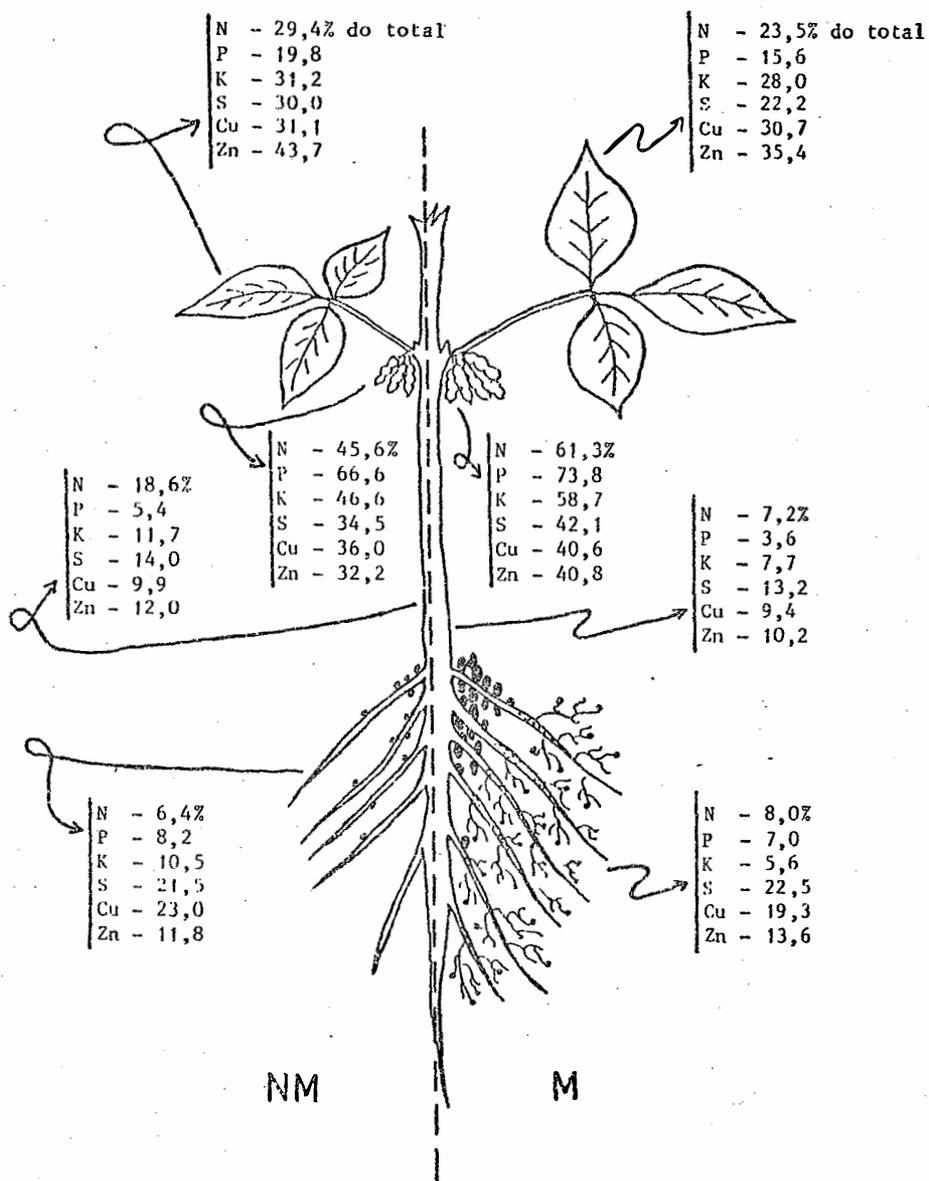


Figura 18 - Distribuição dos nutrientes nas partes da planta de soja micorrizada (M) e não micorrizada (NM), no final do ciclo, como percentagem do total acumulado (média dos 4 níveis de P). Relação M.seca vagens/M.seca total: M = 0,436; NM = 0,440.

5. DISCUSSÃO

A cinética de Michaelis-Menten tem larga aplicação no estudo de absorção iônica pelas raízes de plantas. A determinação dos parâmetros cinéticos de absorção iônica requer que o influxo do íon, decresça com o aumento da sua concentração na solução externa, cuja curva representa uma hipérbole equilátera, numa relação consistente com a hipótese de que a absorção seja mediada por um carregador, com comportamento semelhante ao de uma enzima, obedecendo assim a cinética proposta por Michaelis-Menten (EPSTEIN, 1966). Numa relação ampla de concentração, o influxo pode ser descrito pela operação de dois mecanismos paralelos de absorção: um de alta afinidade, baixo K_m (1-20 μM) é outro, de baixa afinidade, alto K_m (50-1.000 μM) (Epstein, 1976, citado por DREW et alii, 1984). No presente trabalho, estudou-se apenas a operação do primeiro mecanismo, o de alta afinidade, o qual opera na absorção iônica em baixas concentrações, característica da solução do solo. As equações de Michaelis-Menten, ajustadas a cada tratamento segundo a transformação de LINEWEAVER e BURK (1934), mostraram que esse modelo ajustou-se adequadamente aos dados obtidos. Os valores dos coeficientes de determinação linear das equações recíprocas, foram significativos ao nível de 1% de probabilidade (Tabela 6).

O principal efeito da associação micorrízica na nutrição, crescimento e produção das plantas, tem sido atribuído à maior absorção de P em solos de baixa fertilidade (ZAMBOLIM e SIQUEIRA, 1985), devido ao aumento na superfície de absorção do sistema radicular, bem como, à exploração de maior vo

lume de solo, conferido pelas hifas externas (RHODES e GERDEMANN, 1975). Além desse mecanismo, modificações fisiológicas na planta micorrizada, que podem alterar características relacionadas com a cinética de absorção, translocação e utilização do P, também tem sido evidenciados (COOPER, 1984 e ZAMBOLIM e SIQUEIRA, 1985).

Estudos do efeito da micorriza, sobre os parâmetros cinéticos de absorção iônica, são raros na literatura. Esta escassez de informações, provavelmente, seja devido a dificuldade de obtenção de plantas micorrizadas em substrato sólido, para posterior transferência a um meio líquido, com o mínimo de danos ao sistema radicular micorrizado.

Trabalho pioneiro sobre o efeito da micorriza nos parâmetros cinéticos de absorção de P, foi realizado por CRESS et alii (1979), em raízes destacadas de tomateiro. Estes autores demonstraram que na faixa de baixa concentração de P na solução (mecanismo de alta afinidade), as raízes M apresentam valores de K_m mais baixos que as NM, embora os valores de $V_{m\acute{a}x}$ sejam similares. Assim, concluíram, que o aumento no influxo, observado nas raízes micorrizadas na faixa de baixa concentração (menor que $20 \mu M KH_2PO_4$), foi devido, principalmente, à maior afinidade do sítio do carregador pelo fosfato (menor K_m). Entretanto, estudos recentes com soja (KARUNARATNE et alii, 1986) e feijoeiro (SILVEIRA et alii, 1987), foram encontrados que na faixa de baixa concentração de P, a presença do fungo micorrízico promoveu aumentos na $V_{m\acute{a}x}$ e na K_m , indicando que o aumento no influxo de P pela micorriza, seria devido o aumento do número de sítios de absorção por unidade de raiz, conferido pelas hifas externas do fungo, mas com menor afinidade pelo P. Os resultados obtidos no presente trabalho (Tabela 5), concordam com os obtidos por estes autores, pois a micorrização da soja promoveu aumentos na $V_{m\acute{a}x}$ e K_m .

De acordo com a literatura, de maneira geral, o aumento da absorção de P pelas plantas micorrizadas é acompanhado pela elevação na concentração deste elemento nos tecidos, em relação às não micorrizadas, quando ambas são cultivadas nas mesmas condições. Este fato foi evidenciado no presente trabalho, pela análise da concentração de P aos 40 dias de idade (época da retirada das plantas da areia), realizadas nas repetições adicionais, mostrando nas raízes 0,05; 0,10 e 0,12% e 0,03; 0,08 e 0,10% de P, respectivamente para plantas M e NM, nos níveis de nutrição 1, 2 e 3. Nas folhas, da mesma maneira, 0,08; 0,13 e 0,16% de P nas plantas M e, 0,05; 0,10 e 0,13% de P nas plantas NM. Como as plantas, após a retirada da areia e antes do ensaio de cinética, foram mantidas por uma semana para adaptação em solução nutritiva correspondente à aplicada na areia durante o desenvolvimento (níveis de nutrição 1, 2 e 3, Tabela 3), esta relação possivelmente não foi alterada ou até alargada, pois a brotação de raízes novas neste período, foi superior nas plantas NM, podendo inclusive ter promovido diluição na concentração de P no sistema radicular.

De acordo com CARTWRIGHT (1972), o efeito mais importante da deficiência de fósforo, na cinética de absorção de P, é um marcante decréscimo no valor de K_m . Este fato tem sido confirmado por outros autores, com cevada (LEE, 1982) e com arroz (CARVALHO, 1987). Isto, pelo menos em parte, poderia explicar dentro de cada nível de nutrição, o menor K_m apresentado pelas plantas NM (Tabela 5). A diminuição dos valores de K_m , com a elevação do nível de nutrição, independentemente da micorrização, pode ter sido devido à maior emissão de raízes novas pelas plantas no mesmo sentido, durante o período de adaptação em solução nutritiva. Segundo EDWARDS e BARBER (1976), o valor de K_m para absorção de P é mais baixo nas raízes de plantas de soja mais jovens. Portanto, as raízes mais novas apre-

sentam maior afinidade para o P, ou seja, atingem metade da $V_{m\acute{a}x}$ em concentrações de P mais baixas na solução. Como a brotação de raízes novas foi maior nas plantas NM, isto pode ter contribuído também para a diminuição dos valores de K_m nestas plantas, em comparação com as M, no mesmo nível de nutrição. Segundo DREW et alii (1984), a diminuição do valor K_m , pode indicar a síntese de uma nova molécula de carregador com maior afinidade pelo íon; possivelmente, o carregador de raízes novas, apresenta maior afinidade pelo P (EDWARDS e BARBER, 1976).

Os resultados obtidos para o K_m no presente trabalho (Tabela 5), não concordam com os de CRESS et alii (1979), que obtiveram redução nos valores de K_m com a micorrização do tomateiro. Ressalta-se, que no trabalho destes autores, as plantas M foram obtidas com aplicação de fonte insolúvel de P [$Ca_3(PO_4)_2$] ao meio, o que, segundo os mesmos, promoveu sintomas de deficiência deste nutriente durante a fase de desenvolvimento das plantas, enquanto as plantas NM, foram crescidas com fonte solúvel de P (NaH_2PO_4). A concentração de P nas raízes foi de 2,37% e 3,17%, para as plantas M e NM, respectivamente, o contrário do que normalmente ocorre, quando ambas são cultivadas em igualdade de condições. Considerando o reportado por CARTWRIGTH (1972), que o efeito mais importante da deficiência de P, é a redução do valor do K_m , o menor K_m obtido por CRESS et alii (1979) para as plantas M, pode ter sido devido a este fato.

A micorrização influenciou também o valor de $V_{m\acute{a}x}$ para absorção de P pela soja (Tabela 5). Os aumentos verificados na $V_{m\acute{a}x}$ devido à micorrização, concordam com os observados por KARUNARATNE et alii (1986) com soja e SILVEIRA et alii (1987) em feijoeiro suprido com baixa dose de P. CRESS et alii (1979), não observaram influência da micorrização do tomateiro nos valores de $V_{m\acute{a}x}$, na faixa de baixa concentração de P

na solução. Ressalta-se novamente, que as plantas M e NM utilizadas por estes autores, não foram crescidas nas mesmas condições de disponibilidade de P, o que pode ter mascarado os resultados. Alguns autores como LEE (1982) em cevada, VILELA e ANGHINONI (1984) em soja, NINGPING e BARBER (1985) em trigo, FONTES et alii (1986) em tomate e CARVALHO (1987) em arroz, encontraram aumentos nos valores de $V_{\text{máx}}$ de absorção de P, nas plantas carentes neste nutriente. As raízes de plantas crescendo sob condições de "low salt", são caracteristicamente ricas em açúcares (Hoagland e Broyer, 1936 e Pitman et alii, 1971, citados por LEE, 1982) e a absorção de certos nutrientes é freqüentemente acompanhada pelo acréscimo na concentração de carboidratos solúveis na raiz, fato que tem sido observado para plantas deficientes em N e P. Assim, segundo este autor, os carboidratos acumulados, representariam uma fonte adicional de energia, aumentando a capacidade de absorção das raízes. Como os trabalhos acima citados, que observaram aumentos nos valores de $V_{\text{máx}}$ de absorção de P, em plantas carentes neste nutriente, foram desenvolvidas em solução nutritiva, as plantas, provavelmente, estavam isentas de colonização micorrízica. No presente trabalho, considerando que as plantas M estavam mais bem nutridas em P que as NM, os resultados obtidos (Tabela 5), não concordam com os observados por estes autores, principalmente no nível de nutrição 1, onde o efeito da micorrização foi acentuadamente maior no crescimento e no aspecto nutricional das plantas. Portanto, de acordo com estes autores, era de se esperar que a $V_{\text{máx}}$ fosse maior nas plantas NM. Assim, parece, que a micorrização foi o fator que promoveu aumento de $V_{\text{máx}}$ para absorção de P pela soja. Os mesmos resultados foram encontrados por KARUNARATNE et alii (1986). Segundo DREW et alii (1984), considerando a hipótese do carregador no processo de absorção iônica, mudanças em $V_{\text{máx}}$, pode indicar alteração na concentra-

ção ou no número de giros do carregador na membrana plasmática, ou no número de sítios de absorção por unidade de raiz, o que possivelmente ocorreu nas plantas M. Como as hifas dos fungos micorrízicos ligadas às raízes são capazes de absorver P e transferi-lo à planta, a uma distância de até 8 cm (RHODES e GERDEMANN, 1975), a maior absorção de P pelas plantas M seria devido, provavelmente, aos fatos acima apontados.

A redução dos valores de $V_{m\acute{a}x}$ com a elevação do nível de nutrição (Tabela 5), deve estar relacionado à própria demanda de P pela planta, em função do suprimento do elemento pelo meio ou devido a um menor acúmulo de carboidrato nas raízes, como comentado anteriormente (DREW et alii, 1984), em função do melhor estado nutricional das plantas. JUNGK e BARBER (1975), verificaram para o milho, redução nos valores de $V_{m\acute{a}x}$ de absorção de P, em raízes de idade menor que 7 dias, tiradas de plantas adultas. Portanto, o brotamento de raízes, deve apenas ter contribuído com a redução dos valores de $V_{m\acute{a}x}$ verificado (Tabela 5).

O valor da $C_{m\acute{i}n}$ foi menor nas plantas M, nos níveis de nutrição mais baixos (Tabela 5). $C_{m\acute{i}n}$ corresponde à concentração do íon no meio externo, onde o influxo iguala-se ao efluxo, ou seja, o influxo líquido é igual a zero. Portanto, os resultados obtidos indicam que a micorrização conferiu uma maior capacidade de retenção do P nas raízes, em condições de baixa concentração de P no meio, possibilitando assim, um influxo líquido positivo em concentrações externas de P mais baixas (Figura 3). Segundo CLARKSON (1985), a atividade da quinase de polifosfato foi encontrada nas hifas externas de fungo micorrízico, que levaria à formação dos grânulos de polifosfato, que seriam transportados em direção das células das raízes do hospedeiro. Isto concorreria para a manutenção de uma concentração interna de P-inorgânico (P_i) baixa, prevenindo o e-

fluxo do mesmo através da plasmalema. Esta menor C_{\min} nas plantas M, é da maior importância prática, visto que a concentração de P na solução do solo, principalmente as das regiões tropicais, é extremamente baixa. Desse modo, as plantas micorrizadas são capazes de operar o mecanismo de absorção de fosfato até concentrações bem baixas deste elemento. Segundo ASHER e EDWARDS (1978), a concentração de P na solução do solo que mostra-se deficiente às plantas, varia de 0,1 a 12 μM , dependendo da espécie. Barber et alii (1963) e Reisenauer (1966), citados por BIELESKI e FERGUSON (1983), mostraram que a concentração de P na solução de 250 solos variou de 0,5 a 2 μM , portanto, no limite inferior da faixa de provável deficiência acima citada. Assim, a operação do mecanismo de absorção de P pelas plantas micorrizadas a concentrações mais baixas, deve ter grande relevância na absorção e utilização do P do solo pelas culturas. PACOVSKY e FULLER (1986), observaram que a soja micorrizada foi capaz de usar o P-lâbil, indicando que a presença do fungo MVA, proporcionou absorção do P da solução do solo, abaixo da concentração de equilíbrio, aumentando a desorção do P retido firmemente, pela diminuição da concentração do P-solúvel.

De acordo com BIELESKI (1973), a maior absorção de P por plantas M, poderia ser atribuída à maior taxa de conversão de P-inorgânico para P-orgânico observada nestas plantas, o que aumentaria o gradiente de P_i das raízes para as folhas e o dreno para fosfato, facilitando assim a absorção deste íon. ALLEN et alii (1981) em *Bouteloua gracilis* e PEREIRA et alii (1986) em soja, encontraram um teor de P-orgânico nas folhas maior nas plantas com micorriza.

O papel das fosfatases nas raízes de plantas ainda não está bem esclarecido. Segundo BIELESKI (1973), a maior

parte das fosfatases, provavelmente, localizam-se na superfície da membrana do vacúolo e há evidências, que as mesmas encontram-se na parede celular e superfície da plasmalema. As fosfatases, segundo o autor citado, podem estar envolvidas no transporte de P_i ou na hidrólise de P de ligação éster. / De acordo com MENGEL e KIRKBY (1982), as fosfatases participam do processo de absorção iônica, separando o grupo fosfato do complexo carregador na face interna da membrana, liberando o P_i no citoplasma. Fosfatases alcalinas são encontradas em arbúsculos e hifas de fungos micorrízicos (COOPER, 1984). Segundo esta autora, esta enzima parece ser de origem do fungo e pode estar envolvida no processo de absorção ativa de P.

Embora estas evidências existam, o efeito da relação P-inorgânico/P-orgânico e o envolvimento de fosfatases no processo de absorção de fósforo, são fatores ainda a serem esclarecidos.

Embora menores afinidades (maior K_m) do sistema de absorção e maiores C_{min} tenham sido observados com a diminuição do nível de nutrição da planta (Tabela 5), o influxo líquido de P por unidade de raiz, aumentou no mesmo sentido (Figura 3 e Tabela 7). Isto deve-se, principalmente, ao fato de que mudanças em $V_{máx}$ tem maior efeito na taxa de absorção por unidade de raiz, do que mudanças em K_m (VILELA e ANGHINONI, 1984); verifica-se que $V_{máx}$ aumentou com a diminuição do nível de nutrição (Tabela 5).

As plantas micorrizadas, apresentaram, em média, um influxo líquido de P por unidade de raiz, de 22% e 9% maior que as plantas não micorrizadas, respectivamente, para os níveis de nutrição 1 e 2 (M/NM, Tabela 7 e Figura 3). Embora as plantas M, tenham apresentado uma afinidade aparentemente menor do sistema de absorção de P (maior K_m), este foi, con

tudo, compensado pela maior velocidade de transporte deste sistema, o que pode ser atribuído à maior concentração ou giro do carregador (DREW et alii, 1984), bem como, ao maior número de sítios de absorção por unidade de raiz, conferidos pelos fungos (KARUNARATNE et alii, 1986).

Os resultados da Figura 3, indicam que para um mesmo influxo, as plantas submetidas aos níveis de nutrição mais baixos e micorrizadas, seriam mais eficientes em absorver P por unidade de raiz (necessitam de menor concentração de P na solução). Mas isto não significa que as plantas do nível de nutrição 1, tem maior capacidade de absorver P da solução, que as plantas mais bem nutridas, o que pode ser observado através do influxo líquido de P por planta (Figura 4). Esta foi calculada através da substituição da $V_{\text{máx}}$ de absorção de P por unidade de raiz ($\mu\text{moles P.g}^{-1}.\text{h}^{-1}$) na equação de Michaelis-Menten, pela $V_{\text{máx}}$ de absorção por planta ($\mu\text{moles P.planta}^{-1}.\text{h}^{-1}$). Neste caso, verifica-se uma inversão: para uma mesma taxa de absorção, as plantas do nível de nutrição 1, necessitam maior concentração de P na solução (Figura 4).

O influxo líquido de P por planta (Figura 4) foi em média, 50% e 20% maior nas plantas M (M/NM, Tabela 8) para os níveis de nutrição 1 e 2, respectivamente. Isto explica as diferenças observadas entre as plantas M e NM, em cada nível de nutrição, na exaustão do P da solução (Figura 2). Nos níveis de nutrição 1 e 2, as plantas M, com maior capacidade de absorção (Figura 4 e Tabela 8), esgotaram o P da solução mais rapidamente. No nível de nutrição 3, a inversão observada em baixas concentrações de P na solução (Figura 2), foi devido ao menor K_m das plantas NM, visto que a $V_{\text{máx}}$ praticamente não variou (Tabela 5).

Assim, tanto por unidade de raiz (Figura 3), quan

to por planta (Figura 4), as plantas M nos níveis de nutrição 1 e 2, a uma mesma concentração de P na solução, apresentaram um influxo líquido médio, respectivamente de 22 e 9% (Tabela 7) e 50 e 20% (Tabela 8), maior que as plantas NM.

Portanto, ficou indicado que a presença do fungo micorrízico em soja, aumentou a absorção de P por um processo puramente físico, aumentando o número de sítios de absorção, ou fisiológico, que pode ser atribuído à maior concentração ou giro mais rápido do carregador. Este efeito foi evidenciado em plantas obtidas em condições subótimas de P no meio, pois em condições ótimas, o efeito foi praticamente nulo.

Muitos são os trabalhos encontrados na literatura, mostrando o efeito benéfico da associação micorrízica em soja. Plantas com sistema radicular menos desenvolvidos são geralmente mais micotróficas (BAYLIS, 1975), e apresentam maior dependência à simbiose para a absorção de P (CRUSH, 1974). FERNANDES et alii (1987) encontraram para soja, uma dependência micorrízica 1,8 vezes superior a do milho.

Nas condições brasileiras, na maioria dos trabalhos envolvendo fungos micorrízicos em soja, as plantas foram colhidas na fase vegetativa, faltando portanto, informações sobre efeito desta simbiose durante o ciclo da planta e produção de grãos.

Resposta da planta hospedeira à colonização por fungos micorrízicos vesículo-arbusculares (MVA), depende de uma série de fatores bióticos e ambientais (BETHLENFALVAY et alii, 1982c), sendo a disponibilidade de P no meio, segundo SIQUEIRA (1986), o mais importante fator edáfico que afeta as MVA, pois exerce um efeito controlador sobre o grau de colonização das raízes pelo fungo. Embora os mecanismos envolvidos não estejam completamente esclarecidos, evidências sugerem que o

P controla a colonização via planta (SANDERS, 1975 e MENGE et alii, 1978), surgindo algumas hipóteses envolvendo enzimas (WOOLHOUSE, 1975), permeabilidade de membranas com exsudação de açúcares e aminoácidos pelas raízes (RATNAYAKE et alii, 1978) e produção e translocação de carboidratos (SIQUEIRA, et alii, 1984).

Independentemente da idade da planta, não foi observado um efeito definido das doses de P sobre a colonização das raízes (Figura 3). A dose de 90 ppm de P, não reduziu significativamente a colonização, como a princípio era de se esperar. O aumento das doses de P, aumentou os teores de P no solo (Tabela 3) e nos tecidos (Figura 12), mas, provavelmente, o nível de concentração no solo (NELSEN et alii, 1981) e na planta (MENGE et alii, 1978), inibitórios à colonização, não foram alcançados.

As doses de P aplicadas, não afetaram também a tendência de colonização das raízes pelo fungo, em função da idade da planta (Figura 5). As três fases de colonização observadas, concordam com as relatadas por SUTTON (1973), também com soja. A fase de colonização lenta, que vai até aos 40 dias, é devido, provavelmente, ao tempo requerido para a germinação dos esporos, crescimento do tubo germinativo e penetração na raiz do hospedeiro (SUTTON, 1973; SAIF, 1975). Segundo estes autores, a fase logarítmica de colonização, observada dos 40 aos 60 dias, ocorre devido à formação de novos esporos que podem germinar e infectar novas raízes. A fase de estabilização observada após 60 dias, deve estar relacionada à formação de órgãos reprodutivos da planta, os quais, segundo BETHLENFALVAY et alii (1982c), promovem uma alocação intensa de nutrientes e carboidratos das partes vegetativas, restringindo assim, o crescimento do endófito. A alocação de carbono para o fungo simbiote decresceu de 17% do total de fotossintatos na 6ª semana, para

8% na 9ª semana de idade da planta (HARRIS et alii, 1985).

O crescimento do hospedeiro em resposta à colonização por fungos MVA, varia largamente com a idade. Em soja, este efeito foi observado mais precocemente, 6 semanas após o plantio (CARLING et alii, 1979) ou mais tardiamente, após 10 e 13 semanas (BETHLENFALVAY et alii, 1982a e c). No presente trabalho, efeito da micorrização foi observado a partir de 40 dias de idade (Figura 7), aproximadamente 6 semanas após a germinação, sendo a magnitude deste efeito, função das doses de P aplicadas. Enquanto a resposta em crescimento é geralmente relacionada com o nível de nutriente no solo, a relação entre o estádio de crescimento e desenvolvimento dos parceiros simbióticos é raramente reportada. A justaposição do desenvolvimento do endófito (Figura 5) e do hospedeiro (Figura 7), é uma indicação da íntima relação entre os simbiotes.

Pelos resultados de produção de matéria seca total das plantas M e NM (Figuras 6 e 7), observa-se que as doses de P aplicadas, proporcionaram uma faixa de P disponível (Tabela 3), que permitiu a determinação da dose e do teor de P no substrato, que proporcionaram maior efeito da micorrização no crescimento e produção da soja. Um dos mais importantes aspectos do estudo da associação micorrízica, é a interação entre o fungo e a adubação fosfatada aplicada ao solo, visando obter-se um ponto de ótimo em produtividade (SAINZ e ARINES, 1988). Como os fungos MVA aumentam a absorção de P pelas plantas (AB-BOTT e ROBSON, 1982), mas altas doses de adubo fosfatado diminui a colonização das raízes (SIQUEIRA, 1986), uma situação existe, onde ocorre o máximo benefício da associação em função da fertilização fosfatada. O estudo desta interação é importante na prática, onde altas doses de P são necessárias para obter-se boa produtividade, particularmente para a soja, que os-

tenta outra simbiose, na fixação biológica do N₂ atmosférico, processo este altamente exigente em P (BAREA e AZCÓN - AGUILAR, 1983).

A faixa de doses de P que permitiu o máximo efeito da micorrização, na produção de matéria seca total em todo o ciclo da planta e na produção de grãos, calculado pelo ERM (Figura 8), foi de 40 a 50 ppm de P aplicado, correspondendo, respectivamente, 20 a 25 ppm de P disponível pelo método da resina. No final do ciclo, a micorrização promoveu nas doses de 43 e 44 ppm de P, aumentos estimados na produção de matéria seca total e de grãos, de aproximadamente 350 e 400%, respectivamente. Portanto, doses abaixo de 40 e acima de 50 ppm P aplicado, reduziram o efeito da micorrização no crescimento e produção, embora, o crescimento micotrófico foi observado em toda a faixa de doses estudada (Figura 8). FERNANDES et alii (1987), em soja cultivada em Latossolo Roxo distrófico muito argiloso e inoculada com *Glomus macrocarpum*, encontraram o máximo efeito da micorrização na dose de 60 ppm de P, correspondendo 37 ppm de P disponível pela resina; efeito depressivo da colonização na produção de matéria seca foi obtido apenas na dose de 300 ppm P, correspondendo 126 ppm de P disponível pela resina. Portanto, a faixa de P disponível usada no presente trabalho (4,2 a 32,9 ppm pela resina, Tabela 3), não foi suficientemente baixa ou alta para conferir à simbiose natureza parasítica (BETHLENFALVAY et alii, 1982a, b e 1983) e concordando com SIQUEIRA (1986), que os maiores benefícios da micorrização sobre o crescimento e produção, ocorrem em condições subótimas de P no meio. Entretanto, o efeito da associação endomicorrízica, estaria vinculado a um teor mínimo de disponibilidade de P no solo (MIRANDA, 1982).

A micorrização da soja promoveu também, uma diminuição de 43% na dose de P e, 22,5% no teor de P disponível no substrato, para obter-se 90% da produção máxima de grãos (Fi

gura 9). Isto, na prática, corresponde a uma sensível economia na adubação, visto que, nas condições brasileiras, o adubo fosfatado é o mais aplicado nesta cultura, sem esquecer, que a micorrização confere outros benefícios, como exemplo, maior fixação biológica do nitrogênio (Figura 10). A dose (58 ppm de P, Figura 9) e o nível de P disponível correspondente (26,5 ppm de P) que proporcionaram 90% da produção máxima de grãos pelas plantas M, estão próximos da faixa de doses (40 a 50 ppm) e de teores (20 a 25 ppm) que proporcionaram o máximo efeito da micor-rização (Figura 8). Este tipo de conhecimento é importante na prática, para um manejo adequado da adubação, visando o máximo benefício desta associação.

O maior crescimento e produção das plantas micorrizadas, provavelmente, foi devido à maior absorção de P (Fi-gura 12), uma vez que ocorreu crescimento aproximadamente seme-lhante das plantas não micorrizadas, quando nestas se aplica-ram doses de P três vezes maiores, o que se observa, comparando-se as doses 10 e 30 e, 30 e 90 ppm de P, para as plantas M e NM, respectivamente (Figura 6). Este aumento na absorção de P, certamente conferiu melhor desempenho dos processos metabóli-cos da planta M, principalmente a fixação biológica do nitrogê-nio (SHANMUGAM et alii, 1978), cujos parâmetros medidos, apre-sentaram a mesma tendência do crescimento (Figura 10), atuando como efeito somatório no crescimento e produção da planta.

A maior absorção de P pelas plantas micorriza-das tem sido atribuído à exploração de maior volume de solo pelas hifas extra-radiciais do fungo (RHODES e GERDEMANN, 1975), permitindo sua absorção além da zona de esgotamento que se de-senvolve ao redor das raízes, diminuindo a distância a ser vencida, para que o P, pelo processo de difusão, entre em contato com as raízes. Associado a esta maior exploração do solo, a

maior capacidade das raízes micorrizadas em absorver P sob condições de baixa concentração, também deve ser considerada, como demonstrado no Experimento 1 (Cinética de absorção de fosfato) para a soja micorrizada submetida aos níveis de nutrição baixo e médio; as plantas micorrizadas, a uma dada concentração de P na solução, absorvem maior quantidade deste nutriente por unidade de raiz (Figura 3) ou por planta (Figura 4). Além de apresentarem menor $C_{\text{mín}}$, ou seja, mantêm um influxo líquido de P positivo, a concentrações externas menores. Em meio inerte (BETHLENFALVAY et alii, 1982a) e em solo (BETHLENFALVAY et alii, 1982c), o micotrofismo entre a soja e o *Glomus fasciculatum*, só foi observado, quando o nível de P disponível no meio, baixou para valores menores que 10 µg P/g, indicando que em concentrações baixas no meio, as raízes micorrizadas absorvem o P mais eficientemente, confirmando o fato acima relatado.

A produção de matéria seca total e de grãos pela soja, em função das doses de P aplicadas (Figura 6), mostram uma relação parabólica para as plantas M e uma tendência sigmóide para as NM. Esta relação sigmóide para plantas NM tem sido observadas (LAMBERT et alii, 1979; BOLAN et alii, 1983; SALLINAS, 1985; PEREIRA, 1986) e, segundo BOLAN et alii (1983), a resposta sigmóide de crescimento em função das doses de P, pode ser atribuída à ocorrência de uma concentração limite de P na solução do solo, abaixo da qual o elemento é pouco absorvido. Entretanto, as plantas micorrizadas, como comentado acima, apresentando um influxo de P positivo em concentrações mais baixas, associado à exploração de maior volume de solo pelas hifas, permite respostas crescentes no desenvolvimento da planta, mesmo em teores baixos do nutriente no meio (Figura 6). Como a fixação biológica do nitrogênio é um processo altamente exigente em P (SHANMUGAN et alii, 1978), as mesmas tendências

foram observadas para os parâmetros avaliados (Figura 10).

Neste trabalho, verificou-se que a micorrização da soja, influenciou positivamente a nodulação e a atividade da Nase (Figura 10), sendo os máximos efeitos observados nas doses intermediárias de P, tendência semelhante à observada para a produção de matéria seca e de grãos (Figura 6). Isto mostra, que houve íntima relação entre o fungo MVA, fixação de N_2 pelo rizóbio e o crescimento e produção da soja.

Não está esclarecida a verdadeira natureza da interação entre o rizóbio e os fungos MVA em leguminosas, mas, a melhor nutrição fosfatada da planta micorrizada, deve ser responsável por boa parte dos resultados obtidos no aumento da nodulação e na fixação do N_2 (CARDOSO, 1986b). Segundo PACOVSKY et alii (1986b), o sinergismo observado entre o fungo MVA, a leguminosa e o rizóbio, seria um ciclo autocatalítico, onde a melhor nutrição fosfatada e nitrogenada (conferidas pela MVA e rizóbio, respectivamente), aumentariam a fotossíntese, a qual, por sua vez, estimularia a atividade da Nase e da micorriza, levando por fim, ao maior crescimento e produção do hospedeiro; portanto, os microssimbiontes, apresentam efeitos complementares (CARLING et alii, 1978). A absorção de micronutrientes essenciais à nodulação e fixação do N_2 , é aumentada pela colonização (SMITH et alii, 1979). Efeitos hormonais, estimulados pela presença dos simbiotes (CARDOSO, 1986b), podem também contribuir para a efetividade da associação tríplice. Segundo ASIMI et alii (1980), a bactéria pode beneficiar-se preferencialmente da presença simultânea dos dois microssimbiontes, especialmente se o fosfato transportado do solo pelo fungo, for diretamente disponível ao nódulo. Mas, de acordo com CRUSH (1974) e SMITH et alii (1979), usualmente, os tecidos dos nódulos não são colonizados pelo fungo MVA, embora, CARDOSO (1986b), citan-

Kucey et alii e Lin, relatou a presença de vesículas e esporos no interior de nódulos de feijoeiro e trevo. A observação de que a fertilização fosfatada, foi capaz de produzir o mesmo efeito que o fungo MVA na fixação de N_2 pela soja, levou CARLING et alii (1978) concluírem que o fungo não tem efeito direto sobre o rizóbio e sim, indiretamente sobre a fixação de N_2 , devido a maior absorção de P.

Neste trabalho, a micorrização da soja promoveu aumentos significativos na nodulação e atividade dos nódulos nas doses intermediárias de P (Figura 10) e, tal como observado para o crescimento e produção (Figura 6), o mesmo efeito só foi verificado nas plantas NM, com aplicação de doses de P aproximadamente 3 vezes superior.

Segundo CARDOSO (1986b), a maioria dos trabalhos que estudam o efeito dos fungos MVA na atividade dos nódulos, apresentam seus resultados sob a forma de $\mu\text{moles de etileno produzido . planta}^{-1} . \text{h}^{-1}$ e, devido a planta M possuir maior massa nodular, terá portanto, maior atividade da nitrogenase. Maior interesse existe em saber se também ocorre aumento na atividade específica da enzima, ou seja, $\mu\text{moles de etileno produzido . grama nódulos}^{-1} . \text{h}^{-1}$. Na Figura 10, verifica-se que a micorrização da soja promoveu aumentos significativos na atividade específica da nitrogenase nas doses baixas e intermediárias de P, igualando-se nas doses maiores. Aumentos na fixação do N_2 pelo rizóbio, devido à micorrização da soja foi verificado por PACOVSKY et alii (1986a) em meio inerte, cuja fonte de P aplicada foi a hidroxiapatita ($8,8 \mu\text{g.g}^{-1}$ de P disponível em NaHCO_3); 80% foi atribuído à maior massa nodular e 20% devido à atividade específica do nódulo.

Embora a micorrização da soja promoveu maior fixação de N_2 nas doses intermediárias de P aplicado, as concen-

trações de N nas folhas destas plantas foram menores (Figura 11). Isto, provavelmente, foi devido a um crescimento proporcionalmente maior da planta M, que a fixação do N₂ nestas doses, caracterizando o chamado efeito de diluição (JARREL e BEVERLY, 1981). O efeito da micorrização no crescimento foi observado a partir dos 40 dias de idade da planta (Figuras 7 e 8), explicando a diminuição na concentração de N nas folhas, também a partir desta época (Figura 11). A tendência de diminuição da concentração de N com o aumento da idade das plantas, é explicada pelo fato de ser o N um nutriente móvel na planta, translocando-se dos órgãos vegetativos para os reprodutivos e, com o aumento das doses de P numa mesma idade, dado o efeito de diluição.

Ressalta-se que neste trabalho, são apresentados os teores dos nutrientes nas folhas, visto que, segundo MALVOLTA (1980), a folha é o órgão que melhor reflete o estado nutricional da planta inteira, ou seja, é o órgão mais sensível às variações de disponibilidade de nutrientes no meio; também, onde ocorre os principais processos biossintéticos da planta.

A micorrização promoveu aumentos na concentração de P nas folhas em todas as épocas de colheita (Figura 12), observando-se que as maiores diferenças entre as plantas M e NM, ocorreram aos 40 dias de idade. Este fato, provavelmente, foi devido a uma absorção adicional de P pelas raízes colonizadas, promovendo portanto, sua concentração nos tecidos, mesmo apresentando nesta época, taxa de colonização relativamente baixa (Figura 5). A partir dos 40 dias, houve tendência dos teores igualem-se (Figura 12). Dois fatores, provavelmente, contribuíram para este fato: crescimento das plantas M proporcionalmente maior que a absorção de P a partir desta idade (Figura 7), mesmo apresentando uma taxa de colonização intensa dos 40

aos 60 dias, que se estabilizou após (Figura 5); tal como o N, o P é um nutriente móvel na planta, sendo translocado dos órgãos vegetativos para as vagens em crescimento, associado às evidências que esta translocação é maior nas plantas M, relativamente às NM (Figura 18). Esta mobilidade do P nos tecidos, também pode explicar a diminuição dos teores nas folhas com o aumento da idade da planta.

O coeficiente de utilização de fósforo (CUP, g matéria seca . mg P acumulado⁻¹), foi menor em plantas M dos 40 aos 80 dias, sendo que no final do ciclo, praticamente os mesmos valores foram observados (Figura 13). Isto, provavelmente, foi devido à absorção de P pelas raízes colonizadas, proporcionalmente maior que o crescimento, até aos 40 dias de idade, promovendo portanto, a concentração do P nos tecidos (Figura 12) e, conseqüentemente, reduzindo a CUP das plantas M. Contrariamente, o crescimento destas plantas a partir dos 40 dias (Figura 7), foi proporcionalmente superior à absorção de P, promovendo assim, uma melhor utilização do P anteriormente acumulado. Portanto, o menor CUP observado para plantas M foi transitório, expressando-se em maior magnitude nas fases vegetativas do ciclo da planta. Assim, os menores valores de CUP observados por PEREIRA (1986) para soja micorrizada aos 45 dias de idade, pode ser devido aos fatores acima comentados. STRIBLEY et alii (1980), sugeriram que a maior concentração de P nos tecidos de plantas micorrizadas, resulta da maior absorção de fósforo e, paralelamente, menor taxa de acúmulo de matéria seca, em virtude do dreno de carboidratos exercido pelo fungo MVA. BAHIA FILHO e BRAGA (1975) sugerem a existência de consumo de luxo de P pelo vegetal, quando a quantidade aplicada for superior ao nível de P necessário para a produção máxima de matéria seca.

O efeito do fungo MVA sobre a absorção e utilização de outros nutrientes além do P e N, tem mostrado resultados inconsistentes (CARDOSO, 1985). Para o K, aparentemente, parece ter havido aumentos na absorção devido à colonização, apresentando a tendência observada para o P, pois aos 40 dias de idade a concentração nas folhas foi maior nas plantas M, não observando-se diferenças nas outras épocas (Figura 14). O efeito de concentração de K está descartado, pois nesta época de colheita (40 dias) as plantas M tiveram produções de matéria seca superiores às NM (Figuras 6 e 8). SMITH et alii (1981) mostraram que a infecção de raízes de *Trifolium subterraneum* com fungo micorrízico, melhora a absorção de K quando as concentrações internas desse nutriente são geralmente baixas. No presente trabalho, segundo ROSOLEM (1980), os teores de K observados nas folhas (Figura 14), encontram-se em níveis adequados, visto que no substrato, de acordo com RAIJ et alii (1985), o K encontrava-se em teores médios (Tabela 3), e ainda foi realizada uma adubação básica adequada. A absorção de cobre (Figura 16), tal como observada para o K, aparentemente foi favorecida pela micorrização, encontrando-se teores maiores nas folhas das plantas M aos 40 e 60 dias. Para o S (Figura 15) e o Zn (Figura 17), fica caracterizado o efeito de diluição nos tecidos, na faixa de doses de P que promoveu maior efeito da micorrização no crescimento. Devido ao grande crescimento das plantas micorrizadas a partir dos 40 dias (Figura 7), a produção de matéria seca foi proporcionalmente maior que a absorção destes nutrientes, promovendo a diluição dos mesmos nos tecidos.

A micorrização da soja promoveu, a partir dos 40 dias de idade, aumentos na acumulação de todos os nutrientes avaliados (Figuras 11, 12, 14, 15, 16 e 17). Isto, certamente, foi devido ao maior crescimento das plantas M a partir

desta idade (Figura 7), visto que a acumulação é função do teor do nutriente no tecido e da produção de matéria seca. Assim, as mesmas tendências de crescimento observadas em cada época de colheita, em função das doses de P (Figura 6), também foram observadas para a acumulação dos nutrientes, sendo os maiores efeitos verificados nas doses intermediárias de P. Portanto, a comparação da quantidade total de nutrientes acumulados em planta M e NM, não é um método capaz de determinar se o efeito da MVA foi sobre a absorção de nutrientes ou consequência indireta do P, promovendo maior fixação de N_2 e maior crescimento.

Na Figura 18, observa-se que as plantas micorrizadas, proporcionalmente, acumularam mais nutrientes nas vagens do que as não micorrizadas. Como a matéria seca de vagens representou 43,6 e 44,0% do total de matéria seca produzida pelas plantas M e NM, respectivamente, portanto, proporcionalmente iguais e, o acúmulo dos nutrientes nas folhas e no caule das plantas micorrizadas, foram relativamente menores que nas não micorrizadas (Figura 18), fica evidenciado, que as plantas M promovem maior realocação dos nutrientes das partes vegetativas para as reprodutivas. Não foram encontradas na literatura, referências a respeito deste fato, faltando portanto maiores estudos para a confirmação e explicação desta evidência. Assim, além do aumento da produção, a colonização por MVA pode também alterar a qualidade e o valor comercial do produto,

Portanto, ficou evidenciado neste trabalho, a influência dos fungos MVA nos parâmetros cinéticos de absorção de fosfato (K_m , $V_{m\acute{a}x}$ e $C_{m\acute{i}n}$), na nutrição, crescimento e produção da soja, sob condições de baixa disponibilidade de P e N, condições estas predominantes nos solos das regiões tropicais. Assim, o manejo adequado das populações nativas ou a introdução de espécies ecologicamente adaptadas, permitiria eco-

nomia nas quantidades e aumento na eficiência dos adubos fosfatados, bem como dos nitrogenados, visto a influência da micorrização na nodulação e na fixação do N_2 atmosférico.

6. CONCLUSÕES

Nas condições em que foram desenvolvidas as pesquisas, os resultados obtidos permitem as seguintes conclusões:

(1) A micorrização e os níveis de nutrição, afetaram os parâmetros cinéticos de absorção de fosfato pela soja;

(2) As plantas colonizadas pelo fungo MVA, apresentaram valores de K_m e $V_{m\acute{a}x}$, 28 e 33%, respectivamente, maiores que as não colonizadas, no nível de nutrição 1, com tendência de diminuição dos valores absolutos e nas diferenças, com o aumento do nível de nutrição;

(3) A $C_{m\acute{i}n}$ foi 62% menor nas plantas micorrizadas no nível de nutrição 1, com tendência de igualarem-se com o aumento do nível de nutrição;

(4) A micorrização promoveu um aumento médio no influxo líquido de P, nos níveis de nutrição 1 e 2, respectivamente, de 22 e 9% por grama de raiz fresca por hora e de 50 e 20% por planta por hora;

(5) A dinâmica de colonização das raízes, apresentou as seguintes fases: (a) lenta - da germinação até aos 40 dias; (b) extensiva - dos 40 aos 60 dias e, (c) estabilização - a partir dos 60 dias de idade da planta;

(6) O efeito da micorriza no crescimento da so-

ja, foi observado a partir dos 40 dias, crescente com a idade e influenciado pelas doses de P;

(7) O crescimento foi micotrófico em toda a faixa de doses aplicadas, sendo que o maior efeito ocorreu na faixa de 40 a 50 ppm de P aplicado, correspondendo aproximadamente 20 a 25 ppm de P-disponível pelo método da resina, promovendo aumentos de 350 e 400% na produção de matéria seca total e de grãos, respectivamente;

(8) Para obter-se 90% da produção máxima, a inoculação com *Glomus macrocarpum* promoveu uma redução de 43% na dose de P e 22,5% no nível crítico de P-disponível no substrato, pelo método da resina;

(9) Aumentos no número e peso dos nódulos e na atividade da nitrogenase por planta e específica, foram observados nas doses intermediárias de P, devido à micorrização;

(10) Aumentos nas concentrações de P, K e Cu nas folhas, devido à micorrização, foram observados aos 40 dias de idade da planta e, a partir desta idade, diminuição nas concentrações de N, S e Zn, nas doses intermediárias de P;

(11) O coeficiente de utilização do P acumulado foi transitoriamente menor nas plantas micorrizadas, durante a fase vegetativa da mesma;

(12) Plantas micorrizadas apresentaram maior a localização dos nutrientes das partes vegetativas para as vagens.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABBOTT, L.K. & ROBSON, A.D. The role of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi in agriculture and the selection of fungi for inoculation. Australian Journal of Agricultural Research, Melbourne, 33: 389-408, 1982.
- ALLEN, M.F.; MOORE JR., T.S.; CHRISTENSEN, M. Phytohormone changes in *Bouteloua gracilis* infected by vesicular-arbuscular mycorrhizae. I - Citokinin increases in the host plant. Canadian Journal of Botany, Ottawa, 58: 371-374, 1980.
- ALLEN, M.F.; SMITH, W.K.; MOORE, S.M.; CHRISTENSEN, M. Comparative water relations and photosynthesis of mycorrhizal and non-mycorrhizal *Bouteloua gracilis*. New Phytologist, Oxford, 88: 683-93, 1981.
- ALLEN, M.F.; MOORE, T.S. Jr.; CHRISTENSEN, M. Phytohormone changes in *Bouteloua gracilis* infected by vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. II - Altered levels of gibberellin-like substances and abscisic acid in the host plant. Canadian Journal of Botany, Ottawa, 60: 468-71, 1982.
- AMES, R.N.; REID, C.P.P.; PORTER, L.K. CAMBARDELLA, C. Hyphal uptake and transport of nitrogen from two N-labelled sources by *Glomus mossae*, a vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus. New Phytologist, Oxford, 95: 381-96, 1983.
- ANDA. Consumo de fertilizantes no Brasil. Solos e Adubos, São Paulo, Associação Nacional para Difusão de Adubos e Corretivos. 20(143): 4-5, 1987.

- ASHER, C.J. & EDWARDS, D.J. Critical external concentrations for nutrient deficiency and excess. In: INTERNATIONAL COLLOQUIUM ON PLANT ANALYSIS AND FERTILIZER PROBLEMS, 8, Wellington, 1978. p.13-28.
- ASIMI, S.; GIANINAZZI-PEARSON, V.; GIANINAZZI, S. Influence of increasing soil phosphorus levels on interactions between vesicular-arbuscular mycorrhizae and *Rhizobium* in soybeans. Canadian Journal of Botany, Ottawa, 58: 2200-5, 1980.
- AZCÓN-AGUILAR, C.; GIANINAZZI-PEARSON, V.; FARDEAU, J.C.; GIANINAZZI, S. Effect of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi and phosphate-solubilizing bacteria on growth and nutrition of soybean in a neutral-calcareous soil amended with ^{32}P - ^{45}Ca -tricalcium phosphate. Plant and Soil, The Hague, 96: 3-15, 1986.
- BAATH, E. & HAYMAN, D.S. Effect of soil volume and plant density on mycorrhizal infection and growth response. Plant and Soil, The Hague, 77: 373-6, 1984.
- BAGYARAJ, D.J.; MANJUNATH, A.; PATIL, R.B. Interaction between a vesicular arbuscular mycorrhiza and *Rhizobium* and their effects on soybean in the field. New Phytologist, Oxford, 82: 141-5, 1979.
- BAHIA FILHO, A.F.C. & BRAGA, J.M. Fósforo em Latossolos do Estado de Minas Gerais. III. Índices de disponibilidade de fósforo e crescimento vegetal. Experientiae, Viçosa, 20: 218-33, 1975.

- BAREA, J.M. & AZCÓN-AGUILAR, C. Mycorrhizas and their significances in nodulating nitrogen fixing plants. Advances in Agronomy, New York, 36: 1-54, 1983.
- BAYLIS, G.T.S. The magnolioid mycorrhiza and mycotrophy in root systems derived from it. In: SANDERS, F.E.; MOSSE, B.; TINKER, P.B. eds. Endomycorrhizas, London, Academic Press, 1965. p.373-89.
- BEEVER, R.E. & BURNS, D.J.W. Phosphorus uptake, storage and utilization by fungi. Advances in Botany Research, New York, 8: 127-219, 1980.
- BETHLENFALVAY, G.J. & YODER, J.F. The Glycine-Glomus-Rhizobium symbiosis. I - Phosphorus effect on nitrogen fixation and mycorrhizal infection. Physiologia Plantarum, Copenhagen, 52: 141-5, 1981.
- BETHLENFALVAY, G.J.; BROWN, M.S.; PACOVSKY, R.S. Parasitic and mutualistic associations between a mycorrhizal fungus and soybean: development of the host plant. Phytopathology, St. Paul, 72: 889-97, 1982a.
- BETHLENFALVAY, G.J.; PACOVSKY, R.S.; BROWN, M.S. Parasitic and mutualistic associations between a mycorrhizal fungus and soybean: Development of the endophyte. Phytopathology, St. Paul, 72: 894-7, 1982b.
- BETHLENFALVAY, G.J.; PACOVSKY, R.S.; BROWN, M.S.; FULLER, G. Mycotrophic growth and mutualistic development of host plant and fungal endophyte in an endomycorrhizal symbiosis. Plant and Soil, The Hague, 68: 43-54, 1982c.

- BETHLENFALVAY, G.J. & PACOVSKY, R.S. Light effects in mycorrhizal soybeans. Plant Physiology, Lancaster, 73: 969-72, 1983.
- BETHLENFALVAY, G.J.; BAYNE, H.C.; PACOVSKY, R.S. Parasitic and mutualistic associations between a mycorrhizal fungus and soybean: The effect of phosphorus on host plant endophyte interactions. Physiologia Plantarum, Copenhagen, 57: 543-8, 1983.
- BETHLENFALVAY, G.J.; BROWN, M.S.; MIHARA, K.L.; STAFFORD, A.E. Glycine-Glomus-Rhizobium symbiosis. V. Effects of mycorrhiza on nodule activity and transpiration in soybeans under drought stress. Plant Physiology, Lancaster, 85: 115-9, 1987.
- BIELESKI, B.L. Phosphate pools, phosphate transport, and phosphate availability. Annual Review of Plant Physiology, Palo Alto, 24: 225-52, 1973.
- BIELESKI, R.L. & FERGUSON, I.B. Physiology and metabolism of phosphate and its compounds. In: LAUCHLI, A. & BIELESKI, R. L. eds. Encyclopedia of Plant Physiology: Inorganic Plant Nutrition. Berlin, Springer-Verlag, 1983. 15A: 422-49.
- BOLAN, N.S.; ROBSON, A.D.; BARROW, N.J. Plant and soil factors including mycorrhizal infection causing sigmoidal response of plants to applied phosphorus. Plant and Soil, The Hague, 73: 187-202, 1983.
- BOWEN, G.D.; SKINNER, M.F.; BEVEGE, D.I. Zinc uptake by mycorrhizal and uninfected roots of *Pinus radiata* and *Araucaria cunninghamii*. Soil Biology and Biochemistry, Oxford, 6: 141-8, 1974.

- CARDOSO, E.J.B.N. Efeito de micorriza vesículo-arbuscular e de fosfato de rocha nas culturas de soja e feijão. Piracicaba, 1984. 220p. (Livre-docência - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"/USP).
- CARDOSO, E.J.B.N. Efeito de micorriza vesículo-arbuscular e fosfato de rocha na simbiose soja-Rhizobium. Revista brasileira de Ciência do Solo, Campinas, 9: 125-30, 1985.
- CARDOSO, E.J.B.N. Eficiência de fungos micorrízicos vesículo-arbusculares em soja, com *Rhizobium japonicum* e fosfato de rocha, em função do tipo de solo. Revista brasileira de Ciência do Solo, Campinas, 10: 17-23, 1986a.
- CARDOSO, E.J.B.N. Interação micorrizas-microrganismos não fitopatogênicos. In: REUNIÃO BRASILEIRA SOBRE MICORRIZAS, 1, Lavras, 1986b. Anais, p.60-75.
- CARLING, D.E.; RIEHLE, W.G.; BROWN, M.F.; JOHNSON, D.R. Effects of a vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus on nitrate reductase and nitrogenase activities in nodulating and non-nodulating soybean. Phytopathology, St. Paul, 68: 1590-6, 1978.
- CARLING, D.E.; BROWN, M.F.; BROWN, R.A. Colonization rates and growth responses of soybean plants infected by vesicular-arbuscular fungi. Canadian Journal of Botany, Ottawa, 57: 1769-72, 1979.
- CARTWRIGHT, B. The effect of phosphate deficiency on the kinetics of phosphate absorption by sterile excised barley roots, and some factors affecting the ion uptake efficiency of roots. Soil Science and Plant Analysis, 3: 313-22, 1972.

- CARVALHO, J.G. Efeito de deficiências minerais na absorção de fósforo pelo arroz (*Oryza sativa* L.). Piracicaba, 1987. 72p. (Doutorado - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"/USP).
- CLAASSEN, N. & BARBER, S.A. A method of characterizing the relation between nutrient concentration and flux into roots of intact plants. Plant Physiology, Lancaster, 54: 564-8, 1974.
- CLARKSON, D.T. Factors affecting mineral nutrient acquisition by plants. Annual Review of Plant Physiology, Palo Alto, 36: 77-115, 1985.
- COOPER, K.M. & TINKER, P.B. Translocation and transfer of nutrients in vesicular-arbuscular mycorrhizas. II. Uptake and translocation of phosphorus, zinc and sulphur. New Phytologist, Oxford, 81: 43-52, 1978.
- COOPER, K.M. Physiology of VA mycorrhizal associations. In: POWELL, C.L. & BAGYARAJ, D.J. eds. VA Mycorrhiza, Boca Raton, CRC Press, 1984. p.155-86.
- COX, G.; SANDERS, F.E.; TINKER, P.B.; WILD, J.A. Ultrastructural evidence relating to host-endophyte transfer in a vesicular-arbuscular mycorrhiza. In: SANDERS, F.E.; MOSSE, B.; TINKER, P.B. eds. Endomycorrhizas, London, Academic Press, 1975. p.297-312.

- COX, G. & TINKER, P.B. Translocation and transfer of nutrients in vesicular-arbuscular mycorrhizas. I. The arbuscule and phosphorus transfer: a quantitative ultrastructural study. New Phytologist, Oxford, 77: 371-8, 1976.
- CRESS, W.A.; THRONEBERRY, G.O.; LINDSEY, D.L. Kinetics of phosphorus absorption by mycorrhizal and non-mycorrhizal tomato roots. Plant Physiology, Lancaster, 64: 484-7, 1979.
- CRUSH, J.R. Plant growth responses to vesicular-arbuscular mycorrhiza. VIII. Growth and nodulation of some herbage legumes. New Phytologist, Oxford, 73: 743-49, 1974.
- DANIELS, B.A. & TRAPPE, J.M. Factors affecting spore germination of the vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus, *Glomus epigaeus*. Mycologia, New York, 72: 457-71, 1980.
- DREW, M.C.; SAKER, L.R.; BARBER, S.A.; JENKINS, W. Changes in the kinetics of phosphate and potassium absorption in nutrient-deficient barley roots measured by a solution-depletion technique. Planta, New York, 160: 490-9, 1984.
- EPSTEIN, E. & HAGEN, C.E. A kinetic study of the absorption of alkali cations by barley roots. Plant Physiology, Lancaster, 27: 457-74, 1952.
- EPSTEIN, E. Dual pattern of ion absorption by plant cells and by plants. Nature, London, 212: 1324-7, 1966.
- EDWARDS, J.H. & BARBER, S.A. Phosphorus uptake rate of soybean roots as influenced by plant age, root trimming, and solution P concentration. Agronomy Journal, Madison, 68: 973-5, 1976.

- FERGUSON, J.J. & MENGE, J.A. The influence of light intensity and artificially extended photoperiod upon infection and sporulation of *Glomus fasciculatus* of sudan grass and on root exsudation of sudan grass. New Phytologist, Oxford, 92: 183-91, 1982..
- FERNANDES, A.B.; SIQUEIRA, J.O.; MENEZES, M.A.L.; GUEDES, G.A. A. Efeito diferenciado do fósforo sobre o estabelecimento e efetividade da simbiose endomicorrízica em milho e soja. Revista brasileira de Ciência do Solo, Campinas, 11: 101-8, 1987.
- FONTES, P.C.R.; BARBER, S.A.; WILCOX, G.E. Prediction of phosphorus uptake by two tomato cultivars growing under insufficient and sufficient phosphorus soil conditions using a mechanistic mathematical model. Plant and Soil, The Hague, 94: 87-97, 1986.
- GANRY, F.; DIEM, H.G.; DOMMERGUES, Y.R. Effect of inoculation with *Glomus mosseae* on nitrogen fixation by field-grown soybeans. Plant and Soil, The Hague, 68: 321-9, 1982.
- GERDEMANN, J.W. Vesicular-arbuscular mycorrhiza and plant growth. Annual Review of Phytopathology, Palo Alto, 6: 397-418, 1968.
- GERDEMANN, J.W. & NICOLSON, T.H. Spores of mycorrhizal *Endogone* extracted from soil by wet sieving and decanting. Transactions of the British Mycological Society, London, 46: 235-44, 1970.

- GERDEMANN, J.W. & TRAPPE, J.M. The endogonaceae of the Pacific Northwest. New York, The New York Botanical Garden, 1974. 75p. (Mycologia Memoir, 5).
- GIANINAZZI-PEARSON, V.; FARDEAU, J.C.; ASIMI, S.; GIANINAZZI, S. Source of additional phosphorus absorbed from soil by vesicular-arbuscular mycorrhizal soybeans. Physiologie Végétale, Paris, 19: 33-43, 1981.
- GILDON, A.; TINKER, P.B. Interactions of vesicular-arbuscular mycorrhizal infections and heavy metals in plant. II. The effects of infection on the uptake of cooper. New Phytologist, Oxford, 95: 263-8, 1983.
- GIOVANETTI, M.D. & MOSSE, B. An evaluation of techniques for measuring vesicular-arbuscular mycorrhizal infection in roots. New Phytologist, Oxford, 84: 489-500, 1980.
- GRAY, L.E. & GERDEMANN, J.W. Uptake of sulphur-35 by vesicular-arbuscular mycorrhizae. Plant and Soil, The Hague, 39: 687-9, 1973.
- HARRIS, D.; PACOVSKY, R.S.; PAUL, E.A. Carbon economy of soybean-Rhizobium-Glomus association. New Phytologist, Oxford, 101: 427-40, 1985.
- HAYMAN, D.S. & MOSSE, B. Plant growth responses to vesicular-arbuscular mycorrhiza. III. Increased uptake of labile P from soil. New Phytologist, Oxford, 71: 41-7, 1972.
- HAYMAN, D.D. Endomycorrhizas. In: DOMMARGUES, Y.R. & KRUPA, S.V., eds., Interactions between non-pathogenic soil microorganisms and plants. Elsevier Science Publ. Co., Amsterdam, 1978. p.401-458.

- HAYMAN, D.S. The physiology of vesicular-arbuscular endomycorrhizal symbiosis. Canadian Journal of Botany, Ottawa, 61: 944-63, 1983.
- HO, I. & TRAPPE, J.M. Translocation of ^{14}C from festuca plants to their endomycorrhizal fungi. Nature, London, 243-30-1, 1973.
- HOAGLAND, O.R. & ARNON, O.I. The water-culture method for growing plants without soil. California, Agr. Exp. Stn, 1950. 32p. (Circular, 37).
- HOSHIKA, E.; PAULA, M.A.; SIQUEIRA, J.O.; OLIVEIRA, E. Populações nativas de fungos micorrízicos vesículo-arbuscular no crescimento e produção de soja. In: REUNIÃO BRASILEIRA SOBRE MICORRIZAS, II, Resumos, São Paulo, SP, 1987. p.8.
- JARRELL, W.M. & BEVERLY, R.B. The dilution effect in plant nutrition studies. Advances in Agronomy, New York, 34: 197-224, 1981.
- JUNGK, A. & BARBER, S.A. Plant age and the phosphorus uptake characteristics of trimmed and untrimmed corn root system. Plant and Soil, The Hague, 42: 227-39, 1975.
- KARUNARATNE, R.S.; BAKER, J.H.; BARKER, A.V. Phosphorus uptake by mycorrhizal and non-mycorrhizal roots of soybeans. Journal of Plant Nutrition, New York, 9: 1303-13, 1986.
- LAMBERT, D.H.; BAKER, D.E. & COLE Jr., H. The role of mycorrhizae in the interactions of phosphorus with zinc, copper, and other elements. Soil Science Society of American Journal, Madison, 43: 976-80, 1979.

- LEE, R.B. Selectivity and kinetics of ion uptake by barley plants following nutrient deficiency. Annals of Botany, London, 50: 429-444, 1982.
- LEWIS, D.G. & J.P. QUIRK. Phosphate diffusion in soil and uptake by plants. III. P movement and uptake by plants as indicated by ^{32}P autoradiography. Plant and Soil, The Hague, 26: 445-54, 1967.
- LINEWEAVER, H. & BURK, D. The determination of enzyme dissociation constants. Journal Am. Chem. Soc., Easton, 56: 658-66, 1934.
- 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. (Doutorado - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"/USP).
- LOPES, E.S.; SIQUEIRA, J.O.; ZAMBOLIM, L. Caracterização das micorrizas vesículo-arbusculares (MVA) e seus efeitos no crescimento das plantas. Revista brasileira de Ciência do Solo, Campinas, 7: 1-19, 1983.
- MALAVOLTA, E. Elementos de nutrição mineral de plantas. São Paulo, Editora Agronômica Ceres, 1980. 251p.
- MENGEL, K. & KIRKBY, E.A. Principles of plant nutrition. 3. ed. Berne, International Potash Institute, 1982. 655p.
- MENGE, J.A.; STEIRLE, D.; BAGYARAJ, D.J.; JOHNSON, E.L.V.; LEONARD, R.T. Phosphorus concentrations in plants responsible for inhibition of mycorrhizal infection. New Phytologist, Oxford, 80: 565-78, 1978.
- MIRANDA, J.C.C. Influência de fungos endomicorrízicos inoculados a campo na cultura de sorgo e soja em solo sob cerrado. Revista brasileira de Ciência do Solo, Campinas, 6: 19-23, 1982.

•MOSSE, B. Advances in the study of vesicular-arbuscular mycorrhiza. Annual Review of Phytopathology, Palo Alto, 11: 171-96, 1973a.

MOSSE, B. Plant growth responses to vesicular-arbuscular mycorrhizae. III. In soil given additional phosphate. New Phytologist, Oxford, 72: 127-36, 1973b.

MOSSE, B.; HAYMAN, D.S.; ARNOLD, D.J. Plant growth responses to vesicular-arbuscular mycorrhiza. V. Phosphate uptake by tree plant species from P-deficient soils labelled with ^{32}P . New Phytologist, Oxford, 72: 809-15, 1973.

NASCIMENTO.FILHO, V.F. & LOBÃO, A.O. Detecção de ^{32}P em amostras de origem animal e vegetal por efeito cerenkov, cintilação líquida e detector GM. Boletim Científico, BC-048. Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Piracicaba, 1977. 25p.

NELSEN, C.E.; BOLGIANO, N.C.; FURUTANI, S.C.; SAFIR, G.R.; ZANDSTRA, B.H. Effect of soil phosphorus levels on mycorrhizal infection of field grown onion plants and mycorrhizal reproduction. Journal of the American Society Horticultural Science, Alexandria, 106: 786-788, 1981.

NELSEN, C.F. & SAFIR, G.R. Increased drought tolerance of mycorrhizal onion caused by improved phosphorus nutrition. Planta, New York, 154: 407-13, 1982.

NINGPING, L. & BARBER, S.A. Effect of the fraction of the root system supplied with P on P uptake and growth characteristics of wheat roots. Journal of Plant Nutrition, New York, 8: 799-809, 1985.

OCAMPO, J.A. Micorrizas VA. II. Efecto sobre el crecimiento de las plantas. Anales de Edafologia e Agrobiologia, Madrid, p.1049-69, 1980.

PACOVSKY, R.S. & FULLER, G. Development of two endomycorrhizal symbiosis on soybean and comparison with phosphorus fertilization. Plant and Soil, The Hague, 95: 361-377, 1986.

PACOVSKY, R.S.; FULLER, G.; STAFFORD, A.E.; PAUL, E.A. Nutrient and growth interactions in soybeans colonized with *Glomus fasciculatum* and *Rhizobium japonicum*. Plant and Soil, The Hague, 92: 37-45, 1986a.

PACOVSKY, R.S.; PAUL, E.A.; BETHLENFALVAY, G.J. Response of mycorrhizal and P-fertilized soybeans to nodulation by *Bradyrhizobium* on ammonium nitrate. Crop Science, Madison, 26: 145-50, 1986b.

PAULA, M.A. & SIQUEIRA, J.O. Efeito de micorrizas vesicular-arbusculares no crescimento, nodulação e acúmulo de nitrogênio pela soja. Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília, 22: 171-178, 1987a.

PAULA, M.A. & SIQUEIRA, J.O. Efeitos da umidade do solo sobre a simbiose endomicorrízica em soja. I. Colonização radicular, esporulação, nodulação e acúmulo de nitrogênio. Revista brasileira de Ciência do Solo, Campinas, 11: 283-7, 1987b.

PAULA, M.A. & SIQUEIRA, J.O. Efeitos da umidade do solo sobre a simbiose endomicorrízica em soja. II. Crescimento, nutrição e relação água-planta. Revista brasileira de Ciência do Solo, Campinas, 11: 289-93, 1987c.

- PAULA, M.A.; SIQUEIRA, J.O.; OLIVEIRA, L.H.; OLIVEIRA, E. Efe-
tividade simbiótica relativa em soja de populações de fungos
endomycorrízicos nativos e de isolados de *Glomus macrocarpum*
e *Gigaspora margarita*. Revista brasileira de Ciência do So-
lo, Campinas, 12: 25-31, 1988.
- PEARSON, N. & TINKER, P.B. Measurement of phosphorus fluxes in
the external hyphae of endomycorrhizas. In: SANDERS, F.E.;
MOSSE, B.; TINKER, P.B., eds. Endomycorrhizas, London,
Academic Press, 1975. p.277-287.
- PEREIRA, P.R.G. Estudo da eficiência de fungos micorrízicos
vesículo-arbusculares para a soja em amostra de um Latosso-
lo. Viçosa, 1986. 72p. (MS-Universidade Federal de Viço-
sa).
- PEYRONEL, B.; FASSI, B.; FONTANA, A.; TRAPPE, J.M. Terminology
of mycorrhizae. Mycologia, New York, 61: 410-1, 1969.
- PHILLIPS, J.M. & HAYMAN, D.S. Improved procedure for clearing
roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycor-
rhizal fungi for rapid assessment of infection. Transactions
of the British Mycological Society, London, 55: 158-61, 1970.
- PIMENTEL GOMES, F. Curso de Estatística Experimental. 8.ed.
Piracicaba, Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz".
1978. 430p.
- POWELL, C.L. Potassium uptake by endotrophic mycorrhizas. In:
SANDERS, F.E.; MOSSE, B.; TINKER, P.B., eds. Endomycorrhizi-
zas, London, Academic Press, 1975a. p.461-8.

- POWELL, C.L. Plant growth responses to vesicular-arbuscular mycorrhiza. VIII. Uptake of P by onion and clover infected with different *Endogone* spore types in ^{32}P labelled soil. New Phytologist, Oxford, 75: 563-6, 1975b.
- POWELL, C.L. & BAGYARAJ, D.J. VA mycorrhizae: why all the interest? In: POWELL, C.L. & BAGYARAJ, D.J. VA mycorrhiza. Boca Raton, CRC press, 1984. p.10-2.
- RAIJ, B. van; SILVA, N.M.; BATAGLIA, O.C.; QUAGGIO, J.A.; HIROCE, R.; CANTARELLA, H.; BELLINAZZI Jr., R.; DECHEN, A.R.; TRANI, P.E. Recomendações de adubação e calagem para o Estado de São Paulo. Instituto Agronômico, Campinas, 1985. 107p. (Boletim Técnico, 100).
- RATNAYAKE, M.; LEONARD, R.T.; MENGE, J.A. Root exudation in relation to supply of phosphorus and its possible relevance to mycorrhizal formation. New Phytologist, Oxford, 81: 543-52, 1978.
- RHODES, L.H. & GERDEMANN, J.W. Phosphate uptake zones of mycorrhizal and non-mycorrhizal onions. New Phytologist, Oxford, 75: 555-61, 1975.
- RHODES, L.H. & GERDEMANN, J.W. Hyphal translocation and uptake of sulphur by vesicular-arbuscular mycorrhizae of onion. Soil Biology and Biochemistry, Oxford, 70: 355-60, 1978.
- RHODES, L.H. & GERDEMANN, J.M. Nutrient translocation in vesicular-arbuscular mycorrhizae. In: COOK, C.B.; PAPAAS, W.; RUDOLPH, E.D., eds. Celular interactions in symbiosis and parasitism. The Ohio State University Press. Columbus, 1980. p.173-195.

- ROSOLEM, C.A. Nutrição mineral e adubação da soja. Instituto da Potassa e Fosfato, Piracicaba, 1980. 80p. (Boletim Técnico, 6).
- ROSS, J.P. & HARPER, J.A. Effect of *Endogone* mycorrhiza on soybean yields. Phytopathology, St. Paul, 60: 1552-6, 1970.
- ROSS, J.P. Effect of phosphate fertilization on yield of mycorrhizal and non-mycorrhizal soybean. Phytopathology, St. Paul, 61: 1400-3, 1971.
- ROSS, J.P. & GILLIAM, J.W. Effect of *Endogone* mycorrhiza on phosphorus uptake by soybeans from inorganic phosphates. Soil Science Society of American Proceedings, Madison, 37: 237-239, 1973.
- ROVIRA, A. Plant root exudates. The Botanical Review, New York, 35: 17-34, 1969.
- SAFIR, G.R.; BOYER, J.S.; GERDEMANN, J.W. Nutrient status and mycorrhizal enhancement of water transport in soybean. Plant Physiology, Maryland, 49: 700-3, 1972.
- SAIF, S.R. The influence of stage of host development on vesicular-arbuscular mycorrhizae and Endogonaceous spore population in field-grown vegetable crops. I. Summer-grown crops. New Phytologist, Oxford, 79: 341-8, 1977.
- SAIF, S.R. The influence of soil aeration on the efficiency of vesicular-arbuscular mycorrhizae. I. Effect of soil oxygen on the growth and mineral uptake of *Eupatorium ad-ratum* inoculated with *Glomus macrocarpus*. New Phytologist, Oxford, 88: 649-60, 1981.

SAINZ, M.J. & ARINES, J. P absorbed from soil by mycorrhizal red clover plants as affected by soluble P fertilization. Soil Biology and Biochemistry, Oxford, 20: 61-7, 1988.

SAITO, S.M.T. Relações entre fixação de $^{15}\text{N}_2$, evolução de H_2 e redução de C_2H_2 em feijoeiro (*Phaseolus vulgaris*). Piracicaba, 1978. 96p. (Doutorado - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"/USP).

SALINAS, J.G. Importance of vesicular-arbuscular mycorrhizae of phosphorus supply to pasture plants in tropical Oxisols. Plant and Soil, The Hague, 84: 347-60, 1986.

SANDERS, F.E. & TINKER, P.B. Mechanism of absorption of phosphate from soil by *Endogone* mycorrhizas. Nature, London, 233: 278-9, 1971.

SANDERS, F.E. The effect of foliar-applied phosphate on the mycorrhizal infections of onion roots. In: SANDERS, F.E.; MOSSE, B.; TINKER, P.B., eds. Endomycorrhizas, London, Academic Press, 1975. p.261-76.

SARRUGE, J.R. & HAAG, H.P. Análises químicas em plantas. Piracicaba, Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", 1974. 56p.

SCHENCK, N.C.S. & SMITH, G.S. Response of six species of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi and their effects on soybean at four soil temperatures. New Phytologist, Oxford, 92: 193-201, 1982.

- SHANMUGAN, K.T.; O'GARA, F.; ANDERSEN, K.; VALENTINE, R.C.
Biological nitrogen fixation. Annual Review of Plant Physiology, Palo Alto, 29: 263-76, 1978.
- SILVEIRA, A.P.D.; CARDOSO, E.J.B.N.; FAQUIN, V. Influência da micorriza VA no desenvolvimento do feijoeiro e nos parâmetros cinéticos de absorção radicular de fósforo. In: REUNIÃO BRASILEIRA SOBRE MICORRIZAS, II, Resumos, São Paulo, SP, 1987. p.26.
- SIQUEIRA, J.O.; HUBBELL, D.H.; SCHENCK, N.C. Spore germination and germ tube growth of a vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus, "in vitro". Mycologia, New York, 74: 952-9, 1982.
- SIQUEIRA, J.O.; HUBBELL, D.H.; VALLE, R.R. Effects of phosphorus on formation of the vesicular-arbuscular mycorrhizal symbiosis. Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília, 19: 1465-74, 1984.
- SIQUEIRA, J.O. Micorrizas: forma e função. In: REUNIÃO BRASILEIRA SOBRE MICORRIZAS, I, Lavras, 1986. Anais, p.5-32.
- SIQUEIRA, J.O. & PAULA, M.A. Efeito de micorrizas vesículo-arbusculares na nutrição e aproveitamento de fósforo pela soja em solo sob cerrado. Revista Brasileira de Ciência do Solo, Campinas, 10: 97-102, 1986.
- SIQUEIRA, J.O.; CESTARI, E.D.; COLOZZI-FILHO, A.; FERNANDES, A. B. Efeito de micorriza vesículo-arbusculares na utilização de fósforo de fontes com diferentes solubilidades. In: REUNIÃO BRASILEIRA SOBRE MICORRIZAS, II, São Paulo, SP, 1987, Resumos, p.20-21.

- SKIPPER, H.D. & SMITH, G.W. Influence of soil pH on the soybean-endomycorrhiza symbiosis. Plant and Soil, The Hague, 53: 559-63, 1979.
- SMITH, S.E.; NICHOLAS, D.J.D. & SMITH, F.A. Effect of early mycorrhizal infection on nodulation and nitrogen fixation in *Trifolium subterraneum*. Australian Journal of Plant Physiology, Melbourne, 6: 305-11, 1979.
- SMITH, S.E. & BOWEN, G.D. Soil temperature, mycorrhizal infection and nodulation of *Medicago trunculata* and *Trifolium subterraneum*. Soil Biology and Biochemistry, Oxford, 11: 469-73, 1979.
- SMITH, S.E.; SMITH, F.A.; NICHOLAS, D.J.D. Effects of endomycorrhizal infection on phosphate and cation uptake by *Trifolium subterraneum*. Plant and Soil, The Hague, 63: 57-64, 1981.
- STRIBLEY, D.P.; TINKER, P.B.; RAYNER, J.H. Relation of internal phosphorus concentration and plant weight in plants infected by vesicular-arbuscular mycorrhizas. New Phytologist, Oxford, 86: 261-6, 1980.
- SUTTON, J.C. Development of vesicular-arbuscular mycorrhizae in crop plant. Canadian Journal of Botany, Ottawa, 51: 2487-93, 1973.
- TINKER, P.B. Role of rhizosphere microorganisms in phosphorus uptake by plants. In: KEASAWNEH, F.E.; SAMPLE, E.C.; KAMPRATH, E.J., eds. The role of phosphorus in agriculture, Madison, American Society of Agronomy, 1980. cap. 22, p. 617-654.

- TRAPPE, J.M. Synoptic key to the genera and species of zygomycetes mycorrhizal fungi. Phytopathology, St. Paul, 72: 1102-8, 1982.
- VALE, F.R. Efeito do alumínio sobre a cinética de absorção de nitrato, amônio e fosfato em milho (*Zea mays* L.) e em clone de eucalipto (*Eucalyptus alba*). Viçosa, 1982. 71p. (MS-Universidade Federal de Viçosa).
- VILELA, L. & ANGHINONI, I. Morfologia do sistema radicular e cinética de absorção de fósforo em cultivares de soja afetados pela interação alumínio-fósforo. Revista brasileira de Ciência do Solo, Campinas, 8: 91-8, 1984.
- WALKER, C. Identifying the endomycorrhizal Endogonaceae. In: REUNIÃO BRASILEIRA SOBRE MICORRIZAS, II, São Paulo, SP, 1987, Resumos, p.83-97.
- WANG, S. & WANG, G. Efeito da aplicação de inoculante micorrizal à soja nos solos de cerrados. In: REUNIÃO BRASILEIRA SOBRE MICORRIZAS, II, São Paulo, SP, 1987, Resumos, p.21.
- WOOLHOUSE, H.W. Membrane structure and transport problems considered in relations to phosphorus and carbohydrate movements and the regulations of endotrophic mycorrhizal associations. In: SANDERS, F.E.; MOSSE, B.; TINKER, P.B., eds. Endomycorrhizas, London, Academic Press, 1975. p. 209-40.
- YOST, R.S. & FOX, R.L. Influence of mycorrhizal on the mineral contents of cowpea and soybeans grow in a oxisol. Agronomy Journal, Madison, 74: 475-80, 1982.

④ ZAMBOLIM, L. & SIQUEIRA, J.O. Importância e potencial das associações micorrízicas para a agricultura. EPAMIG, Belo Horizonte, 1985. 36p. (Série Documentos, 26).

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

ZAMBOLIM, L. Tolerância de plantas micorrizadas a fitonematóides. In: REUNIÃO BRASILEIRA SOBRE MICORRIZAS, II, São Paulo, SP, 1987, Resumos, p.103-125.

APÊNDICE

APENDICE 1 - Análises de variância da produção de matéria seca total e de grãos da soja micorrizizada (M) e não micorrizizada (NM), nas diferentes épocas de colheita da planta.

Causa de Variação	G.L.	QUADRO MÉDIO					
		20 dias ^{1/}	40 dias ^{1/}	60 dias ^{1/}	80 dias ^{1/}	Final Ciclo ^{1/}	Final Ciclo ^{2/}
Micorriza (M)	1	0,1116 n.s.	27,8445***	424,060***	1.293,624***	1.857,451***	126,0872***
Fósforo (P)	3	0,1625**	56,6848***	517,527***	2.079,437***	3.117,420***	306,7251***
Interação MxP	3	0,0835 n.s.	3,6564***	49,951***	114,234***	273,872***	19,9996***
P : NM	3	0,0432 n.s.	18,4986***	154,075***	795,4299***	1.128,258***	124,3448***
(L)	1	0,0014 n.s.	53,78634***	453,116***	2.314,9710***	3.275,799***	361,9039***
(Q)	1	0,1245 n.s.	1,6877*	9,097*	71,3161**	102,856***	9,8554***
P : M	3	0,2028**	41,8425***	413,403***	1.398,2420***	2.263,033***	202,3799***
(L)	1	0,4032**	122,9192***	1.164,358***	4.026,5530***	6.220,452***	564,0687***
(Q)	1	0,1052 n.s.	1,5458 n.s.	66,822***	155,9278***	545,710***	40,9858***
Erro	24	0,0333	0,3939	2,142	6,4630	3,131	0,4165
TOTAL	31						
CV (%)		10,9	13,2	12,7	13,6	8,0	10,7

*; **; ***: significativo a 5%; 1%; 0,1% de probabilidade e não significativo, respectivamente.

^{1/} Matéria seca total ^{2/} Matéria seca de grãos

APÊNDICE 2 Equações de regressão para produção de matéria seca total (y) durante o ciclo da planta e de grãos (y) no final do ciclo, em gramas por vaso, em função das doses de P aplicadas (x) em ppm, para plantas micorrizadas (M) e não micorrizadas (NM).

Idade da planta (dias)	Micorriza	Equações	$\frac{3}{R^2}$
20	NM	$Y = 1,8154 - 0,01129x + 0,0001221x^2$	0,28 n.s.
	M	$Y = 1,46 + 0,004547x$	0,37**
40	NM	$Y = 2,467 + 0,00997x + 0,0004497x^2$	0,95*
	M	$Y = 3,0997 + 0,0794x$	0,93***
60	NM	$Y = 3,739 + 0,0536x + 0,00104x^2$	0,96*
	M	$Y = 4,933 + 0,5121x - 0,00283x^2$	0,97***
80	NM	$Y = 3,411 + 0,06795x + 0,002923x^2$	0,99**
	M	$Y = 6,7603 + 0,8634x - 0,00432x^2$	0,96***
Final Ciclo ^{1/}	NM	$Y = 4,046 + 0,0777x + 0,003511x^2$	0,99***
	M	$Y = 4,97 + 1,3299x - 0,008087x^2$	0,99***
Final Ciclo ^{2/}	NM	$Y = 0,5062 + 0,03341x + 0,001087x^2$	0,99***
	M	$Y = 0,7338 + 0,3798x - 0,002216x^2$	0,98***

1/ Matéria seca total; 2/ matéria seca de grãos; 3/ *, **, ***; n.s.: significativo pelo teste F, a 5%; 1%; 0,1% de probabilidade e não significativo, respectivamente.

APÊNDICE 3 - Equações de regressão para o Efeito Relativo da Micorriza^{1/} na Produção de Matéria Seca Total (y) durante o ciclo da planta e de grãos (y) no final do ciclo, em percentagem, em função das doses de P aplicadas (x), bem como, equação de regressão para o teor de P disponível no substrato (y), determinado pelo método da Resina antes do cultivo, em função das doses de P aplicadas (x).

Idade da planta (dias)	Equações	$\frac{5}{R^2}$
20	$Y = -13,98 + 0,2367x$	0,30*
40	$Y = 15,208 + 3,961x - 0,04044x^2$	0,37*
60	$Y = 42,358 + 7,615x - 0,08166x^2$	0,64***
80	$Y = 120,84 + 8,531x - 0,104x^2$	0,71***
Final Ciclo ^{2/}	$Y = 67,887 + 12,81x - 0,1445x^2$	0,87***
Final Ciclo ^{3/}	$Y = 101,14 + 13,969x - 0,1631x^2$	0,70***
P-resina ^{4/}	$Y = 3,081 + 0,5329x - 0,00223x^2$	0,99

1/ Efeito Relativo da Micorriza (%) = $[M - NM] \times 100 / NM$; 2/ matéria seca total; 3/ matéria seca grãos (ver texto); 4/ P-resina = teor de P disponível (ppm); 5/ *; ***: significativo pelo teste F, a 5%; e 0,1% de probabilidade, respectivamente.

APÊNDICE 4 - Análises de variância dos parâmetros da fixação biológica do nitrogênio, da soja micorrizada (M) e não micorrizada (NM), aos 60 dias de idade da planta.

Causas de Variação	G.L.	QUADRADO MÉDIO			
		nº nód./pl. <u>1/</u>	M. seca nód./pl. <u>2/</u>	Nase/pl. <u>3/</u>	Nase/g nód. <u>4/</u>
Micorriza (M)	1	14.112,00***	229.012,2***	566,3461***	2.100,759***
Fósforo (P)	3	19.771,98***	298.517,8***	850,4208***	258,523*
Interação MxP	3	1.818,02***	60.302,8***	112,9052***	1.728,580***
P : NM	3	7.086,62***	51.051,2***	218,0819***	1.654,240***
(L)	1	20.379,71***	140.388,0***	595,4642***	3.288,159***
(Q)	1	877,94***	12.625,1**	58,1961***	20,320 n.s.
P : M	3	14.503,38***	307.769,4***	745,2442***	332,864*
(L)	1	40.104,68***	922.277,8***	2.207,8860***	663,396**
(Q)	1	3.210,17***	385,1 n.s.	26,9810**	2,331 n.s.
Erro	24	37,25	1,288,3	2,8208	81,434
Total	31				
C.V. (%)		12,6	24,9	21,0	17,7

*; **; ***; n.s.: significativo a 5%; 1%; 0,1% de probabilidade e não significativo, respectivamente; 1/ número de nódulos por planta; 2/ matéria seca de nódulos por planta; 3/ atividade da nitrogenase por planta; 4/ atividade específica da nitrogenase (= atividade da nitrogenase por grama de nódulos secos).

APÊNDICE 5 - Equações de regressão para alguns parâmetros da fixação biológica do nitrogênio (y), avaliados aos 60 dias de idade da planta, em função das doses de P aplicadas (x), para plantas micorrizadas (M) e não micorrizadas (NM).

Parâmetros	Micorriza	Equações	R ² ^{5/}
Nitrogenase/planta ^{1/}	NM	$Y = 0,227 - 0,0751x + 0,00264x^2$	0,94***
	M	$Y = -0,167 + 0,5066x - 0,001798x^2$	0,99**
Nitrogenase/g nódulos ^{2/}	NM	$Y = 20,63 + 0,4869x$	0,94***
	M	$Y = 69,92 - 0,2187x$	0,74***
Nº nódulos/planta ^{3/}	NM	$Y = 2,231 + 0,0518x + 0,01026x^2$	0,97***
	M	$Y = 6,950 + 3,29x - 0,0196x^2$	0,99***
Mat. seca nód./planta ^{4/}	NM	$Y = 3,396 - 0,997x + 0,0389x^2$	0,94**
	M	$Y = 5,165 + 6,877x^2$	0,98***

1/ $\mu\text{moles C}_2\text{H}_4 \cdot \text{planta}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$; 2/ $\mu\text{moles C}_2\text{H}_4 \cdot \text{g nód. secos}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$; 3/ Unidade; 4/ gramas mat. seca nód. pl.^{-1} ; 5/ *; **; ***: significativo pelo teste F, a 5%, 1% e 0,1% de probabilidade, respectivamente.

APÊNDICE 6 - Análises de variância da percentagem de N nas folhas da soja micorrizada (M) e não micorrizada (NM), nas diferentes épocas de colheita da planta.

Causas de Variação	G.L.	QUADRADO MÉDIO					Final Ciclo
		20 dias	40 dias	60 dias	80 dias		
Micorriza (M)	1	0,1176 n.s.	1,7298***	1,011***	3,7675***	4,3808***	
Fósforo (P)	3	0,3558**	3,9355***	2,9426***	4,4305***	7,1760***	
Interação MxP	3	0,0569 n.s.	0,7976***	2,0295***	2,0337***	1,3630***	
P : NM	3	0,3351**	2,4485***	1,9502***	3,4254***	4,2693***	
(L)	1	0,1737 n.s.	4,7455***	5,4017***	8,9537***	12,7872***	
(Q)	1	0,3353*	2,2864***	0,2621**	0,0873*	0,0203 n.s.	
P : M	3	0,0776 n.s.	2,2846***	3,0209***	3,0389***	4,2698***	
(L)	1	0,5755**	6,5432***	1,8396***	2,4685***	5,451***	
(Q)	1	0,7717***	0,3086***	5,2299***	4,2634***	5,8257***	
Erro	24	0,0530	0,0161	0,0208	0,0230	0,0280	
TOTAL	31						
C.V. (%)		8,5	8,2	5,0	5,9	7,2	

*; **, ***; n.s.: significativo a 5%; 1%; 0,1% de probabilidade e não significativo, respectivamente.

APENDICE 7 - Análises de variância do N total acumulado pela soja micorrizada (M) e não micorrizada (NM), nas diferentes épocas de colheita da planta.

Causas de Variação	G.L.	QUADRADO MÉDIO					Final Ciclo
		20 dias	40 dias	60 dias	80 dias		
Micorriza (M)	1	82,503 n.s.	6.263,241***	98.246,01***	338.932,30***	817.811,2***	
Fósforo (P)	3	295,130**	13.741,470***	109.270,20***	581.151,10***	1.656.263,0***	
Interação MxP	3	51,435 n.s.	513,612 n.s.	20.492,32***	29.880,17***	123.534,5***	
P : NM	3	76,808 n.s.	6.231,960***	17.563,26***	200.981,00***	573.636,9***	
(L)	1	51,226 n.s.	18.673,410***	52.597,27***	581.771,30***	1.652.788,0***	
(Q)	1	66,819 n.s.	22,001 n.s.	9,60 n.s.	19.249,22**	61,035,7***	
P : M	3	269,757**	8.023,127***	112.199,20***	410.050,10***	1.266.160,0***	
(L)	1	474,888**	20.569,800***	335.875,70***	218.006,00***	3.476.971,0***	
(Q)	1	151,818 n.s.	2.162,921*	190,23 n.s.	2.074,09 n.s.	123.953,0***	
Erro	24	51,129	284,153	967,68	1.817,50	3.300,8	
TOTAL	31						
C.V. (%)		10,8	12,0	13,1	11,4	10,7	

*; **; ***; n.s.: significativo a 5%; 1%; 0,1% de probabilidade e não significativo, respectivamente.

APÊNDICE 8 - Equações de regressão para concentração de N nas folhas (y), em percentagem, e N total acumulado (y), em g/vaso, durante o ciclo da planta, em função das doses de P aplicadas (x), em ppm, para plantas micorrizadas (M) e não micorrizadas (NM).

Idade da planta (dias)	Micorriza	Equações	R ² ^{1/}
- concentração -			
20	NM	$y = 4,8026 + 0,02195x - 0,0002004x^2$	0,33*
	M	$y = 5,099 + 0,00927x - 0,00009616x^2$	0,82***
40	NM	$y = 4,243 + 0,03393x - 0,000523x^2$	0,95***
	M	$y = 4,439 - 0,0365x + 0,000192x^2$	0,96***
60	NM	$y = 3,448 + 0,000127x - 0,000177x^2$	0,90**
	M	$y = 3,644 - 0,0842x + 0,000792x^2$	0,78***
80	NM	$y = 3,684 - 0,03111x + 0,0001022x^2$	0,86*
	M	$y = 3,157 - 0,0789x + 0,0007148x^2$	0,71***
Final Ciclo	NM	$y = 3,531 - 0,0256x$	0,97***
	M	$y = 3,171 - 0,09578x + 0,0008355x^2$	0,86***
- acumulação -			
20	NM	$y = 66,615 - 0,03427x + 0,000904x^2 (x10^{-3})$	0,81 n.s.
	M	$y = 59,275 + 0,15605x (10^{-3})$	0,30**
40	NM	$y = 94,15 + 0,9786x (x10^{-3})$	0,87***
	M	$y = 107,68 + 2,55x - 0,0161x^2 (x10^{-3})$	0,81*
60	NM	$y = 129,07 + 1,642x (x10^{-3})$	0,89***
	M	$y = 158,38 + 4,15x (x10^{-3})$	0,95***
80	NM	$y = 131,46 + 0,9178x + 0,04803x^2 (x10^{-3})$	0,99**
	M	$y = 219,53 + 7,903x (x10^{-3})$	0,96*
Final Ciclo	NM	$y = 144,95 + 1,114x + 0,0855x^2 (x10^{-3})$	0,98***
	M	$y = 163,99 + 24,88x - 0,12187x^2 (x10^{-3})$	0,98***

1/ *: **, ***; n.s.: significativo pelo teste F, a 5%, 1%, 0,1% de probabilidade e não significativo, respectivamente.

APÊNDICE 9 - Análises de variância da percentagem de P nas folhas da soja micorrizada (M) e não micorrizada (NM), nas diferentes épocas de colheita da planta.

Causas de Variação	G.L.	QUADRADO MÉDIO					Final Ciclo
		20 dias	40 dias	60 dias	80 dias		
Micorriza (M)	1	0,0005951***	0,012482***	0,0016531***	0,00009112**	0,00004050***	
Fósforo (P)	3	0,0035918***	0,0048563***	0,00132118***	0,00035312***	0,0002885***	
Interação MxP	3	0,0001101*	0,0006923***	0,00005045***	0,00000512 n.s.	0,0000032 n.s.	
P : NM	3	0,0016897***	0,001118***	0,0004327***	0,0001913***	0,0001397***	
(L)	1	0,0049957***	0,003348***	0,0014135***	0,0005721***	0,0001832***	
(Q)	1	0,00017279*	0,0000057 n.s.	0,00005639**	0,00000107 n.s.	0,0001236***	
P : M	3	0,0020122***	0,004421***	0,0009396***	0,0001669***	0,0001520***	
(L)	1	0,0057458***	0,011324***	0,0027067***	0,0004755***	0,0001970***	
(Q)	1	0,0002642**	0,001932***	0,0000911***	0,0000096 n.s.	0,0002019***	
Erro	24	0,0000234	0,000037	0,0000038	0,0000068	0,0000028	
TOTAL	31						
C.V. (%)		7,6	6,2	9,0	12,3	9,6	

*, **, ***; n.s.: significativo a 5%; 1%; 0,1% de probabilidade e não significativo, respectivamente.

APÊNDICE 10 - Análises de variância do P total acumulado pela soja micorrizada (M) e não micorrizada (NM), nas diferentes épocas de colheita da planta.

Causas de Variação	G.L.	QUADRADO MÉDIO					Final Ciclo
		20 dias	40 dias	60 dias	80 dias		
Micorriza (M)	1	0,003536 n.s.	109,8321***	333,1864***	637,998***	2.212,73***	
Fósforo (P)	3	1,143207***	107,7449***	410,5390***	1.348,530***	4.685,31***	
Interação MxP	3	0,106680 n.s.	19,1474***	51,1499***	59,532***	329,70***	
P : NM	3	0,32796***	19,5820***	94,6153***	539,055***	1.534,22***	
(L)	1	0,84130***	57,2522***	274,9659***	1.549,726***	4.429,19***	
(Q)	1	0,14241 n.s.	1,9898*	8,8784*	67,322***	164,48***	
P : M	3	0,92213***	107,3103***	367,0740***	869,007***	3.480,79***	
(L)	1	2,54608***	318,5688***	1.091,0200***	2.555,946***	10.222,20***	
(Q)	1	0,06468 n.s.	3,0076*	8,2880*	48,699***	205,39***	
Erro	24	0,03920	0,3954	1,2246	1,573	2,98	
TOTAL	31						
C.V. (%)		11,7	13,8	14,0	5,2	7,7	

*; **, ***; n.s.: significativo a 5%; 1%; 0,1% de probabilidade e não significativo, respectivamente.

APÊNDICE 11 - Equações de regressão para concentração de P nas folhas (y), em percentagem, e P total acumulado (y), em mg/vaso, durante o ciclo da planta, em função das doses de P aplicadas (x), em ppm, para plantas micorrizadas (M) e não micorrizadas (NM).

Idade da planta (dias)	Micorriza	Equações	R ² ^{1/}
- concentração -			
20	NM	$y = 0,1042 + 0,000226x + 0,00000295x^2$	0,97*
	M	$y = 0,1047 + 0,001075x - 0,00000563x^2$	0,93**
40	NM	$y = 0,0665 + 0,000414x$	0,94***
	M	$y = 0,0826 + 0,002202x - 0,0000152x^2$	0,95***
60	NM	$y = 0,0539 + 0,00000634x + 0,0000026x^2$	0,96**
	M	$y = 0,0649 + 0,0000599x + 0,0000033x^2$	0,98**
80	NM	$y = 0,0389 + 0,0001713x$	0,82***
	M	$y = 0,0428 + 0,000156x$	0,88***
Final Ciclo	NM	$y = 0,0375 + 0,000461x - 0,00000385x^2$	0,68***
	M	$y = 0,0388 + 0,000566x - 0,00000492x^2$	0,81***
- acumulação -			
20	NM	$y = 1,466 + 0,00657x$	0,62***
	M	$y = 1,329 + 0,01143x$	0,76***
40	NM	$y = 1,297 + 0,0142x + 0,000422x^2$	0,97*
	M	$y = 1,791 + 0,1846x - 0,0006004x^2$	0,98*
60	NM	$y = 2,272 + 0,217x - 0,6189x^2$	0,97*
	M	$y = 2,656 + 0,331x - 0,000996x^2$	0,98*
80	NM	$y = 1,433 + 0,0132x + 0,00284x^2$	0,99***
	M	$y = 3,554 + 0,5906x - 0,00241x^2$	0,98***
Final Ciclo	NM	$y = 2,287 + 0,0565x + 0,00444x^2$	0,99***
	M	$y = 3,353 + 1,193x - 0,00496x^2$	0,99***

^{1/} *, **, ***; n.s.: significativo pelo teste F, a 5%, 1%, 0,1%, de probabilidade e não significativo, respectivamente.

APÊNDICE 12 - Equações de regressão para o Coeficiente de Utilização do Fósforo Acumulado^{1/} (y), durante o ciclo da planta, em função das doses de P aplicadas (x), para plantas micorrizadas (M) e não micorrizadas (NM).

Idade da planta (dias)	Micorriza	Equações	R ² _{2/}
20	NM	$Y = 1.157,94 - 3,46x (x10^{-3})$	0,94**
	M	$Y = 1.116,62 - 7,661x + 0,046x^2 (x10^{-3})$	0,91***
40	NM	$Y = 1.905,95 - 15,492x + 0,0812x^2 (x10^{-3})$	0,98***
	M	$Y = 1.474,15 - 28,069x + 0,222x^2 (x10^{-3})$	0,97***
60	NM	$Y = 2.277,29 - 9,493x (x10^{-3})$	0,97***
	M	$Y = 1.817,27 - 11,778x + 0,049x^2 (x10^{-3})$	0,99***
80	NM	$Y = 2.505,49 - 22,908x + 0,1387x^2 (x10^{-3})$	0,94*
	M	$Y = 1.845,64 - 15,621x + 0,110x^2 (x10^{-3})$	0,84**
Final Ciclo	NM	$Y = 2.042,77 - 40,59x + 0,3124x^2 (x10^{-3})$	0,86***
	M	$Y = 1.408,85 - 15,04x + 0,0971x^2 (x10^{-3})$	0,79*

^{1/} g de matéria seca/mg de P acumulado; _{2/} *, **, ***: significativo pelo teste F, a 5%, 1% e 0,1% de probabilidade, respectivamente.

APÊNDICE 13 - Análises de variância da percentagem de K nas folhas da soja micorrizada (M) e não micorrizada (NM), nas diferentes épocas de colheita da planta.

Causas de Variação	G.L.	QUADRADO MÉDIO					Final Ciclo
		20 dias	40 dias	60 dias	80 dias		
Micorriza (M)	1	0,0136 n.s.	3,7675***	0,0015 n.s.	1,6020***	0,0180 n.s.	
Fósforo (P)	3	0,4785*	0,3646*	0,5485***	0,3865***	1,5714***	
Interação MxP	3	0,9492***	0,4919**	0,0346 n.s.	0,3345***	0,1704**	
P : NM							
(L)	3	0,4396*	0,7538***	0,3846***	0,2533***	0,3948***	
(Q)	1	0,0081 n.s.	0,7415**	0,5205***	0,0189 n.s.	1,0597***	
- P : M							
(L)	3	0,9881***	0,1027 n.s.	0,1983***	0,4678***	1,3470***	
(Q)	1	1,6003***	0,1075 n.s.	0,4766***	1,2624***	3,0344***	
Erro	24	0,3162 n.s.	0,0076 n.s.	0,0315 n.s.	0,1362***	0,0044 n.s.	
TOTAL	31	0,1084	0,0849	0,0148	0,0057	0,0356	
C.V. (%)		12,0	11,9	5,7	8,3	10,6	

*; **; ***; n.s.: significativo a 5%; 1%; 0,1% de probabilidade e não significativo, respectivamente.

APÊNDICE 14 - Análises de variância do K total acumulado pela soja micorrizada (M) e não micorrizada (NM), nas diferentes épocas de colheita da planta.

Causas de Variação	G.L.	QUADRADO MÉDIO					Final Ciclo
		20 dias	40 dias	60 dias	80 dias		
Micorriza (M)	1	173,0406*	36.676,530***	230.841,600***	250.818,100***	450.426,2***	
Fósforo (P)	3	302,7857***	60.167,110***	215.502,100***	512.979,100***	1.036.577,0***	
Interação MxP	3	221,1022***	4.154,698***	26.466,160***	71.062,370***	100.931,0***	
P : M	3	101,1902 n.s.	21.153,040***	67.294,460***	358.855,100***	556.194,3***	
(L)	1	19,0913 n.s.	59.737,510***	196.506,400***	1.037.453,000***	1.609.724,0***	
(Q)	1	260,2192*	3.575,930*	4.504,827*	38.933,560***	54.565,9***	
P : M	3	422,6978***	43.168,770***	174.673,700***	225.186,400***	581.313,8***	
(L)	1	888,2095***	126.777,100***	462.931,400***	520.538,500***	1.456.995,0***	
(Q)	1	27,6034 n.s.	2.013,900 n.s.	54.739,260***	124.652,000***	284.138,7***	
Erro	24	37,6174	531,443	927,474	1.801,938	1.900,5	
TOTAL	31						
C.V. (%)		12,5	18,2	12,1	12,5	10,3	

*; **; ***; n.s.: significativo a 5%; 1%; 0,1% de probabilidade e não significativo, respectivamente.

APÊNDICE 15 - Análises de variância da percentagem de S nas folhas da soja micorrizada (M) e não micorrizada (NM), nas diferentes épocas de colheita da planta.

Causas de Variação	G.L.	QUADRADO MÉDIO					Final Ciclo
		20 dias	40 dias	60 dias	80 dias		
Micorriza (M)	1	0,0050 n.s.	0,0084*	0,000112 n.s.	0,000112 n.s.	0,002450 n.s.	
Fósforo (P)	3	0,0202***	0,0023 n.s.	0,012712***	0,013212***	0,031533***	
Interação MxP	3	0,0085**	0,0185***	0,006045***	0,009779***	0,010850***	
P : NM	3	0,014967***	0,008067**	0,008867***	0,006192***	0,026897***	
(L)	1	0,009435*	0,003448 n.s.	0,011538***	0,012083***	0,053006***	
(Q)	1	0,003420 n.s.	0,019738***	0,012796***	0,001250*	0,006938**	
P : M	3	0,01376***	0,012700***	0,009892***	0,016300***	0,015492***	
(L)	1	0,02197**	0,018708***	0,024933***	0,021974***	0,038080***	
(Q)	1	0,01932**	0,008489*	0,004546***	0,021700***	0,005527**	
Erro	24	0,0016	0,0011	0,000054	0,000162	0,000717	
TOTAL	31						
C.V. (%)		15,1	10,0	4,1	9,1	11,4	

*; **; ***: significativo a 5%; 1%; 0,1% de probabilidade e não significativo, respectivamente.

APÊNDICE 16 - Análises de variância do S total acumulado pela soja micorrizada (M) e não micorrizada (NM), nas diferentes épocas de colheita da planta.

Causas de Variação	G.L.	QUADRADO MÉDIO					Final Ciclo
		20 dias	40 dias	60 dias	80 dias		
Micorriza (M)	1	0,1309 n.s.	690,0242***	3.095,6640***	6.605,4010***	16.177,6500***	
Fósforo (P)	3	4,0198*	1.164,2740***	2.849,1620***	6.711,3680***	21.041,1800***	
Interação MxP	3	3,0319*	80,5494***	291,7283***	523,1014***	1.804,8340***	
P : NM	3	3,3670*	323,8342***	875,1526***	3.040,3530***	3.841,1770***	
(L)	1	0,0012 n.s.	964,5656***	2.611,8280***	8.684,4620***	22.316,9900***	
(Q)	1	0,2427 n.s.	6,9051 n.s.	12,1903 n.s.	230,2469*	969,9763***	
P : M	3	3,6848*	920,9888***	2.265,7370***	4.194,1160***	15.004,8400***	
(L)	1	10,7181**	2.733,1120***	5.951,8130***	10.920,5200***	42.155,5300***	
(Q)	1	0,0816 n.s.	0,1316 n.s.	684,9438***	1.539,9100***	2.681,4340***	
Erro	24	0,8885	9,4523	8,1920	34,4686	36,7259	
TOTAL	31						
C.V. (%)		18,7	17,7	9,6	15,2	10,0	

*; **; ***: significativo a 5%; 1%; 0,1% de probabilidade e não significativo, respectivamente.

APÊNDICE 17 - Análises de variância da concentração de cobre nas folhas de soja micorrizada (M) e não micorrizada (NM), nas diferentes épocas de colheita da planta.

Causas de Variação	G.L.	QUADRADO MÉDIO					Final Ciclo
		20 dias	40 dias	60 dias	80 dias		
Micorriza (M)	1	1,5312 n.s.	28,5012 n.s.	89,1112*	27,7512**	20,4800***	
Fósforo (P)	3	13,6846***	80,2213***	624,2414***	23,5612***	19,9417***	
Interação MxP	3	2,7779*	40,8946**	11,2312 n.s.	20,9546***	6,4900**	
<hr/>							
P : NM	3	3,6825*	25,8800*	268,6425***	4,4692 n.s.	7,4425**	
(L)	1	7,1157**	68,2931**	672,2062***	7,0775 n.s.	3,6149 n.s.	
(Q)	1	0,4749 n.s.	2,5869 n.s.	133,6863**	4,1087 n.s.	15,3981**	
<hr/>							
P : M	3	12,7800***	95,2358***	366,8301***	40,0467***	18,9892***	
(L)	1	10,5701**	6,4083 n.s.	954,8320***	53,3538***	54,9877***	
(Q)	1	3,9972*	8,5738 n.s.	102,6313**	3,2251 n.s.	1,7025 n.s.	
Erro	24	0,8221	8,3912	11,4979	2,3037	1,1658	
<hr/>							
TOTAL	31						
C.V. (%)		16,2	31,7	27,6	17,1	13,7	

*, **, ***; n.s.: significativo a 5%; 1%; 0,1% de probabilidade e não significativo, respectivamente.

APÊNDICE 18 - Análises de variância do cobre total acumulado pela soja micorrizada (M) e não micorrizada (NM), nas diferentes épocas de colheita.

Causas de Variação	G.L.	QUADRADO MÉDIO					Final Ciclo
		20 dias	40 dias	60 dias	80 dias		
Micorriza (M)	1	680,3174**	4.530,283***	140.839,0***	116.134,8***	105.917,0***	
Fósforo (P)	3	95,7894**	6.229,065***	299.326,0***	211.114,1***	184.414,5***	
Interação MxP	3	32,8844 n.s.	539,584**	26.014,2***	9.145,6***	29.235,5***	
P : NM	3	93,7281 n.s.	2.428,174***	81.372,2***	94.081,2***	108.228,4***	
(L)	1	212,7345**	7.123,705***	227.948,1***	270.408,7***	302.073,9***	
(Q)	1	57,8688 n.s.	160,816 n.s.	16.166,3**	11.833,7***	21.949,1***	
P : M	3	34,9457 n.s.	4.340,477***	243.968,0***	126.178,4***	105.421,6***	
(L)	1	11,0406 n.s.	11.090,090***	731.275,8***	364.120,2***	246.025,6***	
(Q)	1	67,5972 n.s.	779,974**	169,4 n.s.	9.771,1**	67.694,5***	
Erro	24	17,9899	95,333	1.794,8	884,4	307,4.	
TOTAL	31						
C.V. (%)		19,1	17,9	23,7	16,3	9,7	

*; **; ***; n.s.: significativo a 5%; 1%; 0,1% de probabilidade e não significativo, respectivamente.

APÊNDICE 19 - Análises de variância da concentração de zinco nas folhas da soja micorrizada (M) e não micorrizada (NM), nas diferentes épocas de colheita da planta.

Causas de Variação	G.L.	QUADRADO MÉDIO					Final Ciclo
		20 dias	40 dias	60 dias	80 dias		
Micorriza (M)	1	36,1250*	612,500*	4.560,12***	2.812,50***		2.556,12**
Fósforo (P)	3	10,4583 n.s.	2.458,833***	4.081,46***	7.094,17***		4.120,46***
Interação MxP	3	47,4583**	429,500*	430,46***	1.002,63***		2.208,46***
P : NI	3	22,3333*	1.437,33***	1.444,25***	2.042,00***		3.728,25***
(L)	1	1,8513 n.s.	2.343,47***	3.640,03***	5.959,40***		6.847,08***
(Q)	1	49,6124*	19,63 n.s.	233,96*	50,63 n.s.		4.198,19***
P : M	3	35,5833**	1.451,00***	3.067,67***	6.055,00***		2.600,67***
(L)	1	0,3705 n.s.	1.767,02***	3.962,26***	11.863,80***		4.785,42***
(Q)	1	101,5335***	2.258,84***	4.216,16***	6.034,46***		1.341,03*
Erro	24	7,2083	111,25	33,62	122,66		279,37
TOTAL	31						
C.V. (%)		7,7	11,3	6,2	10,5		12,6

*; **, ***; n.s.: significativo a 5%; 1%; 0,1% de probabilidade e não significativo, respectivamente.

APÊNDICE 20 - Análises de variância do zinco total acumulado pela soja micorrizada (M) e não micorrizada (NM), nas diferentes épocas de colheita da planta.

Causas de Variação	G.L.	QUADRADO MÉDIO					Final Ciclo
		20 dias	40 dias	60 dias	80 dias		
Micorriza (M)	1	3.233,286***	126.557,3***	2.315.207,0***	4.103.668,0***	8.821.657,0***	
Fósforo (P)	3	243,781 n.s.	264.463,2***	3.095.031,0***	7.488.898,0***	16.527.400,0***	
Interação MxP	3	354,492 n.s.	15.600,5***	198.816,1***	352.957,9***	750.801,5***	
P : M	3	313,264 n.s.	84.193,3***	1.239.315,0***	4.117.762,0***	6.978.257,0***	
(L)	1	261,974 n.s.	247.307,5***	3.667.983,0***	12.151.990,0***	20.634.460,0***	
(Q)	1	287,726 n.s.	1.277,4 n.s.	39.347,8 n.s.	200.856,4*	269.384,0**	
P : M	3	285,008 n.s.	195.870,4***	2.054.532,0***	3.724.093,0***	10.299.950,0***	
(L)	1	227,199 n.s.	580.892,3***	5.553.319,0***	10.177.730,0***	28.824.180,0***	
(Q)	1	433,551 n.s.	381,5 n.s.	580.368,4***	832.059,6***	2.060.119,0***	
Erro	24	165,826	2.888,5	18.224,3	26.595,5	24.879,3	
TOTAL	31						
C.V. (%)		15,8	15,6	12,7	11,4	8,5	

*; **, ***; n.s.: significativo a 5%; 1%; 0,1% de probabilidade e não significativo, respectivamente.

APÊNDICE 21 - Equações de regressão para concentração de K nas folhas (y), em percentagem, e k total acumulado (y), em g/vaso, durante o ciclo da planta, em função das doses de P aplicadas (x), em ppm, para plantas micorrizadas (M) e não micorrizadas (NM).

Idade da planta (dias)	Micorriza	Equações	R ² ^{1/}
- concentração -			
20	NM	$y = 3,047 - 0,0364x + 0,000391x^2$	0,73**
	M	$y = 2,419 + 0,00906x$	0,31*
40	NM	$y = 2,128 - 0,0209x + 0,000287x^2$	0,41**
	M	$y = 2,709 + 0,00235x$	0,99**
60	NM	$y = 2,447 - 0,0206x + 0,000163x^2$	0,56**
	M	$y = 2,296 - 0,00494x$	0,61***
80	NM	$y = 2,162 - 0,0225x + 0,000248x^2$	0,67**
	M	$y = 1,911 - 0,0201x + 0,000128x^2$	0,93***
Final Ciclo	NM	$y = 2,003 - 0,00737x$	0,61**
	M	$y = 2,217 - 0,01247x$	0,70***
- acumulação -			
20	NM	$y = 54,71z - 0,497x + 0,00558x^2 (x10^{-3})$	0,36*
	M	$y = 39,675 + 0,213x (x10^{-3})$	0,52***
40	NM	$y = 52,71 - 0,208x + 0,02007x^2 (x10^{-3})$	0,92*
	M	$y = 77,88 + 2,55x (x10^{-3})$	0,92***
60	NM	$y = 81,674 + 0,976x + 0,0232x^2 (x10^{-3})$	0,96*
	M	$y = 112,98 + 12,536x - 0,081x^2 (x10^{-3})$	0,96***
80	NM	$y = 69,636 + 0,831x + 0,0683x^2 (x10^{-3})$	0,99***
	M	$y = 163,42 + 16,73x - 0,122x^2 (x10^{-3})$	0,90***
Final Ciclo	NM	$y = 72,228 + 1,434x + 0,08086x^2 (x10^{-3})$	0,98***
	M	$y = 111,55 + 26,103x - 0,1845x^2 (x10^{-3})$	0,98***

^{1/} *, **, ***: significativo pelo teste F, a 5%, 1% e 0,1% de probabilidade, respectivamente.

APENDICE 22 - Equações de regressão para concentração de S nas folhas (y), em percentagem, e S total acumulado (y), em mg/vaso, durante o ciclo da planta, em função das doses de P aplicadas (x), em ppm, para plantas micorrizadas (M) e não micorrizadas (NM).

Idade da planta (dias)	Micorriza	Equações	R ² ^{1/}
- concentração -			
20	NM	$y = 0,232 + 0,0004769x$	0,81*
	M	$y = 0,1995 + 0,00561x - 0,0000481x^2$	0,60**
40	NM	$y = 0,267 + 0,00502x - 0,0000486x^2$	0,73***
	M	$y = 0,4098 - 0,00399x + 0,0000319x^2$	0,47*
60	NM	$y = 0,1737 + 0,00294x - 0,0000391x^2$	0,91***
	M	$y = 0,232 - 0,00334x + 0,0000233x^2$	0,96***
80	NM	$y = 0,154 + 0,000371x - 0,0000122x^2$	0,64*
	M	$y = 0,218 - 0,00588x + 0,0000510x^2$	0,84***
Final Ciclo	NM	$y = 0,274 + 0,00108x - 0,0000288x^2$	0,65**
	M	$y = 0,292 - 0,00383x + 0,0000257x^2$	0,84**
- acumulação -			
20	NM	$y = 5,26 - 0,0164x + 0,000171x^2$	0,11 n.s.
	M	$y = 4,224 + 0,0235x$	0,54**
40	NM	$y = 5,487 + 0,2224x$	0,94***
	M	$y = 9,835 + 0,374x$	0,93***
60	NM	$y = 7,865 + 0,366x$	0,96***
	M	$y = 14,227 + 1,410x - 0,00906x^2$	0,96***
80	NM	$y = 6,598 + 0,178x + 0,00526x^2$	0,99**
	M	$y = 17,879 + 2,034x - 0,0136x^2$	0,93*
Final Ciclo	NM	$y = 12,264 + 0,0497x + 0,01078x^2$	0,98***
	M	$y = 21,250 + 3,166x - 0,01793x^2$	0,98***

1/ *: **, ***; n.s.: significativo pelo teste F, a 5%, 1%, 0,1% de probabilidade e não significativo, respectivamente.

APÊNDICE 23 - Equações de regressão para concentração de cobre nas folhas (y), em ppm, e cobre total acumulado (y), em ng/vaso, durante o ciclo da planta, em função das doses de P aplicadas (x), em ppm, para plantas micorrizadas (M) e não micorrizadas (NM).

Idade da planta (dias)	Micorriza	Equações	R ² ^{1/}
- concentração -			
20	NM	$y = 5,983 - 0,0191x$	0,26**
	M	$y = 7,110 - 0,0887x + 0,000692x^2$	0,34*
40	NM	$y = 10,123 - 0,0592x$	0,25**
	M	$y = 9,866 + 0,0778x - 0,00101x^2$	0,51 n.s.
60	NM	$y = 7,755 - 0,193x - 0,004002x^2$	0,97**
	M	$y = 9,539 - 0,1105x + 0,00351x^2$	0,78**
80	NM	$y = 8,557 - 0,01905x$	0,16 n.s.
	M	$y = 11,50 - 0,0523x$	0,37***
Final Ciclo	NM	$y = 8,617 - 0,1421x + 0,001358x^2$	0,44**
	M	$y = 10,413 - 0,0531x$	0,86***
- acumulação -			
20	NM	$y = 30,16 - 0,1044x$	0,33**
	M	$y = 20,59 - 0,293x + 0,002846x^2$	0,43 n.s.
40	NM	$y = 22,93 + 0,6044x$	0,87***
	M	$y = 34,13 + 1,669x - 0,00967x^2$	0,82**
60	NM	$y = 36,44 - 0,745x + 0,04401x^2$	0,94**
	M	$y = 46,00 + 6,124x$	0,96***
80	NM	$y = 30,78 + 0,161x + 0,0377x^2$	0,97***
	M	$y = 74,35 + 7,559x - 0,034x^2$	0,96**
Final Ciclo	NM	$y = 35,92 - 0,917x + 0,0513x^2$	0,99***
	M	$y = 50,37 + 12,074x - 0,09006x^2$	0,98***

1/ *: **, ***; n.s.: significativo pelo teste F, a 5%, 1% e 0,1% de probabilidade, respectivamente.

APENDICE 24 - Equações de regressão para concentração de zinco nas folhas (y), em ppm, e zinco total acumulado (y), em mg/vaso, durante o ciclo da planta, em função das doses de P aplicadas (x), em ppm, para plantas micorrizadas (M) e não micorrizadas (NM).

Idade da planta (dias)	Micorriza	Equações	R ² ^{1/}
- concentração -			
20	NM	$y = 37,895 - 0,226x + 0,00229x^2$	0,24*
	M	$y = 30,976 + 0,326x - 0,00349x^2$	0,62***
40	NM	$y = 108,77 - 0,347x$	0,40***
	M	$y = 111,69 - 1,858x + 0,0164x^2$	0,73***
60	NM	$y = 122,90 - 0,933x + 0,00529x^2$	0,79*
	M	$y = 113,38 - 2,578x + 0,0225x^2$	0,86***
80	NM	$y = 132,47 - 0,553x$	0,80***
	M	$y = 142,61 - 3,324x + 0,0269x^2$	0,90***
Final Ciclo	NM	$y = 142,69 + 1,530x - 0,0224x^2$	0,66**
	M	$y = 149,74 - 1,695x + 0,0127x^2$	0,68*
- acumulação -			
20	NM	$y = 100,08 - 0,672x + 0,00587x^2 (x10^{-3})$	0,13 n.s.
	M	$y = 73,77 - 0,574x + 0,00721x^2 (x10^{-3})$	0,40 n.s.
40	NM	$y = 165,98 + 3,561x (x10^{-3})$	0,87***
	M	$y = 230,11 + 5,458x (x10^{-3})$	0,93***
60	NM	$y = 347,64 + 13,71x (x10^{-3})$	0,94***
	M	$y = 571,90 + 41,828x - 0,2637x^2 (x10^{-3})$	0,96***
80	NM	$y = 382,40 + 10,28x + 0,155x^2 (x10^{-3})$	0,99*
	M	$y = 790,70 + 52,72x - 0,316x^2 (x10^{-3})$	0,94***
Final Ciclo	NM	$y = 422,81 + 15,53x + 0,179x^2 (x10^{-3})$	0,98**
	M	$y = 739,40 + 85,46x - 0,497x^2 (x10^{-3})$	0,99***

1/ *: **, ***; n.s.: significativo pelo teste F, a 5%, 1%, 0,1% de probabilidade e não significativo, respectivamente.