

MICORRIZA E RIZÓBIO NO CRESCIMENTO E NUTRIÇÃO EM N E P DE MUDAS DE ANGICO-VERMELHO

Diércules Rodrigues dos Santos

Professor da Unidade Acadêmica de Engenharia Florestal da Universidade Federal de Campina Grande, UFCG, CP. 64, CEF 58700-970, Patos, PB. e-mail: santos@cstr.ufcg.edu.br

Maria da Conceição Silva Costa

Mestranda em Agronomia do Centro de Ciências Agrárias da UFPB, Areia, PB. e-mail: agel@bol.com.br

José Romilson Paes de Miranda

Professores da Unidade Acadêmica de Engenharia Florestal da UFCG, Patos, PB. e-mail: paesr@bol.com.br

Rivaldo Vital dos Santos

Professores da Unidade Acadêmica de Engenharia Florestal da UFCG, Patos, PB. e-mail: vitalrs@bol.com.br

Resumo - O estudo foi conduzido em casa de vegetação no Departamento de Engenharia Florestal da Universidade Federal da Paraíba, Patos, PB, para avaliar o desempenho da inoculação com rizóbio nativo e/ou fungo micorrízico arbuscular (FMA) sobre o crescimento inicial do Angico vermelho (*Anadenanthera macrocarpa* (Benth.) Brenan.), leguminosa nativa de grande importância sócio-econômica e ecológica no semi-árido do Nordeste brasileiro. As plantas cresceram por 120 dias em vasos com 4,0 dm³ amostras de um substrato, terra de barranco e areia (2:1 v/v). Os seguintes tratamentos foram aplicados: inoculação de propágulos de FMA (*Glomus etunicatum*) com e sem rizóbio, previamente isolado e selecionado de solo da região (RN); adição de N (100 mg dm⁻³) e um controle (sem N e sem inoculação). Os tratamentos influenciaram diferentemente a altura e massa de matéria seca da parte aérea, sendo seus efeitos mais expressivos com FMA, em comparação ao controle. Os tratamentos de inoculação, isoladamente, foram suficientes para suprirem as necessidades nutricionais (N e P) das mudas de *A. macrocarpa*, até 120 dias.

Palavras chave: *Bradyrhizobium*, *Glomus etunicatum*, micorriza, *Anadenanthera macrocarpa*

MYCIRRHIZAL AND RIZOBIA IN THE GROWTH AND NUTRITION IN N AND P OF RED-ANGICO SEEDLINGS

Abstract - The study was carried out greenhouse of the Department of Forestry of the Federal University of Paraíba, Patos, PB. Are am of this study to evaluate the effect of the inoculation with native rhizobia and/or arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) of the initial growth of red-angico (*Anadenanthera macrocarpa* Benth. Bren.), a legume native tree of the great socio-economic and ecological importance in the semi-arid of the Brazilian northeast. The plants grew for 120 days in pots with 4.0 dm³ with a mixture by sand and clay (1:2, v/v). The five treatments consisted: inoculation of AM fungi (*Glomus etunicatum* Becker & Gerdmann) and/or native rhizobia (NR), previously selected; addition of N (100 mg dm⁻³) and a control (without N and inoculation). All treatments were significantly higher than the control for seedling height and shoot dry weight, mainly in the treatment with fungi inoculation. Inoculation treatments were able to supply the nutrients (N and P) for growth of *A. macrocarpa* seedlings until 120-days old.

Keywords: *Bradyrhizobium*, *Glomus etunicatum*, mycorrhiza, *Anadenanthera macrocarpa*

INTRODUÇÃO

O Angico vermelho (*Anadenanthera macrocarpa* (Benth. Brenan) é uma planta da família Fabaceae – Mimosoideae, de ocorrência no semi-árido

brasileiro. Sua importância se deve a tolerância a seca. Estudos realizados com esta espécie demonstram a sua grande importância para o desenvolvimento da região semi-árida. É uma espécie que vem sendo empregada para uso múltiplo, destacando-se nas indústrias de

cerâmica e de couro (DINIZ et al., 2003). Contudo, a sua exploração, exclusivamente predatória, vem pressionando-a a desaparecer da paisagem da região.

Em outras regiões do país, essas pressões são reduzidas, também, pela reposição vegetal, que é realizada principalmente através do plantio de mudas de qualidade. Embora, esta seja uma alternativa que acelera o processo de sucessão, a produção de mudas nativas de alta qualidade necessita de, além de outros insumos, doses sistemáticas de fertilizantes, pois a demanda de nutrientes é mais intensa na fase inicial de crescimento das plantas (FURTINI NETO et al., 2000). Sendo assim, em viveiros de alta rotatividade, os produtores, têm geralmente utilizado, uma fertilização de base com elementos essenciais (macro e micronutrientes), adicionada ao substrato, normalmente na forma sólida. E no decorrer do crescimento das mudas realizam-se fertilizações líquidas com N e K, ou com soluções completas de nutrientes (GONÇALVES et al., 2000).

Por outro lado, o uso desses insumos de natureza industrial na produção de mudas torna-se uma prática onerosa, inviabilizando a maioria dos produtores no nordeste brasileiro.

Microrganismos do solo promotores de crescimento de plantas pode ser uma alternativas ao uso desses insumos. Vários estudos demonstram que a inoculação de mudas de leguminosas arbóreas com fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) juntamente com rizóbio eficiente e efetivo, podem aumentar produtividade das plantas de vários ecossistemas (GONÇALVES et al., 1995; FARIAS et al., 1995 e 1996) além de ser fator importante no seu estabelecimento a campo (HERRERA et al., 1993), sendo o seu uso promissor especialmente para espécies que passam pela fase de viveiro.

As micorrízicos arbusculares (MAs), são associação mutualística de ocorrência muito generalizada, entre FMAs e a maioria das plantas superiores. Em geral, plantas micorrizadas produzem mais biomassa e melhora a absorção de nutrientes de plantas, especialmente os de baixa mobilidade, sobretudo o P (CARDOSO, 1996), além de aumentar a nodulação e efetividade dos nódulos em leguminosas (OLSEN, et al., 1995), onde a hospedeira atua como uma ponte de ligação entre ambos, e sendo beneficiada pelos mesmos (CARLING et al., 1978).

Esses efeitos são resultantes, principalmente, da manutenção de níveis estáveis de fósforo para a hospedeira, o que melhora o estado nutricional e estimula a fisiologia da leguminosa (SIQUEIRA, 1994).

Outros estudos mostraram que a colonização micorrízica eleva a absorção de N de plantas sob estresse hídrico (TOBAR et al., 1994), especialmente de espécies arbóreas não nodulíferas (PEREIRA, et al., 1996). Nada se sabe, contudo, sobre o desempenho da dupla inoculação de espécies nativas no semi-árido.

Este trabalho teve como objetivo avaliar o crescimento inicial do Angico vermelho, quando inoculada com rizóbio nativo (*Bradyrhizobium* sp) e *Glomus etunicatum* Becker & Gerdmann. e a interação entre os microsimbiontes.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado em casa de vegetação do Departamento de Engenharia Florestal da Universidade Federal da Paraíba, Patos - PB, localizada nas coordenadas geográficas 01° 07' latitude S e 37° 17' longitude W, onde, avaliaram-se os efeitos da aplicação de fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) e rizóbio nativo (selecionado), no crescimento inicial, Fixação Biológica do N₂ e nutrição em P e N de Angico vermelho [*Anadenatyhera macrocarpa* (Bentha Brenan.)].

O substrato continha uma mistura de areia lavada + terra de subsolo coletada no município de Teixeira, localizado no semi-árido Paraibano, com as características parciais químicas originais: pH_{CaCl2}(1 : 2,5) 5,8; P - 3,0 mg dm⁻³; H+Al - 0,15 cmol_c dm⁻³; Ca - 0,5 cmol_c dm⁻³; Mg - 0,1 cmol_c dm⁻³; K - 0,1 cmol_c dm⁻³; Na - 0,02 cmol_c dm⁻³, mais areia lavada. A terra foi seca ao ar, peneiramento (2,0 mm), e misturada a areia lavada (2:1 v/v). O substrato foi então, desinfestado em estufa (105-110°C), durante cinco dias e em seguida foram acondicionados 4,0 dm³ em vaso de polipropileno.

As sementes foram obtidas no Laboratório de Sementes do Departamento de Engenharia Florestal – UFCG, foram desinfestadas em solução de Hipoclorito de Sódio P.A. a 5% por cinco minutos e, em seguida submetidas a quebra de dormência por embebição em água estéril por doze horas. Foram alocadas três sementes por vaso, mantendo-se apenas uma plântula, após o desbaste, aos quatorze dias.

Utilizaram-se cinco tratamentos: 1- inoculação com rizóbio nativo (RN); 2- inoculação com fungo micorrízico arbuscular (FMA); 3 - dupla inoculação (FMA+RN); 4 - adição de 100 mg dm⁻³ de N (N) e 5 - Não inoculado e não fertilizado (C).

O estudo foi iniciado em junho de 2001 e conduzido em delineamento inteiramente casualizado (DIC), com cinco repetições por tratamento. Antes da semeadura realizou-se uma fertilização de base com 100 mg dm⁻³ de K (KCl) e 30 mg dm⁻³ de P (Ca(H₂PO₄)₂. H₂O. E, após, trinta dias da emergência foram aplicados 0,5 mL dm⁻³ de uma solução contendo (g L⁻¹): 1,55- H₃BO₃; 1,81 - MnCl₂; 0,22 - ZnSO₄; 0,08 - CuSO₄.5H₂O e 0,02 - NaMo.2H₂O em todos os tratamentos.

O inoculante de rizóbio nativo (I-290), foi obtido mediante isolamento das bactérias de vasos com

a cultura isca, utilizando amostras de solos coletada na rizosfera de angico, no município de Souza – PB. O isolado previamente selecionado foi identificado como *Bradyrhizobium* sp., e multiplicado em meio de cultivo líquido (YMA) por agitação orbital (VINCENT, 1970). A inoculação foi feita na sementeira, usando-se 2,0 mL vaso⁻¹ da cultura (10⁹ cel mL⁻¹), aplicada próximo as sementes.

Os esporos de FMA, *Glomus etunicatum* (Becker e Gerermann), procedente do Departamento de Ciência do Solo – UFLA – MG, foram obtidos através do peneiramento úmido (GERDEMANN e NICOLSON, 1963) e centrifugação (JENKINS, 1964), após multiplicação dos mesmos em vaso cultivados, com capim-corrente (*Urochloa moçambicensis* L).

O FMA foi inoculado aplicando-se uma suspensão contendo cerca de 250 por vaso, abaixo das sementes. A umidade do solo nas parcelas foi mantida entre 60-70 % do volume total de poros, através da pesagem semanal dos vasos.

As avaliações de altura e diâmetro do colo das mudas foram realizadas no ato da colheita, aos 120 dias após a sementeira (DAS). A parte aérea foi coletada submetida à secagem em estufa de circulação forçada (65-70 °C) por 72 horas, obtendo-se a biomassa seca da parte aérea (BSPA). Avaliou-se também o número de nódulos nas raízes, sendo em seguida secos em estufa de circulação forçada (65-70 °C) por 72 horas, obtendo-se, a massa dos nódulos secos.

A colonização micorrízica foi avaliada pela coloração de 0,5 g de raízes frescas de cada planta com Azul de Tripiano, após serem clarificadas em KOH 10 %, conforme PHILLIPS & HAYMANN (1970). E a presença de colonização micorrízica foi estimada com auxílio microscópio (40 x) segundo (GIOVANNETTI & MOSSE, 1980).

Em seguida, a matéria seca da parte aérea foi moída e submetida análise química de N e P. Os teores de P nos tecidos foram determinados em extrato obtido por digestão nítrico-perclórica (ZAROSKY & BAURAU, 1977), e determinados por colorimetria e o de N, pelo método Kjeldhal segundo MALAVOLTA et al. (1989).

Todos os dados obtidos foram submetidos à análise de variância, testes de média (Duncan 5%) e teste de F, utilizando-se o programa estatístico SAEG (Universidade Federal de Viçosa, s.d.). Os dados referentes ao número de nódulos e colonização micorrízica foram transformados para $(x + 0,5)^{1/2}$ e $\text{sen}(x/100)^{1/2}$, respectivamente.

A altura e diâmetro do colo das mudas de angico [(*A. macrocarpa* (Benth Brenan.))] avaliadas a 120 dias após o plantio, não diferiram para os tratamentos aplicados (Figura 1).

Em geral, o maior diâmetro do colo indica melhor captação e translocação de nutrientes na planta (SIQUEIRA, 1994). Resultando, no maior desenvolvimento, com redução no tempo, e custo de produção das mudas. Além, de proporcionar maior sobre ao transplantio e melhor crescimento das mudas em condições naturais a campo (HERRERA et al., 1993).

A resposta aos tratamentos com *G. etunicatum*, do rizóbio nativo, isoladamente e em conjunto, no entanto foi comparável à aplicação de N (100 mg dm⁻³) para altura das mudas. Sugerindo, que a inoculação, tenha suprido a necessidade desse nutriente no período inicial de crescimento da planta. Respostas similares ao presente também fora observado por MICHELSEN & ROENDAHAL (1990), em leucena. Este fato pode está associado a uma complexa relação entre os microsimbiontes dentro de uma dupla inoculação, onde a leguminosa atua como uma ponte de ligação entre ambos, e sendo beneficiada pelos mesmos (Carling et al, 1978), ainda que os microsimbiontes não sejam mutuamente beneficiados.

Para a biomassa seca da parte aérea (BSPA), observou-se diferença entre os tratamentos, onde as mudas inoculadas (*Glomus etunicatum*, isolados nativa e ambos), foram superiores ao controle, porém equivalentes entre si, e semelhantes à aplicação de N (100 mg dm⁻³) (Figura 2a). Para a produção de biomassa seca de raízes (BSR), os resultados não apresentaram diferença significativa (Figura 2b).

Diversos estudos com plantas micorrizadas evidenciam, maior produção de BSR do que plantas não micorrizadas, respostas não observadas neste estudo. É provável que a arquitetura diferenciada do sistema radicular do angico, apresentando xilopódio, estrutura comum em plantas da Caatinga ou ainda, a baixa disponibilidade de P no substrato utilizado possa ter interferido nesse padrão de resposta. Esta premissa é reforçada pelas observações feitas por Carneiro et al., (1996) em 31 espécies arbóreas tropicais na presença de dose mais elevada de P.

De maneira geral os parâmetros de crescimento e produções de biomassa avaliadas no angico, mostraram-se maiores na presença de N e nos tratamentos de inoculação. Esse comportamento sugere que esta espécie teria seu crescimento muito limitado e a sobrevivência comprometida em solo ou substrato de baixa fertilidade e na ausência de FMA.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

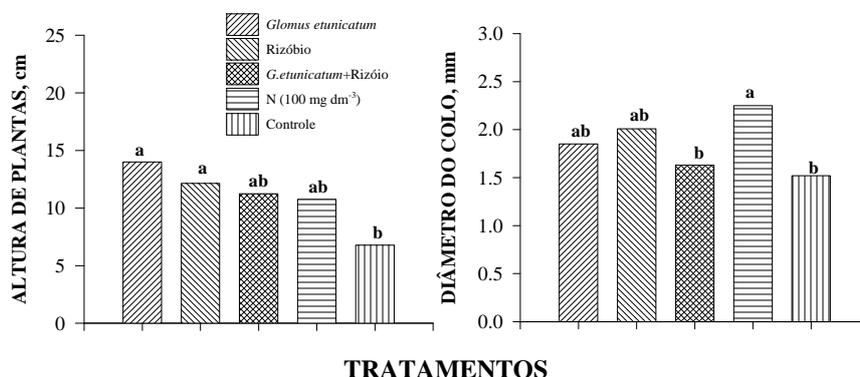


Figura 1 Altura e diâmetro do colo de mudas do angico nos tratamentos 120 dias após o semeio. Colunas com mesma letra não diferem dentro de cada variável (Duncan 5%).

As plantas inoculadas com a rizóbio nativa e *G. etunicatum*, apresentaram nodulação radicular (número e massa nodular) e percentagem de colonização micorrízica, superiores às plantas não inoculadas

(Quadro1). Observou-se ainda, ausência de nódulos e colonização nas raízes das plantas sem a inoculação com os respectivos microrganismos.

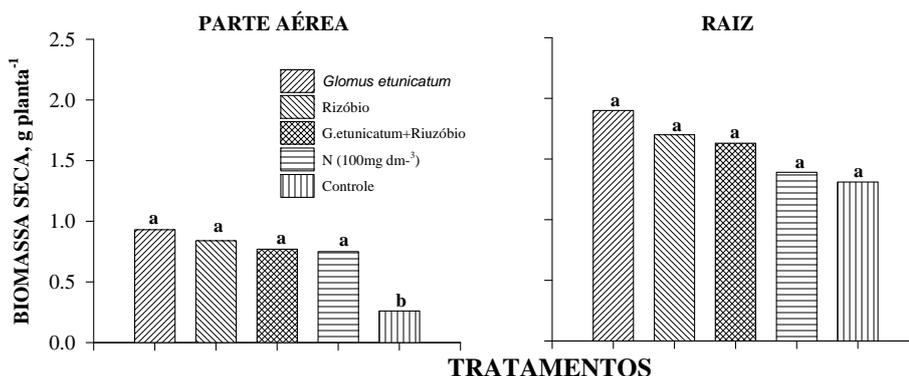


Figura 2. Produção de biomassa seca da parte aérea e da raiz em mudas, nos tratamentos aos 120 dias após a semeadura. Colunas com mesma letra não diferem dentro de cada variável (Duncan 5%).

É importante observar, que a resposta à nodulação e da colonização radicular corroboram com as observadas de melhor crescimento da planta. Entretanto, não se observou, efeito significativo da presença do *G. etunicatum* quando inoculado conjuntamente com rizóbio para o aumento na nodulação. MICHAELSEN e ROSENTHAL (1990), mostraram em estudo com *Acacia nilotica* e *Leucena leucocephala*, que a dupla inoculação, pode promover benefícios diferenciados com relação à nodulação, apresentando efeito sinérgico apenas na primeira. Assim, o efeito desta complexa relação simbiótica, parece depender da compatibilidade entre os microsimbiontes, e destes com o hospedeiro ou ainda, a devido a baixa efetividade da estirpe nativa selecionada, para as condições ambientais impostas no estudo.

Embora as repostas indiquem a falta de interação entre os microrganismos inoculados, como benefício para a nodulação, novos estudos com outros isolados devem ser estimulados, visto que a compatibilidade entre os simbiontes e o hospedeiro é um importante fator para o sucesso da simbiose (SIQUEIRA, 1994).

O N e P total acumulado na parte aérea do angico são apresentados na figura 3(a,b,c,d). Observa-se, de modo geral, que houve variação para tratamentos de inoculação. O N acumulado nas mudas inoculadas com *G. etunicatum* ou com adubação nitrogenada (100 mg dm⁻³), foi superior em relação aos demais tratamentos, inclusive ao controle, o mesmo não ocorrendo para os teores deste nutriente, provavelmente, devido ao efeito de diluição, decorrente da maior produção de massa das plantas micorrizadas, não

acompanhada pela maior absorção do nutriente pela espécie vegetal.

A produção de BSPA das mudas, obtido pelos tratamentos de inoculação, isolada e conjunta com *G. etunicatum* e rizóbio, promoveu neste parâmetro resposta similar a aplicação de N (100 mg dm⁻³). Evidenciando o benefício na absorção de N em presença desses microsimbiontes. Respostas estas atribuídas a maior exploração do solo pelas hifas fúngicas e da eficiência simbiótica do rizóbio.

Diversos estudos, têm demonstrado a importância das MAs na absorção e transferência de boa parte de N nas leguminosas arbóreas (TOBAR et al., 1994; PEREIRA et al., 1996), além dos efeitos diretos da nutrição fosfática (SIQUEIRA, 1994).

Contudo, a dupla inoculação, promoveu a redução da nodulação das mudas, indicando inibição do rizóbio nativo pelo *G. etunicatum*, provavelmente em decorrência da competição por fotossintatos proveniente da planta. (Tabela 1).

Assim sendo, o aumento da concentração de P, observado na figura 3, atribuído à inoculação *G. etunicatum*, não resultou no melhor desempenho da nodulação, como fora observado em outros estudos (MANJUNATH et al., 1984; MICHAELSEN e ROSENDHAL, 1990), o que ratifica a provável premissa de incompatibilidade entre os simbiontes utilizados neste estudo.

O teor de P, as mudas com *G. etunicatum* apresentaram valores superiores ao controle e aos demais tratamentos de inoculação, isolados ou em conjunto (Figura 3c). Já em relação ao P, acumulados na parte aérea, não houve diferença entre tratamentos, exceto em relação ao controle, quando todos foram superiores ao mesmo (Figura 3d).

De maneira geral, os resultados observados nas plantas com FMA isolado e em conjunto com rizóbio não diferiram quanto ao teor de N, mas superou ao controle com relação ao N acumulado. E quanto ao teor e acúmulo de P na planta, induziu maior teor e acúmulo desses nutrientes em relação às plantas controle.

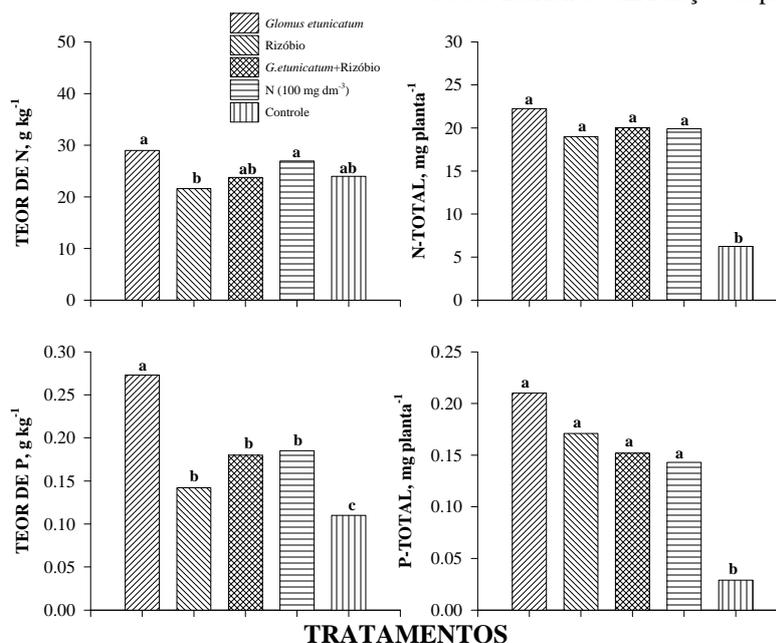


Figura 3. Conteúdo de N e P na parte aérea das mudas sob diferentes tratamentos aos 120 dias após a semeadura.

Colunas com mesma letra não diferem dentro de cada variável (Duncan 5%).

Tabela 1 Nodulação radicular e colonização radicular das mudas aos 120 dias após o semeadura.

Tratamentos	Nodulação radicular		Colonização
	Número	Massa mg planta ⁻¹	
<i>Glomus etunicatum</i>	0 B	0 b	37 A
Rizóbio	1,25 A	55,0 a	0 B
<i>G.etunicatum</i> + Rizóbio	0,75 A	21,0 a	24 A
N (100 mg dm ⁻³)	0 B	0 b	0 B
Controle	0 B	0 b	0 B

Médias seguidas de mesma letra minúscula não diferem entre si (Duncan 5%).

CONCLUSÕES

O crescimento e nutrição de N e P de mudas de Angico-vermelho foi incrementado pela inoculação com fungo micorrízico arbuscular (*G. etunicatum* Becker & Gerdman) e rizóbio nativos, mas os microsimbiontes não entre agiram entre si.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CARLING, D.E.; RIEHLE, W.E.; BROWN, M.F.; JOHNSON, D.R. Effects of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus on nitrate reductase and nitrogenase activities in nodulating and non-nodulating soybeans. **Physiology and Biochemistry**, Columbia, v. 68, p. 1590-1596, 1978.
- FARIA, M.; SIQUEIRA, J.O.; VALE, F.R.DO; CURI, N. Crescimento inicial da acácia em resposta a fósforo, nitrogênio, fungo micorrízico e rizóbio, **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v. 20, p. 209-216, 1996.
- FARIA, M.P.; SIQUEIRA, J.O.; VALE, F.R. do; CURI, N. Crescimento de leguminosas arbóreas em resposta a fósforo nitrogênio, fungos micorrízicos e rizóbio. I. *Albizia lebbek* (L.) Benth. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 19, p. 293-307, 1995.
- FURTINI NETO, A. E.; SIQUEIRA, J.O.; CURI, N.; MOREIRA, F.M.S. Fertilização em reflorescimento com espécies nativas. In: GOLÇALVES, J.L.M.; BENEDETTI, V. (Ed.) **Nutrição e fertilização florestal. Piracicaba: São Paulo: IPEF. 2000. p. 352-379.**
- GERDMANN, J.W.; NICOLSON, T.H. Spores of mycorrhizal *Endogone* species extracted from soil by wet sieving and decanting. **Trens. Br. Mycol. Soc.**, 46:235-244, 1963.
- GIOVANNETTI, M.; MOSSE, B. An evaluation of techniques to measure vesicular-arbuscular mycorrhizal infection in roots. **The New Phytologist**, London, v. 84, n. 3, p. 484-500, 1980.
- GONCALVES, J.L.M.; SANTARELLI, E.G.; MORAES NETO, S.R.; MANARA, M.P. Produção de mudas de espécies nativas: substrato, nutrição, sombreamento e fertilização. In:
- GONÇALVES, J.L.; BENEDETTI, V. eds. **Nutrição e fertilização florestal**. Piracicaba: IPEF, 2000, 427 p.
- HERRERA, M.A.; SALAMANCA, C.P.; BAREA, J.M. Inoculation of woody legumes with selected arbuscular Mycorrhizal fungi and rhizobia to recover desertification mediterranean Ecosystems. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 53, p. 129-133, 1993.
- JENKINS, W. R. A rapid centrifugal-flotation technique for separating nematodes from soil. **Plant Dis. Rep.** v. 48, p. 692-696, 1964.
- KOSKE, R.E.; GEMMA, J.N. A modified procedure for straining roots to detect VA micorrizas. **Mycology Research**, v. 92, p. 486-488, 1989.
- LAMBERT, D.H.; BAKER, D.E. & COLER JR., H. The role of mycorrhizae in the interaction of phosphorus with zinc, copper, and autres elements. **Soil Science Society American Journal**, 43:976-980, 1979.
- MALAVOLTA, E.; WTTI, G.C.; OLIVEIRA, S.A. de. Avaliação do estado nutricional das plantas: Princípios e Aplicações. POTAFOS: Piracicaba, 1989. 201p.

MANJUNATH, J.H.; BAGYARAJ, D.J.; GOPALAGOWA, H.S. Dual inoculation on with VA mycorrhizal and *Rhizobium* is beneficial to *Leucena*. **Plant and Soil**, The Hague, v. 78, n. 3, p. 445-448, 1984.

MICHAELSEN, A.; ROSENDHAL, The effect of VA-mycorrhizal fungi, phosphorus and drought stress on the growth of *Acacia nilotica* and *Leucena leucocephala* seedling. **Plant and Soil**, v. 124, p. 7-13, 1990.

NAGY, S.; NORDBY, H.E.; NEMEC, S. Composition of lipids in roots of six citrus cultivars infected with the vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus, *Glomus mosseae*. **New Phytology**, Oxford, v. 85, p. 337-384, 1980.

NORDBY, H.E.; NEMEC, S.; NAGY, S. Fatty acids and sterols associated with citrus root mycorrhizae. **Journal Agriculture Food Chemistry**, v. 29, p. 396-401, 1981.

OLSEN, T.; HABTE, M. Mycorrhizal inoculation effect on nodulation and N accumulation in *Cajanus cajan* at soil P concentrations sufficient or inadequate for mycorrhiza-free growth. **Mycorrhiza**, v. 5, p. 395-399, 1995.

PEREIRA, E.G.; SIQUEIRA, J.O.; CURTI, N.; MOREIRA, F.M.S.; PURCINO, A.A.C. Efeitos da micorriza e do suprimento de fósforo na atividade enzimática e na resposta de espécies arbóreas ao nitrogênio. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v. 8, n. 1, p. 59-65, 1996.

PHILLIPS, J.M.; HAYMANN, D.S. Improved procedures for clearing and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection, **Transaction of British Mycological Society**, Cambridge, v.55, p. 158-161, 1970.

POCOVSKY, R.S. Micronutrient uptake and distribution in mycorrhizal or phosphorus-fertilized soybeans. **Plant Soil**, 95:379-388, 1986.

SIQUEIRA, J.O. Micorrizas arbusculares. In: ARAÚJO, R.S.; HUNGRIA, M. eds. **Microrganismos de importância ecológica**, Brasília, EMBRAPA, 1994, p. 151-194.

TOBAR, R.; AZCON, R.; BAREA, J.M. Improved nitrogen uptake and transport from ¹⁵N-labelled nitrate by external hyphae of arbuscular mycorrhiza under water stressed condition. **New Phytology**, Oxford, v. 126, p. 119-122, 1994.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA. Sistema para análise estatística (SAEG): guia resumido. Viçosa: Fundação Arthur Bernades/ Divisão de Informática, s.d., n.p.

VINCENT, J.M. **A manual for the practical study of root-nodule bacteria**. London. JBP, 1970. 164 p. (Handbook, 15)