

EFEITOS DA INFECÇÃO DE PLÂNTULAS DE CAFEIEIRO COM QUANTIDADES CRESCENTES DE ESPOROS DO FUNGO ENDOMICORRÍZICO *GIGASPORA MARGARITA*¹

JOSÉ OSWALDO SIQUEIRA², ARNALDO COLOZZI FILHO³ e ORIVALDO JOSÉ SAGGIN JÚNIOR⁴

RESUMO - Estudaram-se os efeitos da aplicação de quantidades crescentes de esporos do fungo micorrízico-arbuscular *Gigaspora margarita* na colonização radicular, crescimento e nutrição de mudas de cafeeiro (*Coffea arabica* L.). Plântulas no estágio de orelha-de-onça foram repicadas para vasos contendo 1,2 kg de solo fumigado e infectadas com suspensão de esporos, de modo a fornecer 0, 50, 100, 200, 400 e 800 esporos por plântula, além de um tratamento adicional com inóculo de solo (200 esporos/plântula). A produção de matéria seca 140 dias após a inoculação foi aumentada em até 7,4 vezes em relação ao controle sem inoculação. A colonização aumentou linearmente com a elevação da quantidade de esporos 30 dias após a inoculação, e não apresentou diferenças após este período. A elevação da quantidade de esporos acelerou a colonização, mas não resultou em benefícios adicionais para o crescimento das mudas quando se adicionaram mais de 100 esporos por planta. O uso de inóculo de solo mostrou-se mais eficaz que a suspensão de esporos. Os aumentos em crescimento das mudas foram acompanhadas de aumento dos teores de P e K na parte aérea.

Termos para indexação: micorriza vesicular-arbuscular, simbiose, fungos do solo, esporos, mudas, *Coffea arabica* L.

EFFECTS OF COFFEE TREE SEEDLING INOCULATION WITH INCREASING AMOUNTS OF SPORES OF THE ENDOMYCORRHIZAL FUNGUS *GIGASPORA MARGARITA*

ABSTRACT - The effects of inoculation with increasing amount/of spores of the endomycorrhizal fungus *Gigaspora margarita* on mycorrhizal root colonization, growth and nutrition of coffee tree seedlings were studied in a greenhouse experiment. At transplanting, seedlings were inoculated with spore suspensions adjusted to deliver 0, 50, 100, 200 and 800 spores/plant and with an additional treatment of soil inoculum (200 spores/plant). Plant dry weight after 140 days of growth was improved by as much as 7,4 fold by inoculation as compared to control. After 30 days of transplant, root colonization rates increased linearly with increasing spore number per plant, and did not show such increase in later periods. Increasing spore numbers accelerated colonization; however, additional growth benefits were not found when more than 100 spores were delivered per plant. Soil inoculum showed to be more effective than the equivalent spore suspension. Seedling growth increase was related to improved plant uptake of phosphorus and potassium.

Index terms: vesicular-arbuscular mycorrhiza, symbiosis, soil fungi, spores, *Coffea arabica* L.

INTRODUÇÃO

O uso, em larga escala, dos fungos endomicorrízicos como agentes promotores do crescimento vegetal, é, ainda, um desafio, dadas as dificulda-

des para a produção de grande quantidade de inóculo de boa qualidade e a complexidade do processo de estabelecimento e funcionamento da simbiose com as raízes (Siqueira & Franco, 1988; Menge, 1983). Para ser capaz de promover o crescimento da planta hospedeira, o fungo inoculado deve colonizar rapidamente as raízes, espalhar e diferenciar no córtex e produzir uma rede de micélio externo capaz de aumentar a área efetiva de solo explorado (Harley & Smith, 1983).

A velocidade e a extensão da colonização das raízes são fatores determinantes da efetividade

¹ Aceito para publicação em 11 de janeiro de 1994
Trabalho financiado pela FAPEMIG/EPAMIG e CNPq.

² Eng.-Agr., Ph.D., Prof.-Tit., Dep. de Ciência do Solo, Esc. Sup. de Agric. de Lavras (ESAL), Caixa Postal 37. CEP 37200-000 Lavras, MG. Bolsista do CNPq.

³ Eng.-Agr., M.Sc., IAPAR - Londrina, PR.

⁴ Eng.-Agr., M.Sc., Fitot. ESAL. Bolsista da CAPES.

simbiótica destes fungos e de sua habilidade em competir com fungos indígenas (Wilson, 1984). Além da influência do genoma da planta e do fungo, as características da colonização são afetadas pelo ambiente e pela densidade de propágulos do fungo no solo ou na rizosfera (Bowen, 1987). Diferentes espécies de fungos podem produzir diferentes quantidades de colonização para uma mesma quantidade de inóculo (Wilson & Trinick, 1983), mas a evolução da colonização em função da quantidade de inóculo é geralmente curvilínea (Carling et al., 1979; Daft & Nicolson, 1969; Ferguson, 1981). O desenvolvimento da colonização em função do tempo tem formato sigmoidal, com três fases distintas ou seja: fase "lag", fase de crescimento exponencial, e fase de saturação ou platô (Sutton, 1973). Plantas infectadas com quantidades elevadas de propágulos apresentam taxas de colonização mais elevadas no início do crescimento, mas geralmente não diferem ao final do experimento, quando mesmo aquelas com menores quantidades alcançam o ponto de saturação máximo da colonização (Bowen, 1987). Isto pode, no entanto, refletir na resposta à inoculação, a qual exige um nível mínimo de colonização (Cooper, 1984) e que esse nível seja atingido o mais rápido possível (Rich & Bird, 1974).

Mudas de café apresentavam elevado grau de micotrofismo, sendo as respostas em crescimento alcançadas quando a taxa de colonização micorrízica atinge pelo menos 30% (Colozzi-Filho & Siqueira, 1986). Diante do grande potencial para utilização destes fungos na cafeicultura, e da limitada disponibilidade de inoculante, torna-se importante conhecer a quantidade mínima de inoculante (propágulos) necessária para que a inoculação seja eficaz.

No presente estudo, avaliaram-se os efeitos da quantidade de esporos de *Gigaspora margarita* (Becker & Hall) aplicados por ocasião da repicagem, na evolução e taxa final da colonização e sua relação com o crescimento e nutrição de mudas de café em casa de vegetação.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em casa de vegetação no Departamento de Ciência do Solo da Escola Superior de Agricultura de Lavras (ESAL), Minas Gerais, utilizando-se de plântulas de café (*Coffea arabica* L.) cv. Mundo Novo LCP 379/19, repicadas para vasos de

plástico contendo 1,2 kg de material de um Latossolo Roxo distrófico de textura argilosa, coletado na camada arável (0-30 cm) de um perfil localizado no câmpus da ESAL. O solo foi secado ao ar, peneirado (malha de 2 mm), umedecido, e incubado com calcário dolomítico calcinado ("corretivo super 1000"), na base de 3,8 t/ha. Quando novamente secado, foi desinfestado com Bromex (brometo de metila 98% + cloropicrina 2%), na dosagem de 262 cm³/m³ de solo. Análise química parcial de uma amostra composta do solo após calagem apresentou: pH = 6,0; P = 0,9 mg/kg; K = 16 mg/kg; Al = 0,1 meq/100 g; Ca = 2,72 meq/100 g; Mg = 1,66 meq/100 g.

As plântulas de café foram obtidas a partir de sementes tratadas com hipoclorito de sódio 1%, por cinco minutos, e germinadas em vermiculita. Quando apresentavam o estágio de orelha-de-onça, foram repicadas para os vasos (uma por vaso) e infectadas através de pipetagem de suspensão de esporos sobre as raízes, de modo a fornecer 0, 50, 100, 200, 400 e 800 esporos do fungo endomicorrízico *G. margarita* por planta. Os esporos de *G. margarita* foram extraídos por peneiramento, via úmida (Gerdeman & Nicolson, 1963), e centrifugações em água e sacarose de vasos de cultivo com *Brachiaria decumbens* (Stampf) contendo o mesmo solo usado no experimento. A densidade nas suspensões foi determinada em três alíquotas de 1 ml cada, através de contagens em placas-de-petri caneladas, utilizando-se microscópio estereoscópico (40x). Para efeito comparativo, aplicou-se um tratamento adicional composto de 10 ml de inóculo de solo, suficientes para fornecer aproximadamente 200 esporos/plântula.

Na tentativa de equilibrar a microbiota entre os tratamentos, adicionaram-se a todas as plantas 10 ml de um filtrado preparado pela diluição de 50 ml de solo dos vasos de cultivo em 1 litro de água, seguido de peneiramento em malha de 0,044 mm e filtragem em papel de filtro comum. O experimento constou de cinco quantidades de esporos e de um tratamento adicional com inóculo de solo, todos em delineamento inteiramente ao acaso, com dez repetições. Durante todo o período de condução, o teor de umidade do solo nos vasos foi mantido em torno de 60% do volume total de poros (VTP), efetuando-se o controle através de pesagens e irrigações diárias. Aos 20 e 70 dias após a repicagem, foram adicionados, em cada vaso, 10 ml de uma solução de KH₂PO₄, de modo a fornecerem 60 mg de K/kg de solo e 50 mg de P/kg. Aos 40, 60, 80, 100 e 180 dias após a repicagem, foram adicionados 10 ml de uma solução de sulfato de amônio, de modo a fornecerem, em cada aplicação, 50 mg de N/kg de solo.

A cada 30 dias após a repicagem e inoculação foram realizadas avaliações das variáveis vegetativas e feitas amostragens de raízes em cada vaso, para avaliação da taxa de colonização radicular. Aos 150 dias, as plantas

foram cortadas na região do colo, separando-se as raízes e a parte aérea, que foram pesadas e secadas em estufa com circulação de ar ajustada a 68°C, para determinação do peso da matéria seca. As raízes foram separadas do solo, através de peneiramento, e lavadas, e retiraram-se amostras de 1 g, que foram preservadas em F.A.A. (água 46% + etanol 46% + formaldeído 6% + ácido acético 2%) até serem clarificadas em KOH 10% e coradas com azul-de-tripano (Phillips & Hayman, 1970), para a avaliação da taxa de colonização micorrízica, conforme Giovannetti & Mosse (1980). A densidade de esporos foi determinada através da extração dos esporos, das amostras de solo por peneiramento úmido, centrifugações e contagem em microscópio estereoscópio, conforme descrito anteriormente. Após a determinação do peso da matéria seca, a parte aérea foi triturada em moinho tipo Wiley, e, através de digestão sulfúrica com sais e catalizadores (N), digestão nítrica-perclórica (P, K, Ca, Mg, Cu, Zn e Mn) e digestão via seca (B), conforme Hunter (1975), foram obtidos os extratos para a determinação dos teores de nutrientes. O N foi determinado pelo método Kjeldahl modificado, e P e B, por colorimetria, usando-se azul-de-molibdênio e curcúmina, respectivamente; K, por fotometria de chama, e Ca, Mg, Cu, Zn e Mn, por espectrofotometria de absorção atômica (Sarruge & Haag, 1974). As quantidades totais de nutrientes acumuladas na parte aérea foram calculadas com base nos teores e quantidades de matéria seca.

Os dados foram submetidos a análise de variância e a testes de médias e correlação linear, utilizando-se o programa SANEST (Sarriés et al., 1992). Os ajustes de regressão foram feitos utilizando-se os programas SAEG (Universidade Federal de Viçosa, 19--) e AJUSTE (Zullo Junior & Arruda, 1986). Os dados referentes à taxa de colonização foram transformados para colonização múltipla pela equação $\ln 1/(1-x)$, onde x é a proporção de segmentos colonizados.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A evolução da colonização das raízes de mudas de cafeeiro em diferentes períodos após a repicagem e infecção com quantidades crescentes de esporos de *G. margarita* são apresentados na Fig. 1.

A curva de colonização seguiu o modelo sigmoidal descrito, tratando-se de outras espécies (Carling et al. 1979; Sutton, 1973), apenas nas quantidades mais baixas de esporos, apresentando uma fase "lag" até os 30 dias, quando se iniciou a fase de crescimento exponencial.

A fase de colonização máxima (platô) foi atingida por volta dos 90 dias, quando foram aplicados 200 esporos/planta, ou menos (Fig. 1A-C).

Para quantidades de esporos maiores que

200/planta e para o inóculo de solo, a progressão da colonização se deu de forma linear, eliminando-se a fase "lag" observada nas quantidades menores (Fig. 1D-F).

Diferenças marcantes na taxa de colonização só foram obtidas 30 dias após a inoculação, sendo máxima com inóculo de solo e 800 esporos por planta, e mínima, com 50 e 100 esporos.

Aos 60 dias, a colonização, em todos os tratamentos, se apresentava em torno de 50% do máximo (30-40% de colonização), o que evidencia a capacidade da *G. margarita* em colonizar rapidamente as mudas de cafeeiro.

Por ocasião do término do experimento, aos 140 dias, a taxa de colonização foi bastante elevada e não diferiu quanto às quantidades de esporos empregadas (Tabela 1). Isso indica que a capacidade máxima do cafeeiro de formar micorrizas, nas condições deste estudo, foi atingida com apenas 50 esporos por planta. Quando a taxa de colonização foi transformada para colonização múltipla e relacionada com \log_{10} do número de esporos (Fig. 2), verifica-se que aos 30 dias após a inoculação a colonização aumentou com a elevação do número de esporos, não se verificando o mesmo nas demais épocas de amostragem quando esta variável não diferiu entre as quantidades de esporos testados. Em estudo semelhante, conduzido com *Glomus deserticola* em grama-sudão (Ferguson, 1981), verificou-se aumento linear na colonização, em função da quantidade de esporos em diferentes épocas de amostragem. Essas respostas parecem estar relacionadas com as características do sistema radicular destas duas espécies vegetais.

Aumentos de crescimento das plantas só foram observados 90 dias após a inoculação (Fig. 3), ao término da fase exponencial de colonização (Fig. 1A-C). Plântulas não-inoculadas apresentaram crescimento muito reduzido e sintomas de deficiência de P. Ao final do experimento, o máximo de crescimento em altura (Fig. 3) e em produção de matéria seca da parte aérea (Tabela 1) foi atingido com a aplicação de 100 esporos/planta, embora a produção de raízes tenha respondido até 200 esporos/planta (Tabela 1). A elevação do número de esporos aplicados acima do suficiente para atingir o nível crítico de colonização para resposta do cafeeiro parece supérflua, como sugerem os estudos com outras espécies vegetais

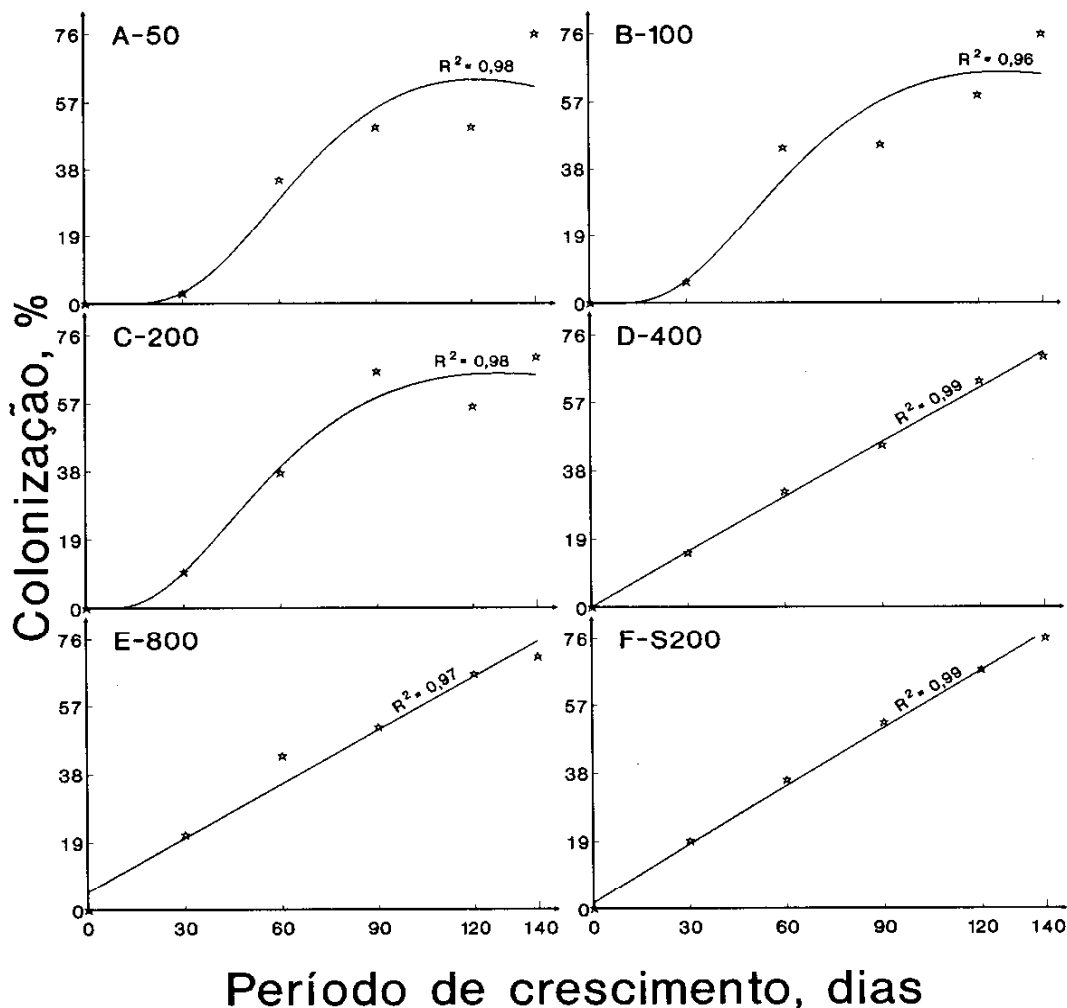


FIG. 1. Evolução da taxa de colonização micorrízica de raízes de mudas de caféiro infectadas com quantidades crescentes de esporos (50 a 800 esporos/planta) e com inóculo de solo (S-200).

(Carling et al. 1979; Daft & Nicolson, 1979; Ferguson, 1981; Ross & Harper, 1970).

Os efeitos das quantidades de esporos nos teores de nutrientes na parte aérea são apresentados na Tabela 1. Os teores de B e N foram reduzidos a partir de 50 esporos, enquanto os de P e K aumentaram. O teor de Cu foi ligeiramente aumentado quando foram usados 50 esporos, mas não diferiu do controle nas demais quantidades de esporos. Os

teores de Mn, Zn, Mg e Ca não foram alterados. A quantidade total de P acumulado na parte aérea seguiu a mesma tendência do crescimento da matéria seca (Fig. 4). O acúmulo dos demais nutrientes apresentou respostas semelhantes à do fósforo.

Os aumentos na produção de matéria seca foram acompanhados por elevações nos teores de P e K na parte aérea. Como tem sido na maioria dos casos (Cooper, 1984; Harley & Smith, 1983; Si-

TABELA 1. Produção de matéria seca, colonização micorrizica, densidade de esporos no solo e teores de nutriente em mudas de cafeeiro, 140 dias após a inoculação com quantidades crescentes de esporos e inóculo de solo.

Varíavel	Nº. de esporos aplicados/planta						Inóculo de solo
	0	50	100	200	400	800	
Mat. seca P.A. (g)	0,46 d	1,70 c	2,23 b	2,54 b	2,38 b	2,59 b	3,41 a
Mat. seca raiz (g)	0,12 e	0,45 d	0,54 cd	0,65 bc	0,63 bc	0,70 b	0,93 a
Colonização (%)	-	76 a	76 a	70 a	70 a	71 a	76 a
Esporos (n/30 ml)	-	15 c	20 bc	24 ab	23 abc	18 bc	31 a
N (%)	5,41 a	4,06 b	3,95 b	4,05 b	3,96 b	4,10 b	3,74 b
P (%)	0,06 b	0,17 a	0,17 a	0,16 a	0,17 a	0,17 a	0,17 a
K (%)	1,85 b	2,61 a	2,63 a	2,53 a	2,70 a	2,65 a	2,61 a
Ca (%)	0,80 a	0,83 a	0,86 a	0,84	0,88 a	0,83 a	0,87 a
Mg (%)	0,64 a	0,62 a	0,55 a	0,60 a	0,58 a	0,61 a	0,62 a
Cu (ppm)	8b	10 a	8 b	7 b	7 b	6 b	9 ab
Zn (ppm)	19 a	17 a	16 a	20 a	18 a	17 a	19 a
B (ppm)	26 a	13 b	12 b	13 b	10 b	13 b	12 b
Mn (ppm)	93 a	85 a	91 a	80 a	88 a	87 a	101 a

As médias dos tratamentos seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%.

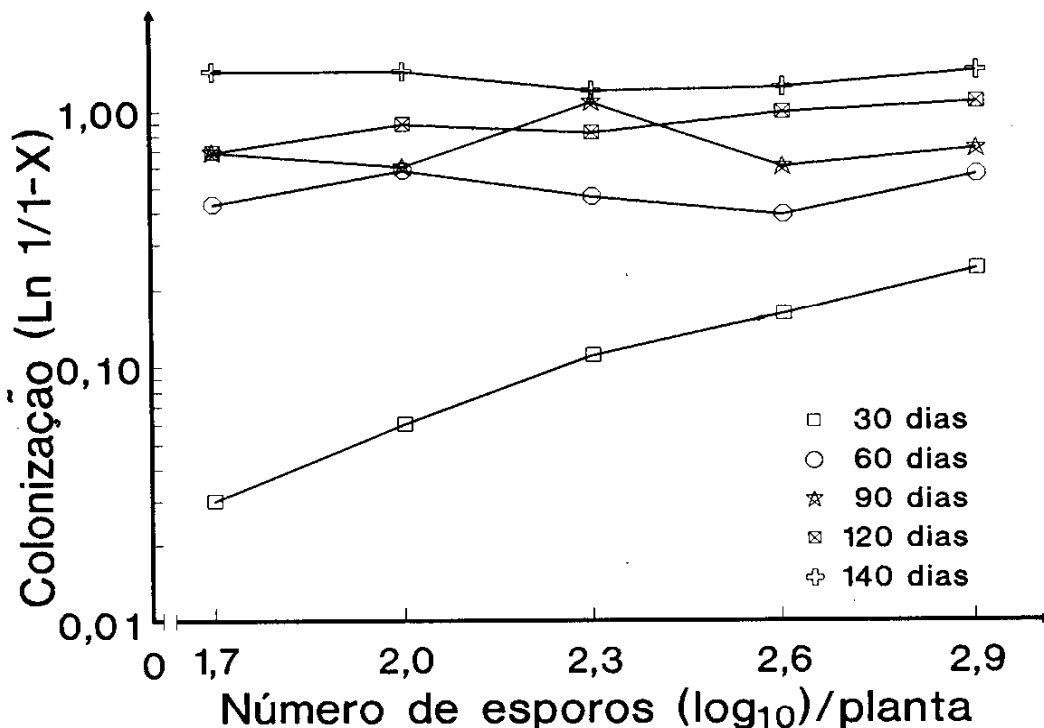


FIG. 2. Relação entre o número de esporos (\log_{10}) e a taxa de colonização transformada para colonização múltipla ($\text{Ln } 1/1-x$).

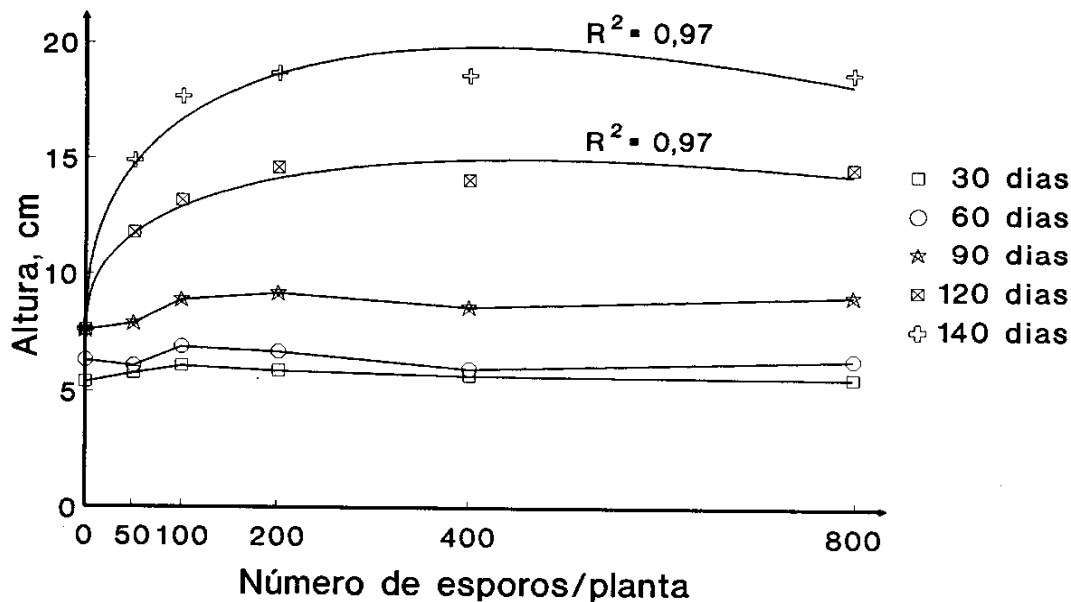


FIG. 3. Crescimento em altura das mudas em diferentes épocas, e quantidades de esporos aplicados na repicagem.

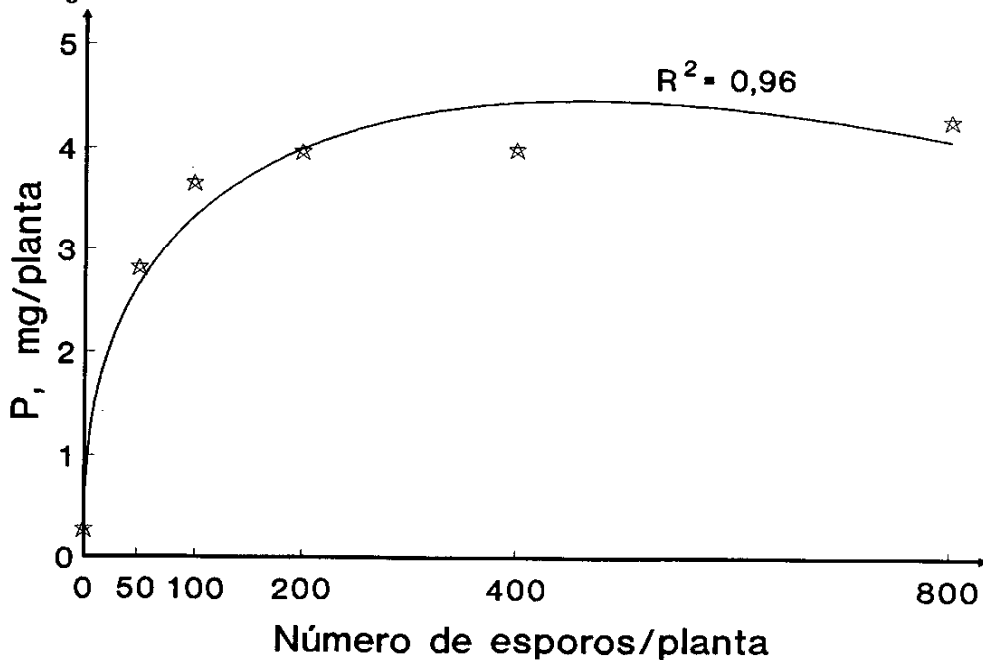


FIG. 4. Relação entre o número de esporos aplicados e a quantidade de fósforo (P) acumulado na parte aérea de mudas de café, 140 dias após a repicagem e inoculação.

queira & Franco, 1988), os benefícios nutricionais constituem o principal mecanismo de resposta das MVA, e indicam que a inoculação com apenas 50 ou 100 esporos por planta são suficientes para alcançar esses benefícios em mudas de cafeeiro. Esses benefícios, no entanto, nem sempre se relacionam com a taxa de colonização ao término do experimento, mas podem relacionar-se com a colonização em período precedente. O aumento de produção de matéria seca, aos 140 dias, correlacionou-se com a taxa de colonização aos 30 dias ($Y = 272 + 13,6X$; $R^2 = 0,80$; $P = 0,05$). Isso corrobora a idéia de que a velocidade de colonização é fator importante na resposta à inoculação (Bowen, 1987; Cooper, 1984; Harley & Smith, 1983).

Embora a taxa de colonização não tenha diferido entre os os tratamentos ao término do experimento, aos 30 dias após a inoculação, plantas inoculadas com inóculo de solo (Fig. 1F) apresentavam-se duas vezes mais colonizadas que aquelas com quantidades equivalentes de esporos (Fig. 1C) aplicados na forma de suspensão. De fato, vários estudos indicam a maior infectividade do inóculo de solo, comparado com suspensão de esporos (Ferguson, 1981; Johnson, 1977; Menge, 1983), especialmente em condições de baixa quantidade de propágulos. Isto parece resultar ou do maior número de propágulos no inóculo de solo - considerando que pedaços de hifas, raízes colonizadas e outras estruturas podem funcionar como propágulos viáveis (Hall, 1976; Johnson, 1977; Manjunath & Bagyaraj, 1981) -, ou da presença de microrganismos no solo, que favorecem a germinação dos esporos e facilitam a colonização (Ames, 1989; Azcon, 1989; Mosse, 1962). Além disso, o processo de extração dos esporos, apesar de contribuir para a quebra da dormência destes (Siqueira, 1987), pode reduzir sua infectividade.

Os mecanismos de controle do estabelecimento e do grau de colonização das raízes pelos FMVA são muito complexos (Bowen, 1987). A colonização ocorre quando uma raiz susceptível encontra um propágulo quiescente no solo, e a chance de isto ocorrer provém da densidade das raízes e dos propágulos no solo. A magnitude e a rapidez com que ocorrem as respostas à inoculação são governadas principalmente pela velocidade e extensão da colonização, as quais são controladas inicialmente pela duração ou extensão da fase "lag", que pode ser reduzida pela elevação do potencial de

inóculo, como foi verificado no presente estudo (Fig. 1 e 2). No entanto, embora a colonização tenha sido acelerada pela elevação da quantidade de esporos aplicada por planta, ao final do experimento não foram verificadas diferenças significativas quanto à colonização e quanto aos benefícios para a planta hospedeira quando se aplicaram mais de 100 esporos/planta. Isso indica que para as condições de substrato e ambiente do presente estudo, a adição de mais de 100 esporos por plântula de cafeeiro é desnecessária. A rapidez da evolução da colonização com inóculo de solo e a forma da curva de resposta em função da quantidade de esporos indicam que os benefícios máximos da inoculação podem possivelmente ser atingidos com o emprego de menor quantidade de inóculo. Se isto for confirmado experimentalmente, a aplicação, por ocasião da repicagem, de apenas 5 ml/plântula de solo-inóculo contendo 20 esporos/ml seria suficiente para garantir o sucesso da inoculação. Desse modo, seriam necessários apenas 5 litros de inóculo para cada 1.000 mudas a serem infectadas. Deve-se considerar, ainda, que densidades de esporos superiores à encontrada no solo-inóculo utilizado no presente estudo podem ser facilmente obtidas. Inóculos contendo 50 a 100 esporos por ml de solo são comumente produzidos em vasos de cultivo (Menge, 1983). Esse estudo sugere que, ao contrário do que ocorre com culturas anuais, a quantidade de inoculante necessária para a inoculação do cafeeiro em substrato fumigado não deve ser considerada como fator limitante.

CONCLUSÕES

1. A taxa de colonização das raízes de mudas de cafeeiro pela *G. margarita* foi influenciada pela quantidade de esporos aos 30 dias após a inoculação, mas não diferiu nas demais épocas de amostragem.
2. A elevação da quantidade de esporos acelerou a taxa de colonização, mas não influenciou a colonização final e os benefícios da inoculação, quando se aplicaram mais de 100 esporos por planta.
3. A inoculação aumentou até 7,4 vezes o crescimento das mudas aos 140 dias após a repicagem, o que evidencia o elevado grau de micotrofismo das mudas do cafeeiro.
4. O inóculo de solo foi mais eficaz que a sus-

penção de esporos contendo quantidades equivalentes de esporos.

5. A infecção de mudas de cafeeiro com 100 esporos por plântula por ocasião da repicagem para substrato fumigado é suficiente para garantir a micorrização.

6. Os aumentos no crescimento das mudas foram acompanhados de elevações nos teores de P e K na parte aérea.

REFERÊNCIAS

- AMES, R.N. Mycorrhiza development in onion in response to inoculation with hitin-decomposing actinomycetes. *New Phytologist*, v.112, p.423-427, 1989.
- AZCÓN, R. Selective interaction between free-living rhizosphere bacteria and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *Soil Biology Biochemistry*, v.21, p.639-644, 1989.
- BOWEN, G.D. The biology and physiology in infection and its development. In: SAFIR, G.R. (Ed.). *Ecophysiology of VA mycorrhizal plants*. USA: CRC Press, 1987. p.27-55.
- CARLING, D.E.; BROWN, M.F.; BROWN, R.A. Colonization rates and growth responses of soybean plants infected by vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *Canadian Journal of Botany*, v.57, p.1769-1772, 1979.
- COLOZZI-FILHO, A.; SIQUEIRA, J.O. Micorrizas vesículo-arbusculares em mudas de cafeeiro. I. Efeitos de *Gigaspora margarita* e adubação fosfatada no crescimento e nutrição. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, v.10, p.199-205, 1986.
- COOPER, K.M. Physiology of VA mycorrhizal associations. In: POWELL, C.L.; BAGYARA, D.J. (Eds.). *VA mycorrhiza*. USA: CRC Press, 1984. p.155-186.
- DAFT, M.J.; NICOLSON, T.H. Effect of endogone mycorrhiza on plant growth. III. Influence of inoculum concentration on growth and infection in tomato. *New Phytologist*, v.68, p.953-963, 1969.
- FERGUSON, J.J. *Inoculum production and field application of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi*. Riverside: University of California, 1981. 117p. Ph.D. Dissertation.
- GERDEMANN, J.W.; NICOLSON, T.H. Spores of mycorrhizal Endogone species extracted from soil by wet sieving and decanting. *Transactions of the British Mycological Society*, v.46, p.235-244, 1963.
- GIOVANNETTI, M.; MOSSE, B. An evaluation of techniques to measure vesicular-arbuscular mycorrhizal infection in roots. *New Phytologist*, v.84, p.489-500, 1980.
- HALL, I.R. Response of *Coprosma robusta* to different forms of endomycorrhizal inoculum. *Transactions of British Mycological Society*, v.67, p.409-411, 1976.
- HARLEY, J.L.; SMITH, S.E. *Mycorrhizal symbiosis*. London: Acad. Press, 1983. 483p.
- HUNTER, A.H. *Laboratory analysis of vegetal tissues samples*. Int. Soil Fert. Evaluation and improvement program. Raleigh: N.C. State University, 1975. 5p.
- JOHNSON, P.N. Mycorrhizal Endogonaceae in a New Zealand forest. *New Phytologist*, v.18, p.161-170, 1977.
- MANJUNATH, A.; BAGYARAJ, D.J. Components of VA mycorrhizal inoculum and their effects of growth of onion. *New Phytologist*, v.87, p.355-363, 1981.
- MENGE, J.A. Utilization of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi in agriculture. *Canadian Journal of Botany*, v.61, p.1015-1024, 1983.
- MOSSE, B. The establishment of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi under aseptic conditions. *Journal of General Microbiology*, v.27, p.509-520, 1962.
- PHILLIPS, J.M.; HAYMAN, D.S. Improved procedures for clearing and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Transactions of the British Mycological Society*, v.55, p.158-161, 1970.
- RICH, J.R.; BIRD, G.W. Association of early season vesicular-arbuscular mycorrhizae with increased growth and development of cotton. *Phytopathology*, v.64, p.1421-1425, 1974.
- ROSS, J.P.; HARPER, J.P. Effect of Endogone mycorrhiza on soybean yield. *Phytopathology*, v.60, p.1552-1556, 1970.
- SARRIÉS, G.A.; OLIVEIRA, J.C.V.; AIVES, M.C. *Sanest*. Piracicaba: CIAGRI, 1992. 80p. (Série Didática Ciagri, 6).
- SARRUGE, J.R.; HAAG, H.P. *Análises químicas em plantas*. Piracicaba: ESAL-USP, 1974. 56p.
- SIQUEIRA, J.O. Cultura axênica e monoxênica de fungos micorrízicos vesículo-arbusculares. In: REUNIÃO BRASILEIRA SOBRE MICORRI-

- ZAS, 2, 1987, São Paulo. **Programas e Resumos...** São Paulo: SMA/SA/USP, 1987. p.44-70.
- SIQUEIRA, J.O.; FRANCO, A.A. **Biotechnologia do solo - Fundamentos e perspectivas.** Brasília: MEC/ABEAS, 1988. 235p.
- SUTTON, J.C. Development of vesicular-arbuscular mycorrhizal in crop plants. **Canadian Journal of Botany**, v.51, p.2487-2493, 1973.
- UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA. **Sistema para Análise Estatística (SAEG)**, guia de uso resumido. Viçosa: Fundação Artur Bernardes, Divisão de Informática, [19--].
- WILSON, J.M. Comparative development of infection by three vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. **New Phytologist**, v.97, p.413-426, 1984.
- WILSON, J.M.; TRINICK, M.J. Infection, development, and interactions between vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. **New Phytologist**, v.93, p.543-553, 1983.
- ZULLO JUNIOR, J.; ARRUDA, F.B. **Programa computacional para ajuste de equações em dados experimentais.** Campinas: Instituto Agrônômico, 1986.