



UNIVERSIDADE DE ÉVORA

ESCOLA DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA
DEPARTAMENTO DE FITOTECNIA

**Efeito da Aplicação de Fósforo e Tipo de
Propágulo Micorrízico nos Parâmetros da
Colonização e Crescimento do Milho**

Mariline Leal Caseiro

Orientador: Prof. Dra. Isabel Maria de Oliveira Brito

Co-Orientador: Prof. Dr. Mário José Gouveia Pinto Rodrigues
Carvalho

Júri:

Presidente: Dr. Luís Leopoldo de Sousa e Silva, professor auxiliar com
agregação da universidade de Évora

Vogal-Arguente: Dr. Luís Manuel Cardoso Vieira Alho, professor
auxiliar da universidade de Évora

Vogal-orientador: Dra. Isabel Maria de Oliveira Brito, professora
auxiliar da universidade de Évora

Mestrado em Engenharia Agronómica

Dissertação

Évora, 2014



UNIVERSIDADE DE ÉVORA

ESCOLA DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA
DEPARTAMENTO DE FITOTECNIA

**Efeito da Aplicação de Fósforo e Tipo de
Propágulo Micorrízico nos Parâmetros da
Colonização e Crescimento do Milho**

Mariline Leal Caseiro

Orientador: Prof. Dra. Isabel Maria de Oliveira Brito

Co-Orientador: Prof. Dr. Mário José Gouveia Pinto
Rodrigues Carvalho

Júri:

Presidente: Dr. Luís Leopoldo de Sousa e Silva, professor auxiliar com
agregação da universidade de Évora

Vogal-Arguente: Dr. Luís Manuel Cardoso Vieira Alho, professor
auxiliar da universidade de Évora

Vogal-orientador: Dra. Isabel Maria de Oliveira Brito, professora
auxiliar da universidade de Évora

Mestrado em Engenharia Agronómica

Dissertação

Évora, 2014

Agradecimentos

À Professora Isabel Brito;

Ao Professor Mário Carvalho;

Ao Professor Luís Alho;

À Eng. Filipa Santos;

Ao Eng. Manuel Figo;

À Dra. Clarice Brígido;

À D. Gertrudes Mariano;

Ao Rui Carlos;

À minha Família;

Aos Professores que me transmitiram conhecimentos ao longo do curso;

A todos os que não estão mencionados e contribuíram para a realização desta dissertação;

À Universidade e à cidade de Évora.

Resumo

Avaliou-se o efeito de diferentes níveis de fósforo e condições de micélio micorrízico (intacto ou fragmentado) na intensidade de colonização, crescimento e aquisição de nutrientes na planta de milho.

Realizou-se um ensaio em estufa, em vasos com 8 Kg de solo. O micélio foi previamente desenvolvido pelo crescimento da serradela, que após 8 semanas foi cortada. Para ter duas condições de micélio, em metade dos vasos crivou-se o solo, permanecendo a outra metade não perturbada, de seguida foi plantado o milho, suplementado com 4 níveis de fósforo (equivalente a 0, 15, 30 e 45 kg.P.ha⁻¹).

A colonização do milho a partir de micélio intacto, iniciou-se mais cedo possibilitando um desenvolvimento mais rápido da planta, uma maior extração e eficiência na aquisição de fósforo. A colonização arbuscular tende a reduzir com a adubação fosfatada, conforme referido na literatura, mas a densidade de raiz colonizada não foi afetada.

Palavras-Chave: Fungos micorrízicos arbusculares; Micélio extra radicular; Taxa de colonização micorrízica; Densidade de raiz colonizada; Fósforo; *Zea Mays* L..

Effect of Phosphorus Application and Type of Mycorrhizal Propagules in Parameters of Colonization and Growth of Maize.

Abstrat

The effect of P levels and mycorrhizal inoculum source (intact and disrupted extra radical mycelium - ERM) of propagules on the colonization, growth and nutrient acquisition in maize was evaluated. A greenhouse pot experiment was performed, using 8 kg of soil per pot. Serradella was previously grown, for 8 weeks, to develop the mycelium. Before planting the maize the soil was disturbed in half of the pots and left undisturbed in the rest. Four levels of P were applied (equivalent to 0, 15, 30 e 45 kg.P.ha⁻¹) at planting.

When an intact ERM was the preferential source of inoculum the colonization started earlier and developed faster, and the growth and nutrient acquisition of maize was enhanced. The application of P reduced the mycorrhizal colonization rate, but not the colonised root density.

Keywords: Arbuscular mycorrhizal fungi, Extra radical mycelium, Colonisation rate, Colonised root density, Phosphorus, *Zea Mays* L..

Índice	
Agradecimentos	I
Resumo	II
Abstrat	III
Índice de Figuras	V
Índice de Tabelas	V
Lista de Abreviaturas.....	VII
Anexos.....	VIII
I - Introdução	1
II - Revisão Bibliográfica	3
2.1 - Micorrizas Arbusculares (AM).....	3
2.2 - Benefícios Decorrentes da Micorrização.....	6
2.3 - Fungos Micorrízicos Arbusculares e a Absorção de Nutrientes	7
2.3.1 - Fósforo	7
2.3.2 - Outros Nutrientes	10
2.4 - Benefícios Decorrentes da Micorrização Para o Sistema Agrícola.....	12
2.5 - Quantificação da Colonização Micorrízica	14
2.6 - O Milho como Planta Hospedeira	15
III - Material e Métodos	16
3.1 - Localização do Ensaio	16
3.2 - Colheita e Caracterização do Solo.....	16
3.3 - Procedimento Experimental e Condução do Ensaio.....	17
3.4 - Procedimento Laboratorial para Análise de Parâmetros	21
3.4.1 - Peso Seco da Parte Aérea (SDW)	21
3.4.2 - Peso Fresco da Raiz (FRW).....	22
3.4.3 - Comprimento de Raiz (RD).....	22
3.4.4 - Colonização Arbuscular (AC).....	23
3.5 - Delineamento Experimental, Recolha e Análise de Dados	26
IV - Resultados	27
V - Discussão de Resultados	37
VI - Conclusões Gerais	39
Referências Bibliográficas	40

Índice de Figuras

Figura 1 - Representação esquemática das principais características das micorrizas arbusculares.....	6
Figura 2 - Estufa onde decorreu o ensaio	16
Figura 3 - Plantação de sementes de serradela pré-germinadas	17
Figura 4 - Plantas de serradela com oito semanas.....	17
Figura 5 - Crivagem do solo.....	18
Figura 6 - Representação de vasos com solo não perturbado (A) e com crivado (B) ...	18
Figura 7 - Milho pré-germinado.....	18
Figura 8 - Plantação de milho pré-germinado	18
Figura 9 - Milho com 31 dias	19
Figura 10 - Pesagem da parte aérea do milho.....	21
Figura 11 - Raízes frescas de milho aos 31 dias, para o nível 0 kg.P.ha ⁻¹ (9 - micélio intacto; 13 - micélio fragmentado)	22
Figura 12 - Medição do comprimento da raiz.	23
Figura 13 - Lâminas preparadas para observação microscópica	24
Figura 14 - Relação entre taxa de colonização e peso seco da parte aérea do milho, após 21 dias de crescimento para o nível de 0 kg de fósforo.ha ⁻¹	30
Figura 15 - Relação entre taxa de colonização e peso seco da parte aérea do milho, após 1 dias de crescimento para o nível de 15 kg de fósforo.ha ⁻¹	30
Figura 16 - Relação entre taxa de colonização e peso seco da parte aérea do milho, após 21 dias de crescimento para o nível de 30 kg de fósforo.ha ⁻¹	31
Figura 17 - Relação entre taxa de colonização e peso seco da parte aérea do milho, após 21 dias de crescimento para o nível de 45 kg de fósforo.ha ⁻¹	31

Índice de Tabelas

Tabela 1 - Esquema experimental do ensaio	17
Tabela 2 - Esquema experimental do ensaio	20
Tabela 3 - Cálculo da colonização arbuscular (AC), da colonização vesicular (VC) e da colonização por hifas (HC).....	25
Tabela 4 - Efeito dos fatores em estudo (nível de fósforo, condição do micélio e tempo de crescimento) no peso seco da parte aérea (SDW) (g/planta).....	26
Tabela 5 - Efeito dos fatores em estudo (nível de fósforo, condição do micélio e tempo de crescimento) na relação Raiz/ Parte Aérea (R/S).....	27

Tabela 6 - Efeito dos fatores em estudo (nível de fósforo, condição do micélio e tempo de crescimento) na densidade de Raiz (RD) (cm raiz/cm ³ de solo).	28
Tabela 7 - Efeito dos fatores em estudo (nível de fósforo, condição do micélio e tempo de crescimento) na colonização arbuscular (AC).	29
Tabela 8 - Efeito dos fatores em estudo (nível de fósforo, condição do micélio e tempo de crescimento) na densidade de raiz colonizada (CRD) (cm raiz colonizada/cm ³ de solo)	32
Tabela 9 - Extração de fósforo (mg P/Vaso).	33
Tabela 10 - Concentração de fósforo na parte aérea (g.kg ⁻¹).....	34
Tabela 11 - Concentração de nutrientes na parte aérea	35

Lista de Abreviaturas

- AM - Micorrizas Arbusculares
- AMF - Fungos Micorrízicos Arbusculares
- ERM - Micélio Extra Radicular
- P - Fósforo
- N - Azoto
- K - Potássio
- S - Enxofre
- Ca - Cálcio
- Mg - Magnésio
- Fe - Ferro
- Mn - Manganês
- Zn - Zinco
- Cu - Cobre
- B - Boro
- P1 - Nível 1 - 0 kg.ha⁻¹ de fósforo
- P2 - Nível 2 - 15 kg.ha⁻¹ de fósforo
- P3 - Nível 3 - 30 kg.ha⁻¹ de fósforo
- P4 - Nível 4 - 45 kg.ha⁻¹ de fósforo
- TC - Taxa de Colonização Micorrízica
- NT - Solo Não Mobilizado
- CT - Mobilização Tradicional
- SDW - Peso Seco da Parte Aérea
- FRW - Peso Fresco da Raiz
- R/S - Relação entre Parte Aérea e Raiz
- RD - Densidade Radicular
- AC - Colonização Arbuscular
- VC - Colonização Vesicular
- HC - Colonização por Hifas
- CRD - Densidade de Raiz Colonizada

I - Introdução

As plantas são por definição organismos superiores que conseguem converter a energia solar em energia química utilizável, esta pode ser utilizada pelas próprias plantas assim como por outros organismos, entre os quais os fungos micorrízicos arbusculares (AMF) (Wildermuth & MacNamara, 1987 citados por Sjöberg, 2005).

As relações de simbiose mutualista que se estabelecem na associação das plantas hospedeiras com fungos são um processo complexo (Hetrick et al., 1995 citados por Miller & Kling, 2000) e dinâmico que conferem uma série de benefícios a ambos os simbiossiontes (Abbott et al., 1995). Inúmeros estudos evidenciam a importância desta simbiose para a produção agrícola e sustentabilidade dos ecossistemas. Uma alternativa econômica a adotar passa por maximizar a atividade dos fungos indígenas do solo (Siqueira et al., 1991a citados por Silva-Junior & Siqueira, 1997). Observações feitas por Evans & Miller (1990) evidenciam que se a rede de hifas de fungos micorrízicos arbusculares (AMF) não for interrompida, a colonização da cultura seguinte estabelece-se mais rapidamente e conseqüentemente a capacidade de absorção de nutrientes aumenta.

Tendo em conta que no Alentejo predominam solos relativamente pobres e de baixa fertilidade, escassos em fósforo disponível, o potencial de aumentar os benefícios resultantes da simbiose entre plantas hospedeiras e AMF é elevado, dado estas constituírem uma importante via para a exploração mais adequada dos nutrientes do solo em condições adversas (Brito, 2008).

As práticas agrícolas como as rotações de culturas, mobilização do solo e a aplicação de fertilizantes, provocam mudanças nas características químicas, físicas e biológicas do solo. Essas alterações podem influenciar a relação entre os AMF e a planta, o potencial produtivo e o balanço entre as comunidades de AMF no solo (Brito et al., 2008).

O solo em sistemas agrícolas de baixo input (nomeadamente em agricultura de conservação) tem uma maior população de AMF do que solos em agricultura convencional (Douds et al., 1995). Em sistemas com aplicação generosa de fósforo, tem-se verificado uma redução da intensidade de colonização das culturas, questionando-se assim a importância das micorrizas arbusculares em sistemas mais intensivos.

A presente dissertação teve como objetivo estudar o efeito da aplicação de diferentes níveis de fósforo (correspondente a 0, 15, 30 e 45 kg.ha⁻¹) e condição do micélio extraradicular (micélio extra radicular intacto ou fragmentado) no momento da plantação, no progresso da simbiose, crescimento e aquisição de nutrientes na cultura de milho.

II - Revisão Bibliográfica

2.1 - Micorrizas Arbusculares (AM)

As micorrizas são simbioses mutualistas que se estabelecem entre certos fungos existentes no solo e a raiz das plantas. O primeiro registo de que fungos encontrados nas raízes podiam ser benéficos para as plantas foi feito em plantas da espécie *Monotropa uniflora* L. (Kamienski, 1881 citado por Sjöberg, 2005), tendo o termo micorriza (do Grego: mykes = fungo e rhiza = raiz) sido utilizado pela primeira vez em 1885 pelo biólogo alemão Albert Bernard Frank. Existem vários tipos de micorrizas de acordo com as características do fungo envolvido e da planta hospedeira (endomycorrizas, ectomycorrizas, micorrizas ericóides, micorrizas orquidóides, micorrizas arbutóides e as micorrizas monotrepóides), sendo que as mais estudadas são as ectomycorrizas e as endomycorrizas (Schachtman et al., 1998). Contudo as que têm mais expressão no reino vegetal são as endomycorrizas do tipo arbuscular (Smith & Read, 1997). As micorrizas arbusculares (AM) são a simbiose mais comum no que diz respeito às relações que se estabelecem entre fungos do solo e a raiz de uma planta hospedeira, estando presentes em cerca de 80% das espécies vegetais (Smith & Read, 1997). Os AMF são omnipresentes nos solos agrícolas (Kabir, 2005), tendo já sido relatada a sua presença em todos os continentes (Sjöberg, 2005).

As simbioses que os AMF estabelecem com as plantas hospedeiras são biotróficas obrigatórias. O que significa que estes fungos apenas completam o seu ciclo de vida na presença de uma planta hospedeira ou das suas raízes, desde que estejam metabolicamente ativas (Moreira & Siqueira, 2006 citados por Gomide, 2013). Estes recebem da planta hidratos de carbono resultantes da fotossíntese, necessários à sua sobrevivência (Smith & Read, 1997).

A única forma de reprodução conhecida deste fungo é assexuada, sendo assegurada por esporos (estruturas de resistência a longo prazo, que permanecem viáveis mesmo quando a planta hospedeira não está presente) (Kabir, 2005). Na maioria das espécies, estes desenvolvem-se do micélio extra radicular (ERM) (Klironomos & Hart, 2002), embora em alguns casos o seu desenvolvimento possa dar-se intraradicularmente.

Segundo Simon et al. (1993) a origem dos AMF remonta ao Paleozóico, pois pensa-se que o fungo tenha surgido algures entre 353 a 462 milhões de anos e que a simbiose que

se estabeleceu com as plantas hospedeiras tenha tido um papel fundamental na colonização da terra por plantas vasculares.

Os fungos micorrízicos arbusculares constituem um filo próprio, os Glomeromycota, que está dividido em quatro ordens, oito famílias e dez géneros. Os géneros que incluem a maioria das espécies descritas são Acaulospora, Gigaspora, Glomus e Scutellospora (Schüßler, 2005 citado por Sjöberg, 2005). Com base nas características morfológicas dos esporos estão atualmente descritas cerca de 217 espécies, no entanto e atendendo à distribuição quase ubiqüitária destes fungos e ainda à informação quanto à sua diversidade percebida pelos estudos de biologia molecular, pensa-se que existirão muitas mais espécies. A diversidade de espécies de AMF num determinado local varia com vários fatores ambientais, entre os quais se destacam fatores bióticos nomeadamente as espécies de plantas hospedeiras disponíveis nesse local, ou abióticos (pH, disponibilidade de nutrientes, salinidade, agregação do solo...) (An et al., 1993). Dado a prolificidade das plantas hospedeiras, cada planta pode estabelecer simbioses com mais que uma espécie ou isolado de AMF uma vez que na mesma raiz podem coexistir várias espécies deste fungo (McGonigle & Fitter, 1990). No entanto, certas plantas têm mais afinidade com determinados isolados do que com outros (Koide, 2000), pelo que não havendo grande grau de especificidade entre o fungo e a planta hospedeira existem ligações preferenciais.

Na sequência dum diálogo bioquímico conducente ao reconhecimento entre a raiz da planta hospedeira e o AMF, forma-se um apressório a partir do qual o fungo vai colonizar intra e inter-celularmente a zona cortical da raiz da planta. Os arbúsculos, que caracterizam este tipo de micorrizas e por isso estão diretamente associados ao seu nome, são ramificações profusas de hifas que ocorrem intra-celularmente, julgando-se que correspondem a uma superfície de troca entre os dois simbioses. Podem ocupar cerca de 90% do volume da célula, através da redução de espaço vacuolar (Bago et al., 2000) e têm um tempo de vida relativamente curto (cerca de 2 a 3 semanas), após o qual colapsam (Smith & Read, 1997). Alguns géneros de AMF podem formar inter-celularmente estruturas de armazenamento que contêm lípidos abundantes e numerosos núcleos que se designam por vesículas, estas podem ocorrer na extremidade ou a meio de uma hifa. Ligada à rede de micélio que se desenvolve dentro da raiz da planta hospedeira, vai simultaneamente desenvolver-se uma rede de micélio no solo circundante à raiz colonizada, o micélio extra radicular (ERM). Este tem a capacidade de translocar água e

nutrientes do solo até à planta hospedeira (Smith & Read, 1997). A representação esquemática das principais características das micorrizas arbusculares pode ser consultada na Figura 1.

A capacidade dos AMF em colonizar as raízes das plantas hospedeiras, pode variar de acordo com diversos fatores, nomeadamente: afinidade entre simbiosites, quantidade de hifas na superfície radicular (Abbott & Robson, 1984), condição do micélio e a sua capacidade para colonizar as raízes (Pearson & Schweiger, 1993), suscetibilidade da raiz a formar micorrizas (Hepper, 1985; Sanders, 1993) e as condições do solo (citados por Abbott et al., 1995).

As diferentes fontes de inóculo podem ser: esporos, raiz de uma planta hospedeira colonizada e micélio extra radicular (Smith & Read, 1997). O micélio extra radicular prolifera externamente a partir das raízes colonizadas, sendo a principal fonte de inóculo de plantas hospedeiras quando estas estão presentes em solo não perturbado (Jasper et al., 1989b). Numa rotação de culturas ou na presença de culturas de cobertura, a cultura precedente (*developer*) à cultura principal, desenvolve micélio extra radicular, que ao ficar intacto, coloniza mais rapidamente a planta hospedeira seguinte, acelerando desta forma o desenvolvimento micorrízico assim como todo o desenvolvimento da planta (Brito, 2008).

Os AMF encontram-se naturalmente nos solos agrícolas nas diversas formas descritas anteriormente, contudo pode ser utilizando inóculo comercial e embora a inoculação com fungos micorrízicos tenha potencial para a produção agrícola sustentável, incluindo a conservação ambiental, esta é ainda uma tecnologia com limitações. Tendo em conta a natureza obrigatória da simbiose, a produção de inóculo comercial acarreta custos elevados, tornando a sua aquisição pouco competitiva, comparativamente com a aquisição de fertilizantes (Saito & Marumoto, 2002).

Outro problema com que os agricultores se deparam é a escolha de um inóculo apropriado, dado que as informações fornecidas pelos fornecedores sobre um inóculo podem ser enganadoras, pois a sua eficácia pode variar de acordo com o tipo de solo e/ou as condições que se fazem sentir (Gianinazzi & Vosátka, 2004).

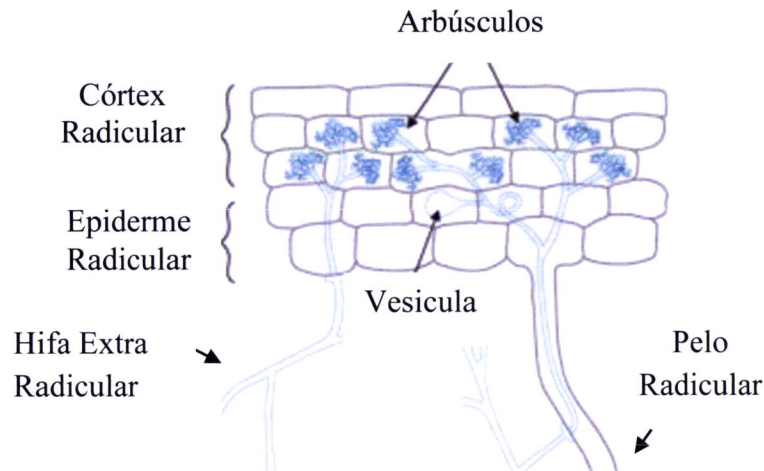


Figura 1 - Representação esquemática das principais características das micorrizas arbusculares, (adaptado de Moore et al., 2011), disponível em http://www.davidmoore.org.uk/assets/mostly_mycology/diane_howarth/am.htm, (consultado a 22 de Agosto de 2014).

2.2 - Benefícios Decorrentes da Micorrização

São vários os benefícios decorrentes da micorrização do qual as plantas hospedeiras podem usufruir. Contudo há diversos fatores a interagir, que podem ser de natureza biótica ou abiótica, o que compromete e altera o desenrolar de todo o sistema.

O micélio extra radicular por ser mais fino que as raízes, 2- 4 μm (Barley, 1970 citado por Bolan, 1991), consegue penetrar em poros do solo inacessíveis aos pêlos radiculares da planta, 10 μm (Bjorkmann, 1949 citado por Bolan, 1991), aumentando assim o volume de solo que pode ser explorado (Rhodes & Gerdemann, 1975).

Sieverding (1991) citado por Brito (2008) estimou que por cada centímetro de raiz colonizada, há um aumento de 15 cm^3 no volume de solo explorado por via do micélio extra radicular, podendo este valor aumentar até 200 cm^3 dependendo das condições ambientais. A rede de micélio pode ainda fazer a conexão entre as raízes de plantas diferentes, sendo os AMF capazes de equilibrar as interações de relações inter e intraespecíficas das diversas plantas presentes num solo (Smith & Read, 1997). Sendo que plantas micorrizadas já demonstraram ter mais resistências a stresses bióticos, nomeadamente a patogênicos existentes no solo (Graham, 2001).

O ERM está diretamente ligado à formação de microagregados, o que consequentemente melhora a estrutura, arejamento e permeabilidade do solo (Horn & Dexter, 1989 e Horne et al., 1994 citados por Rilling & Mummey, 2006). O ERM influencia ainda a

decomposição das raízes e a natureza dos produtos decompostos (Gadgil & Gadgil, 1971 e 1975 citados por Rilling & Mummey, 2006).

A micorrização proporciona à planta hospedeira uma redução do stress hídrico (Augé, 2004) tolerância a temperaturas adversas, salinidade e pH elevado ou baixo (Sannazzaro et al., 2006; Yano & Takaki, 2005).

Heggo et al. (1990) e Ahmed (2006) relataram que os AMF têm capacidade de crescer em locais com elevados teores de metais pesados. Aparentemente os elementos tóxicos são sequestrados pelos AMF nas hifas, nos grânulos de polifosfato, minimizando a sua transferência para a planta hospedeira.

Brito et al. (2014) avaliaram que houve uma redução da toxicidade em Manganês quando a planta hospedeira se encontrava micorrizada logo desde uma fase precoce do seu desenvolvimento.

Podendo ainda ser dado como exemplo a minimização do choque de transplante, que ocorre em plantas micorrizadas (Subhan et al., 1998).

2.3 – Fungos Micorrízicos Arbusculares e a Absorção de Nutrientes

A provisão adequada de nutrientes é fundamental para garantir o potencial de produção das culturas. Contudo é importante fazer a sua gestão de forma consciente e sustentável.

2.3.1 – Fósforo

O fósforo é um macronutriente principal, este pode tornar-se limitante ao crescimento e desenvolvimento das plantas nos ecossistemas naturais (Miller & Kling, 2000).

O suplemento deste nutriente à cultura é influenciado pelo fósforo presente no solo, pela adubação, pelo meio ambiente e pela capacidade que o solo tem de reabastecer a zona de depleção, que se situa entre 1 a 2 mm das raízes das plantas, sendo que apenas 1 a 2 % do fósforo aplicado ao solo é absorvido (Barber, 1995 citado por Bolan, 1991). Muitas plantas têm mostrado benefícios por estarem associadas a microrganismos em condições de baixos níveis de fósforo (Gyaneshwar et al., 2002), conseguindo assim melhorar a absorção deste nutriente.

O fósforo existe no solo na forma orgânica e inorgânica (Dalal, 1977 e Larsen, 1967 citados por Bolan, 1991). A distribuição relativa destas duas formas nos solos depende de vários fatores, entre os quais: tipo de vegetação, historial de fertilização, atividade microbiana, tipo de cultura e tipo de solo (Anderson, 1980; Dalal, 1977 e Hedley et al., 1982a citados por Bolan, 1991).

As plantas adquirem o fósforo na forma inorgânica (preferencialmente na forma de ião PO_4^-) (Brito, 2008), contudo o fósforo nesta forma pode ocorrer na solução do solo, mas numa pequena porção do fósforo total (<1%), este é facilmente adsorvido na superfície do solo, precipitado como ferro e alumínio em solos ácidos, ou cálcio e magnésio em solos alcalinos ou calcários. Assim a disponibilidade deste elemento depende em grande medida do pH do solo (Sample et al., 1980 citados por Bolan, 1991).

O fósforo orgânico é geralmente convertido em fósforo inorgânico através da mineralização, que é causada quer pelos microrganismos, quer por enzimas originadas nas suas próprias autólices (Cosgrove, 1977 citado por Bolan, 1991). O fósforo nesta forma ocorre tanto solúvel na solução do solo como insolúvel adsorvido nas partículas do solo ou na matéria orgânica (Anderson, 1980 citado por Bolan, 1991).

As práticas agrícolas convencionais, com a utilização de pesticidas (fungicidas, inseticidas e herbicidas), têm marginalizado o papel da biota do solo, (incluindo tanto saprófitas como fungos micorrízicos) assim como os adubos, na reciclagem de nutrientes (Brito, 2008).

Os depósitos de fósforo são finitos, estando estes gradualmente a esgotar-se (Tiessen, 1995 citado por Grant et al., 2004) sendo a sua utilização suscetível de causar perigos, nomeadamente: esgotamento de fontes de energia fóssil, poluição do ar e fundo dos oceanos e alterações climáticas. Os AMF associados às plantas cultivadas têm o potencial de reduzir as necessidades de aplicação deste nutriente, reduzindo em certo modo os perigos referidos anteriormente (Kahiluoto et al., 2000).

Read (1991) refere que os AMF evoluíram no sentido de se especializaram na captação de fósforo. Esta hipótese explica o aumento do micélio extra radicular, permitindo assim à planta adquirir fósforo a partir de zonas longínquas da raiz. O que torna as plantas micorrizadas menos dependentes de adubações fosfatadas (Freitas et al., 2006). Neste sentido há uma certa dependência das plantas hospedeiras em estabelecer simbioses micorrizicas (Manjunath & Hable, 1992 citados por Abbott et al., 1995).

A taxa de entrada de fósforo nas micorrizas, pode ser seis vezes superior à que ocorre nas raízes (Sanders & Tinker, 1973). Sendo este rápido movimento no interior das hifas alcançado pelo aumento da afinidade por íons de fósforo e pela diminuição da concentração limiar necessária para a absorção deste nutriente (Bolan, 1991).

A colonização de raízes por AMF modifica a resposta do crescimento da planta por aumentar a absorção de fósforo sendo o grau de modificação dependente do nível inicial de P e a forma do inóculo (Abbott & Robson, 1981 e Abbott et al., 1995).

A concentração de fósforo inorgânico no interior das hifas micorrízicas é aproximadamente 1000 vezes superior à que se encontra na solução do solo (Pearson & Gianinazzi, 1986). Este é absorvido pelas hifas e armazenado sob três formas: Ortofosfato solúvel (Harley & Loughman, 1963), polifosfato solúvel (Loughman & Ratcliff, 1984; Martin et al., 1983) e grânulos de polifosfato (Chilvers & Harley, 1980; White & Brown, 1979). Posteriormente este passa para as raízes das plantas através de três passos, são eles: transporte ativo em fungos fora da raiz; transporte passivo a partir de fungos até à interface entre fungo/raiz e transporte ativo na raiz (Woolhouse, 1975) (citados por Bolan, 1991).

Desde há muito está generalizada e veiculada por vários autores a ideia de que uma alta fertilização em fósforo pode limitar a colonização micorrízica da planta hospedeira, na medida em que há uma redução da infecciosidade e da eficiência da colonização por AMF (Kahiluoto et al., 2000), da produção de hifas (Bruce et al., 1994), da germinação de esporos (Miranda & Harris, 1994 citados por Kahiluoto et al., 2000) e da formação de arbusculos (Smith & Read, 1997), evidenciando que a micorrização pode ser imediatamente melhorada através da omissão da aplicação de fósforo (Kahiluoto et al., 2000).

Estas observações indicam que a simbiose entre planta e fungo, é capaz de detetar a concentração de fósforo no ambiente e que isso pode influenciar a regulação da expressão de genes envolvidos na formação do arbusculo. Contudo, paradoxalmente, se o fósforo disponível no solo é muito baixo, a colonização e produção de esporos micorrízicos pode ser restrita, tendo de se aumentar a sua aplicação (Ezawa et al., 2002).

2.3.2 – Outros Nutrientes

São vários os nutrientes necessários às plantas. Considera-se que um nutriente é essencial se este desempenhar na planta um papel fisiológico distinto e se a planta não conseguir completar o seu ciclo de forma adequada na sua ausência sofrendo uma deficiência específica (Arnon & Stout, 1939).

Apesar das plantas necessitarem dos macronutrientes em maiores quantidades, os micronutrientes não são menos importantes, estes são igualmente necessários.

A aquisição de nutrientes do solo e a taxa a que estes são adquiridos depende de vários fatores, nomeadamente: do pH; da temperatura, do arejamento do solo, da concentração e mobilidades na solução do solo.

Os nutrientes podem alcançar a superfície das raízes por três processos distintos, são eles: interceção radicular, fluxo de massa e difusão (Barber, 1984 citado por Bolan, 1991).

A maioria dos nutrientes é adquirido pelas plantas através de fluxo de massa, contudo o fósforo, que é considerado um nutriente pouco móvel é adquirido maioritariamente através da interseção radicular, é principalmente neste, assim como no zinco e cobre que se tem verificado a ação benéfica da presença de AMF na sua aquisição (Varenes, 2003).

Após o hidrogénio, o carbono e o oxigénio, que fazem parte da estrutura de moléculas orgânicas e são obtidos a partir da água, oxigénio molecular e dióxido de carbono, o azoto (N) é o elemento mais abundante nas plantas e aquele que mais frequentemente limita o seu crescimento (Varenes, 2003).

Os AMF têm pouca capacidade de aumentar a absorção dos iões móveis (NO_3^-), mas transportam o NH_4^+ (Smith & Read, 1997). Foi ainda observado que as comunidades de AMF são inferiores em solos fertilizados com N, que em solos não fertilizados (Corkidi et al., 2002).

No entanto pesquisas realizadas sugerem que há benefícios se houver colonização simultânea de leguminosas por AMF e por bactérias fixadoras de azoto, ficando-se perante uma simbiose tripartida (El-Hassanin & Lynd, 1985; Niemi & Eklund, 1988).

Na maioria das investigações verificam-se valores mais baixos de potássio (K) em tecidos de plantas micorrizadas do que em plantas não micorrizadas (Smith et al., 1981 citados por Varma, 2008).

Clark & Zeto (2000) analisaram uma série de estudos onde observaram que a aquisição de enxofre (S) foi melhorada em plantas hospedeiras de AMF relativamente a plantas não colonizadas.

A disponibilidade dos micronutrientes catiões (ferro (Fe), manganês (Mn), zinco (Zn) e cobre (Cu)) depende do pH, do potencial redox e do teor de matéria orgânica dos solos. As deficiências em ferro, manganês e zinco são vulgares em solos calcários, enquanto, que a toxicidade de manganês é frequente em solos ácidos ou alagados, desta forma o aumento ou redução da aquisição destes nutrientes depende em parte das condições (Varenes, 2003).

As absorções de zinco e cobre são reforçadas na presença de AMF nas plantas hospedeiras, mas em menor grau do que o relatado para o fósforo (Varenes, 2003).

De uma forma geral, plantas micorrizadas adquirem menos manganês do que as plantas não micorrizadas, contudo em solos ácidos, o manganês é mais solúvel, o que se traduz num aumento da sua absorção, pelo que a redução da sua absorção provocada pelas micorrizas pode ser um benefício (Brito et al., 2014).

Ortas & Akpinar (2006) relataram que altos teores de boro (B) na solução do solo pode ter efeitos negativos nas raízes colonizadas com AMF, contudo estes resultados são inconsistentes, pois Kothari et al. (1990) relataram que houve melhorias, Clarke et al. (1999) relataram que houve redução e Lu & Miller (1989) relataram que não afetou a parte aérea de plantas colonizadas com AMF. O mesmo tipo de inconsistência tem sido relatado na aquisição de outros nutrientes como cálcio, magnésio e sódio também porque há variações de fatores bióticos e edáficos (Clark & Zeto, 2000).

2.4 – Benefícios Decorrentes da Micorrização para o Sistema Agrícola

Um sistema agrícola é constituído por vários componentes que interagem entre si, e que não devem ser analisados isoladamente. Desta forma as decisões tomadas em relação a cada um dos seus componentes vão afetar todo o sistema, cujo desempenho se pretende que seja maximizado.

O solo é um dos componentes centrais dos sistemas agrícolas, pelo papel que desempenha no fornecimento de nutrientes, água e oxigénio às plantas. Em relação a qualquer destas funções a estrutura é uma propriedade importante e a sua qualidade, nomeadamente a estabilidade dos agregados, é influenciada pelas práticas agrícolas (Kabir, 2005).

A rotação de culturas é uma prática agrícola que ao ser utilizada pode influenciar a comunidade de AMF presente nos solos. Consoante esta é ou não praticada há uma alteração da biodiversidade (Johnson et al., 1991 e Hendrix et al., 1995). Também a mobilização influencia fortemente o solo, a nível químico, físico e biológico.

A mobilização é parte integrante da agricultura moderna (Kabir, 2005). Com o surgimento dos tratores, os agricultores passaram a ter de exercer menos esforço e convenceram-se de que quanto mais mobilizassem mais rentável seria a sua produção. Em sistemas de agricultura tradicional, associada à mobilização profunda (CT) (superior a 15 centímetros), onde se verifica o reviramento do solo (lavoura), reduz a estabilidade dos agregados, o que torna o solo mais vulnerável à erosão e dificulta a formação de micorrizas, pela redução da densidade de propágulos na zona de enraizamento (Kabir et al., 1998 e McGonigle & Miller, 2000).

Um estudo levado a cabo por Kabir et al. (1998) durante 12 anos consecutivos, afirma que a diversidade de espécies de fungos micorrízicos em solo perturbado é também significativamente menor que em solo não perturbado, seleccionando assim os AMF presentes, levando à eliminação de uns em benefício de outros. A mobilização destrói ainda a rede de micélio extra radicular criada e a sua conexão com as raízes das plantas hospedeiras, consequentemente reduz a infeção micorrízica que se traduz numa menor capacidade de absorção de nutrientes (entre os quais o fósforo), para além de destruir os canais criados por raízes de plantas precedentes e o seu contacto com as raízes das novas plantas (Evans & Miller, 1988). Nestes sistemas agrícolas, a colonização micorrízica de novas culturas depende de forma mais acentuada da germinação de esporos. Contudo, esta é uma colonização micorrízica menos eficiente para o estabelecimento de novas

micorrizas, dado que a colonização a partir da germinação de esporos é um processo mais lento do que a partir de uma rede de micélio pré-estabelecida (Brito, 2008).

Os sistemas de agricultura de conservação associados à não mobilização (NT) ou à mobilização reduzida, eram utilizados em tempos remotos nas culturas indígenas, pois a força muscular do Homem não era suficiente para mobilizar grandes áreas nem a grande profundidade (Derpsch, 1998). Tendo este entrado em desuso com o surgimento da mecanização.

Nos tempos atuais a não mobilização só passou a ser praticável com o aparecimento de herbicidas totais não residuais (Derpsch, 1998).

Esta prática, ao manter resíduos à superfície, protege o solo da erosão e aumenta o seu teor de matéria orgânica (MO), o que conseqüentemente aumenta os níveis de fertilidade (Cole et al., 1987 e Smith, 1987 citados por Follett & Schimel, 1989).

Os AMF, especialmente as hifas intactas que estabelecem ligações entre as partículas de solo, têm um contributo direto na agregação e estabilidade dos agregados (Kabir & Koide, 2000) e conseqüentemente têm influência na sua estrutura (Kabir, 2005; Abbott et al., 1995). Entre outros fatores porque apresentam grandes quantidades de glomalina, uma glicoproteína, que se encontra localizada na superfície das hifas (Rillig et al., 2001).

Numa perspetiva de produção agrícola sustentável, é muito importante compreender a dinâmica dos AMF nos solos agrícolas e a influência que a mobilização do solo tem nestes fungos (Kabir, 2005), assim como a sua importância para programas de reabilitação dos solos (Siqueira et al., 1994 e Janos, 1996 citados por Pouyú-Rojas & Siqueira, 2000).

Segundo Rilling et al. (1999) a agregação do solo para além de ser importante em terrenos agrícolas é também em contexto de recuperação de áreas degradadas, de forma a prevenir a erosão e promover o armazenamento de carbono no solo. Pode dar-se como exemplo a situação que se faz sentir em condições de clima mediterrâneo, onde predominam solos pobres.

Neste contexto é evidente o potencial que o uso de simbioses micorrízicas apresentam no aumento da eficiência dos sistemas agrícolas (Abbott et al., 1995), podendo mesmo tornar-se decisivas (Brito et al., 2014).

O clima mediterrânico apresenta um padrão conhecido de invernos amenos e chuvosos e verões quentes e secos, havendo uma exposição dos microrganismos do solo a extremos de frio e calor (Abbott et al., 1995 e Brito, 2008).

A sobrevivência e a persistência de formas menos resistentes de inóculo, neste tipo de clima (como é o caso do micélio extra radicular), assume uma importância cada vez maior como unidade infecciosa nesta região do globo (McGee et al., 1997).

De acordo com Douds & Miller (1999) a compreensão dos impactos das práticas agrícolas sobre as comunidades de AMF ajudaria a garantir uma oportunidade para a utilização da simbiose e contribuir assim para o êxito de práticas sustentáveis.

2.5 – Quantificação da Colonização Micorrízica

Há várias décadas que as medições da presença dos AMF são determinadas pela percentagem de comprimento radicular infetado (taxa de colonização). A taxa de colonização micorrízica é o parâmetro normalmente usado para avaliar a influência das condições de crescimento no progresso da colonização ou a micotroficidade de determinada planta. Contudo este é um parâmetro pouco diferenciador, pois integra o crescimento de dois indivíduos diferentes, que podem ter velocidades de crescimento distintas (Allen, 2001). Assim, de modo a discriminar a influência de um ou outro simbiote no progresso da colonização, no presente estudo, propõe-se a adoção de um novo parâmetro para aferir da capacidade de cada planta comportar determinado grau de micorrização em função da densidade radicular (comprimento da raiz por unidade de volume do solo) e taxa de colonização, a que se chamou densidade de raiz colonizada (CRD), e que reflete a presença de arbúsculos por unidade de comprimento de raiz colonizada e volume de solo.

2.6 - O Milho como Planta Hospedeira

O milho (*Zea Mays*) pertence à família Poaceae, tratando-se de uma planta herbácea, anual, altamente micotrófica e com ciclo de primavera/verão.

A cultura do milho tem sido impulsionada no Alentejo nos últimos anos, pelas novas áreas de regadio do Alqueva e pela tendência de aumento da sua cotação, apesar de alguma volatilidade sempre presente nos mercados. Em 2012 a área nacional cultivada de milho para grão foi de 102196 ha, (aumento de 2,2% relativamente a 2011). Tendo a produtividade sido de 848 034 toneladas (aumento de 2,5% relativamente a 2011), dos quais 472 372 toneladas foram produzidos no Alentejo, o que corresponde a uma percentagem de 56% (INE, 2013).

Tendo em conta que o micélio extra radicular dos fungos micorrízicos consegue sobreviver ao inverno, instalar esta cultura num solo não mobilizado onde esteve uma planta micotrófica pode ser uma estratégia a seguir, de forma a conseguir uma colonização mais rápida e eficaz das raízes, o que permite uma melhor instalação da cultura e aumento do seu rendimento (McGonigle & Miller, 2000).

III - Material e Métodos

Para a realização do presente estudo utilizou-se como planta hospedeira o milho (*Zea mays*) da variedade EL 6627, por vários motivos, sendo de destacar: O facto de esta ser uma planta de elevado valor comercial; ser considerada uma planta com elevado grau de micotroficidade e ser uma planta de fácil manuseamento experimental.

3.1. – Localização do Ensaio

O ensaio decorreu na Universidade de Évora (polo da Mitra), (38° 31'N; 8°00'O; 244 m), entre 2 de Maio e 29 de Julho de 2013.

Este foi conduzido em estufa (Figura 2), onde as condições ambientais foram registadas diariamente, uma vez que facilita a interpretação da resposta das plantas às condições ambientais que se fazem sentir no meio onde estão inseridas. Tendo sido a temperatura mínima absoluta de 9°C, a temperatura mínima média de 16,3°C, a temperatura máxima absoluta de 39,4°C e a temperatura máxima média de 35,6°C.

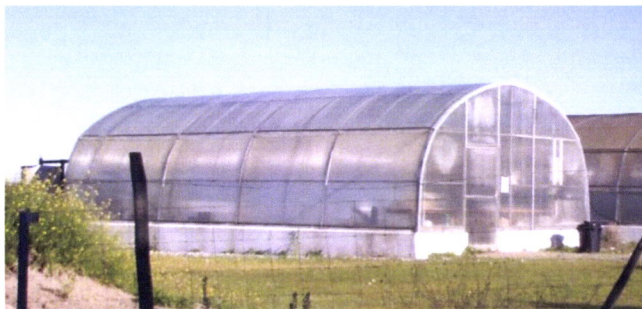


Figura 2 - Estufa onde decorreu o ensaio (foto da autora, 2013).

3.2 – Colheita e Caracterização do Solo

O tipo de solo utilizado foi um solo litólico não húmico de granitos ou rochas afins (Pg), na classificação Portuguesa.

Este solo é franco-arenoso, tem um baixo teor de matéria orgânica, um pH ligeiramente ácido e é mal estruturado (Cardoso, 1965).

O solo foi colhido na Herdade da Mitra, podendo a sua caracterização química ser consultada na Tabela 1. A colheita foi realizada cuidadosamente, tendo em conta a baixa fertilidade deste, optou-se por utilizar apenas a camada superficial (até 20 cm). De seguida

procedeu-se à sua secagem ao ar durante alguns dias, antes do processo de crivagem (utilização de um crivo com 4 mm de malha).

Tabela 1 - Caracterização química do solo.

Elementos (mg.kg ⁻¹)	
P ₂ O ₅	7
K ₂ O	68
Na ₂ O	25
SO ₃	20
Zn	0.4
Mn	22.6
Cu	0.9
Fe	65.8
B	0.1
Al	2
CaO	912
MgO	200
Materia orgânica (%)	1.1
pH (acidez ativa)	6.0
Salinidade solúvel (mmhos.cm)	0.1

Fonte: Agro-systemes

3.3 – Procedimento Experimental e Condução do Ensaio

Na primeira semana de Maio de 2013 (02/05/2013), antes de instalar as culturas, efetuou-se uma calagem com calcário dolomítico, correspondente a 2 ton.ha⁻¹, de forma a corrigir o pH do solo. Assim ao fornecer cálcio e magnésio, conseguiu-se eliminar o efeito tóxico do manganês e aumentar a disponibilidade de grande parte dos nutrientes necessários às plantas, aumentar a eficiência dos fertilizantes e conseqüentemente da produtividade da cultura. De seguida procedeu-se ao enchimento de 64 vasos de 8 L com solo (8 kg de solo por vaso).

O ensaio decorreu em duas fases. Numa primeira fase fez-se crescer a serradela (*Ornithopus compressus*) para desenvolver um micélio extra radicular, pelo que se designou esta planta por *Developer*. Para o efeito procedeu-se à plantação de quatro sementes pré-germinadas de serradela por vaso, como ilustra a figura 3. Fez-se o acompanhamento diário do desenrolar do ensaio e sempre que necessário regou-se com água desmineralizada. Ao fim de 8 semanas as plantas de serradela tinham o aspeto que se pode observar na Figura 4, período após o qual a parte aérea foi cortada e removida. Na última semana de Junho de 2013 (24/06/2013), iniciou-se a segunda fase do ensaio, com a perturbação de metade dos vasos por crivagem do solo, utilizando uma malha de 4

mm, como ilustra a Figura 5, tendo as raízes sido cortadas e o solo sido devolvidos ao respetivo vaso. Nestes vasos recolheu-se uma amostra aleatória de raízes para análise e avaliação da taxa de colonização micorrízica. A outra metade permaneceu não perturbada (Figura 6), criando-se assim duas condições contrastantes de formas de propágulos: ERM fragmentado nos vasos perturbados e ERM intacto nos não perturbados. Após alguns dias (28/06/2013), procedeu-se à plantação de 3 sementes de milho pré-germinadas por vaso (figuras 7 e 8), tendo estas sido acertadas a duas após uma semana.



Figura 3 - Plantação de sementes de serradela pré-germinadas (foto da autora, 2013).



Figura 4 - Plantas de serradela com oito semanas (foto da autora, 2013).

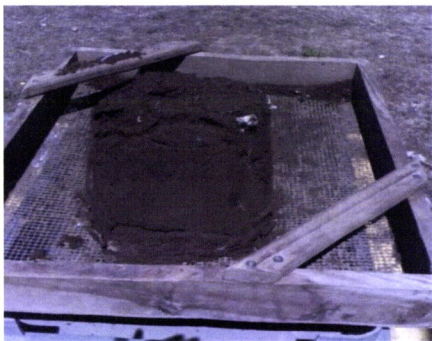


Figura 5 - Crivagem do solo (foto da autora, 2013).



Figura 6 - Representação de vasos com solo não perturbado (A) e com solo crivado (B) (foto da autora, 2013).



Figura 7 - Milho pré-germinado (foto da autora, 2013).



Figura 8 - Plantação de milho pré-germinado (foto da autora, 2013).

No mesmo dia, após a plantação, procedeu-se à suplementação das mesmas através de fertilização (as várias soluções aplicadas foram misturadas e diluídas em água destilada).

Os nutrientes aplicados foram: Fósforo (solução 1M na forma de $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$) com quatro diferentes dosagens 0, 6, 12 ou 18 mg P.kg^{-1} , (o que corresponde a 0, 15, 30 e 45 kg de P.ha^{-1} , respetivamente).

Como se aplicou fósforo na forma supramencionada, houve a necessidade de ajustar os níveis de Azoto a 63 mg de N.kg^{-1} de solo (valor aplicado na dosagem mais elevada, que corresponde a 163,8 kg de N.ha^{-1}), para tal utilizou-se a solução 1M de NH_4NO_3 ,

Aplicou-se potássio na dose de 32 mg de K.kg^{-1} de solo, (corresponde a 83 kg de K.ha^{-1}), para tal utilizou-se a solução 0,2 M de K_2SO_4 .

Fez-se ainda a aplicação de uma solução de Boro 0,76 mg de B.kg^{-1} de solo (correspondente a 2 kg de B.ha^{-1}) na forma de bórax 20% [w / w] a 5% e Zinco 3,8 mg de Zn.kg^{-1} de solo (correspondente a 20 $\text{kg de ZnSO}_4.\text{ha}^{-1}$), para tal utilizou-se a solução 1M de $\text{ZnSO}_4.7\text{H}_2\text{O}$.

O milho cresceu durante 21 e 31 dias, tendo a avaliação dos parâmetros sido realizada após cada um destes tempos, podendo ser observado na figura que se segue o aspeto do milho aos 31 dias.



Figura 9 - Milho com 31 dias (foto da autora, 2013).

A escolha dos 21 dias para a realização da primeira avaliação deve-se ao facto de este ser o tempo considerado necessário para encontrar diferenças expressivas na taxa de colonização micorrízica naquele volume de solo, tendo sido a segunda colheita realizada

aos 31 dias após a plantação, uma vez que nesta altura as plantas de milho já tinham atingido um tamanho considerável e caso se prolonga-se esta segunda data de colheita poderia haver interferência na taxa de crescimento da raiz dado estas estarem confinadas a um espaço limitado.

De forma a facilitar a condução do ensaio foi atribuído um número a cada vaso, na tabela que se segue pode consultar-se a correspondência a cada tratamento e repetição.

Tabela 2 - Esquema experimental do ensaio.

TRATAMENTO	REP I	REP II	REP III	REP IV
UND P1D1	1	17	33	49
UND P2D1	2	18	34	50
UND P3D1	3	19	35	51
UND P4D1	4	20	36	52
DIST P1D1	5	21	37	53
DIST P2D1	6	22	38	54
DIST P3D1	7	23	39	55
DIST P4D1	8	24	40	56
UND P1D2	9	25	41	57
UND P2D2	10	26	42	58
UND P3D2	11	27	43	59
UND P4D2	12	28	44	60
DIST P1D2	13	29	45	61
DIST P2D2	14	30	46	62
DIST P3D2	15	31	47	63
DIST P4D2	16	32	48	64

P1 - 0 ml sol. 1 M $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ (0 Kg de P.ha⁻¹)

P2 - 1,5 ml sol. 1 M $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ (15 Kg de P.ha⁻¹)

P3 - 3 ml sol. 1 M $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ (30 Kg de P.ha⁻¹)

P4 - 4,5 ml sol. 1 M $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ (45 Kg de P.ha⁻¹)

D1 - 1ª data de colheita - 3 semanas

D2 - 2ª data de colheita - 6 semanas

UND - Solo não perturbado a quando da plantação do milho (micélio intacto)

DIST - Solo perturbado a quando da plantação do milho (micélio fragmentado)

REP I – Repetição 1

REP II - Repetição 2

REP III - Repetição 3

REP IV - Repetição 4

3.4 – Procedimento Laboratorial para Análise de Parâmetros

Em cada uma das datas de colheita do milho, procedeu-se do seguinte modo:

- Corte da parte aérea e colocação da mesma em saquetas de papel;
- Recolha de todas as raízes presentes em cada um dos vasos (este processo constituiu em colher cuidadosamente as raízes do solo com o auxílio de água corrente e posterior separação entre raízes do milho e da serradela.

3.4.1 - Peso Seco da Parte Aérea (SDW)

Para determinar o peso seco da parte aérea (g), colocou-se a mesma a secar em estufa a 60°C durante 72 horas. Após esse período a mesma foi pesada com o auxílio de uma balança semi-analítica (Figura 10).

A parte aérea após pesada foi triturada e enviada para análise de nutrientes na Universidade de Trás os Montes e Alto Douro (UTAD). Na preparação das amostras juntou-se as repetições de cada um dos tratamentos duas a duas.

As análises foram feitas por ICP-OES (Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry, espectrometria de emissão atômica por plasma acoplado indutivamente), este método permite a partir de uma só amostra relativamente pequena de material vegetal, a análise de uma serie de elementos, nomeadamente: Azoto, Fósforo, Potássio, Cálcio, Magnésio, Boro, Ferro, Cobre, Zinco, Manganês e Enxofre.



Figura 10 - Pesagem da parte aérea do milho (foto da autora, 2013).

3.4.2 - Peso Fresco da Raiz (FRW)

Para determinar este parâmetro utilizou-se uma balança semi-analítica, onde as raízes de cada uma das amostras foram pesadas após limpas e removido o excesso de água. A figura 11 ilustra o tamanho atingido pelas raízes de milho aos 31 dias no nível zero de fósforo, em cada uma das condições do micélio.



Figura 11 - Raízes frescas de milho aos 31 dias, para o nível 0 kg.P.ha⁻¹ (9 - micélio intacto; 13 - micélio fragmentado) (foto de Brito, 2013).

3.4.3 -Comprimento de Raiz (RD)

O comprimento de raiz por amostra foi determinado utilizando o equipamento descrito por Goubran & Richards (1979) (Figura 12).

Neste foi colocado a raiz cortada aos pedaços e espalhada. O equipamento conta o número de interseções e converte-o em comprimento de raiz em metros.

Tendo em conta o elevado número de amostras para medir e o comprimento de cada uma destas, apenas se mediu uma repetição de cada tratamento, tendo o comprimento das restantes repetições sido encontrado através duma equação que relacionou o peso fresco da raiz com o comprimento. Tendo-se chegado às seguintes equações para cada uma das datas de amostragem:

Data 1 – $Y = 8,2291 X + 4,7331$ ($r^2 = 0,9929$) ($p < 0,01$)

Data 2 – $Y = 6,1187 X + 26,647$ ($r^2 = 0,9608$) ($p < 0,01$)

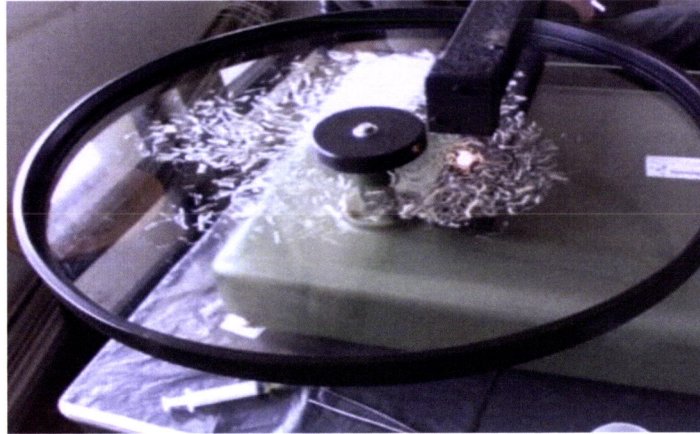


Figura 12 - Medição do comprimento da raiz (foto da autora, 2013).

3.4.4 - Colonização Arbuscular (AC)

Antes de efetuar a quantificação de colonização arbuscular, é necessário efetuar a coloração das raízes a observar de modo a colocar em evidência as estruturas fúngicas, uma vez que o corante usado se liga apenas a estruturas de fungos, mas não a material vegetal.

O procedimento de coloração consistiu em:

- a) Colocar numa cassete de histologia cerca de um grama de amostra;
- b) Repetir este procedimento para cada uma das amostras;
- c) Mergulhar todas as cassetes em hidróxido de potássio (KOH) a 10% (w / v);
- d) Autoclavar durante 13 minutos a uma temperatura de 121 ° C para eliminar conteúdos citoplasmáticos;
- e) Lavar abundante com água corrente para remover o excesso de KOH;
- f) Coloração numa solução contendo 0,1 % de Azul de Tripano em lactoglicerol na proporção de (1:1:1) (glicerol, ácido láctico a (80%) e água) durante 10 minutos a 70 ° C, em banho de água;
- g) Retirar as cassetes com as raízes coradas da solução descrita anteriormente e guarda-las em glicerol a 50 % (v / v).

As raízes podem ser observadas ao microscópio após 48 horas, contudo podem permanecer submersas na solução de glicerol a 50 % (v / v) por longos períodos (mesmo anos), esta solução dissolve o azul Tripano que não esteja ligado a estruturas de fungos, consequentemente consegue obter-se um melhor contraste entre as raízes e as estruturas fúngicas.

Para determinar a taxa de colonização por AM utilizou-se o método de interseção descrito por McGonigle, et al. (1990).

Esta técnica consiste em colocar as raízes (após coloração) numa lâmina, como ilustra a Figura 13, alinhadas paralelamente ao eixo mais longo, cobertas com lamela e observadas ao microscópio ótico (ampliação de 200 x) com uma mira vertical.



Figura 13 - Lâminas preparadas para observação microscópica (foto da autora, 2013).

A quantificação é feita percorrendo a lâmina na totalidade de forma perpendicular ao seu eixo longitudinal, devendo a mudança do campo de visão ser constante.

São contabilizados o número de interseções de raízes com a mira vertical, podendo ser intersetados arbúsculos, hifas, vesículas ou raiz não colonizada.

Esta contagem é convertida em percentagem conforme descrito no artigo McGonigle, et al. (1990). Efetuou-se observação de três lâminas por amostra, tendo sido feito o esforço

de não contabilizar outros fungos, aquando da quantificação de hifas, já que os arbúsculos são característicos do tipo de fungos em estudo.

A proporção de cada estrutura do fungo foi calculada como se ilustra na Tabela que se segue.

Tabela 3 - Cálculo da colonização arbuscular (AC), da colonização vesicular (VC) e da colonização por hifas (HC).

Amostra	Lamina	Número de interceções				
		Vesículas	Hifas	Arbúsculos	Negativo	Total
10	A	2	4	78	13	97
	B	1	5	76	15	97
	C	0	7	75	24	106
	Σ	3	16	229	52	300

O valor para AC é $229/300 = 0,763$; para VC é de $3/300 = 0,01$ e para o HC é $(300-52)/300 = 0,826$. (Adaptado de McGonigle et al. 1990).

De todas as formas de colonização micorrízica possíveis, para efeito de cálculos é considerando apenas a presença de arbúsculos. Pois esta, por si só, é representativa do grau de colonização da raiz de uma planta, nesta situação (tabela 2), considera-se uma taxa de colonização de 76%.

3.5 – Delineamento Experimental, Recolha e Análise de Dados

Os dados foram analisados através do programa MSTAT-C (versão 1.42), tendo o tratamento estatístico seguido uma ANOVA de três fatores em blocos casualizados. Os fatores estavam em combinação fatorial e o ensaio teve quatro repetições.

Para verificar a interação entre os diferentes fatores em estudo utilizou-se o teste de Fisher, tendo sido utilizado o teste de Student-Newman-Keuls (SNK) na separação das médias que demonstraram ter diferenças significativas.

As observações seguiram uma distribuição normal, e teve-se em consideração um nível de significância de ($\alpha = 0,05$).

As tabelas das análises de variância podem ser consultadas em anexo.

Os fatores em estudo foram:

- 1- Tempo de crescimento do milho (21 e 31 dias);
- 2- Condição do micélio (solo perturbado – micélio fragmentado e solo não perturbado – micélio intacto);
- 3- Nível de fósforo utilizado (0,15,30 e 45 kg.P.ha⁻¹).

Tendo em conta que houve duas datas de colheita, dois tipos de mobilização e quatro níveis de fósforo o número total de tratamentos foi 16, tendo sido efetuadas quatro repetições de cada tratamento, o que fez um total de 64 amostras.

IV – Resultados

Os resultados obtidos onde é evidenciado o efeito dos fatores em estudo em cada um dos parâmetros analisados serão apresentados nas tabelas que se seguem.

Tabela 4 - Efeito do nível de fósforo, condição do micélio e tempo de crescimento no peso seco da parte aérea (SDW) (g/planta).

Condição do Micélio	Tempo de Crescimento (Dias)	Fósforo (kg.P.ha ⁻¹)				Condição do Micélio (Média)
		0	15	30	45	
Micélio Intacto	21	1,285	3,245	4,842	4,61	
	31	4,565	5,598	7,822	11,015	5,373 A
	MÉDIA	2,925 d	4,421 c	6,332 b	7,813 a	
Micélio Fragmentado	21	0,455	1,62	3,167	4,503	
	31	0,475	2,998	6,067	7,23	3,314 B
	MÉDIA	0,465 e	2,309 d	4,617 c	5,866 b	
Fósforo (Média)		1,695 D	3,365 C	5,475 B	6,839 A	

Letras maiúsculas – Separam as médias referentes ao efeito primário da condição do micélio.

Letras maiúsculas em itálico – Separam as médias referentes ao efeito primário do nível de fósforo.

Letras minúsculas – Separam as médias referentes à interação entre o nível de fósforo e a condição do micélio.

Na Tabela 4, verifica-se que houve diferenças significativas entre todos os níveis de fósforo, sendo que quanto mais alto o nível de fósforo maior foi o SDW.

Houve diferenças significativas entre as diferentes condições do micélio, sendo o SDW superior na condição de ERM intacto.

A interação entre o nível de fósforo e a condição do micélio não foi significativa, sendo que para todos os níveis de fósforo o SDW foi sempre superior quando o micélio estava intacto, sendo estes resultados consistentes em ambos os tempos de crescimento.

A diferença entre a condição do micélio atenuou-se à medida que o nível de fósforo aumentou. No nível inferior de fósforo com micélio intacto o crescimento médio foi 6,27 vezes superior, relativamente ao crescimento médio que ocorreu com micélio fragmentado, enquanto que no nível superior de fósforo com micélio intacto o crescimento médio foi 1,3 vezes superior, relativamente ao crescimento médio que ocorreu com o micélio fragmentado.

No segundo tempo de crescimento os valores de SDW foram superiores aos do primeiro tempo, em todos os níveis de fósforo e nas duas condições do micélio.

A interação tripla não foi significativa.

Tabela 5 - Efeito do nível de fósforo, condição do micélio e tempo de crescimento na relação Raiz/ Parte Aérea (R/S).

Condição do Micélio	Tempo de Crescimento (Dias)	Fósforo (kg.P.ha ⁻¹)				Condição do Micélio (Média)
		0	15	30	45	
Micélio Intacto	21	6,902	4,692	4,063	5,323	
	31	4,270	3,940	3,200	2,680	4,384 B
	MÉDIA	5,586 b	4,316 bc	3,631 c	4,001 bc	
Micélio Fragmentado	21	8,920	6,013	4,860	4,143	
	31	6,653	5,335	4,960	4,310	5,649 A
	MÉDIA	7,786 a	5,674 b	4,910 bc	4,226 bc	
Fósforo (Média)		6,686 A	4,995 B	4,271 B	4,114 B	

Letras maiúsculas – Separam as médias referentes ao efeito primário da condição do micélio.

Letras maiúsculas em itálico – Separam as médias referentes ao efeito primário do nível de fósforo.

Letras minúsculas – Separam as médias referentes à interação entre o nível de fósforo e a condição do micélio.

Na tabela 5, verifica-se que a aplicação de fósforo diminui a razão R/S, não tendo havido diferenças entre os três níveis de aplicação mais elevados.

Houve diferenças significativas entre as diferentes condições do micélio, sendo o R/S superior quando o micélio estava fragmentado.

A interação entre o nível de fósforo e a condição do micélio não foi significativa.

No segundo tempo de crescimento a relação R/S foi inferior aos do primeiro tempo, em todos os níveis de fósforo e nas duas condições do micélio.

A interação tripla não foi significativa.

Tabela 6 - Efeito do nível de fósforo, condição do micélio e tempo de crescimento na densidade de Raiz (RD) (cm raiz/cm³ de solo).

Condição do Micélio	Tempo de Crescimento (Dias)	Fósforo (kg.P.ha ⁻¹)				Condição do Micélio (Média)
		0	15	30	45	
Micélio Intacto	21	2,455 <i>ef</i>	4,095 <i>de</i>	5,217 <i>cd</i>	5,283 <i>cd</i>	
	31	6,257 <i>bd</i>	6,947 <i>bc</i>	7,878 <i>ab</i>	9,035 <i>a</i>	5,896 A
	MÉDIA	4,356 <i>c</i>	5,521 <i>b</i>	6,548 <i>ab</i>	7,159 <i>a</i>	
Micélio Fragmentado	21	1,158 <i>f</i>	2,733 <i>ef</i>	4,230 <i>de</i>	5,093 <i>cd</i>	
	31	1,337 <i>f</i>	5,233 <i>cd</i>	9,163 <i>a</i>	9,383 <i>a</i>	4,791 B
	MÉDIA	1,248 <i>d</i>	3,983 <i>c</i>	6,696 <i>ab</i>	7,238 <i>a</i>	
Fósforo (Média)		2,802 <i>C</i>	4,752 <i>B</i>	6,622 <i>A</i>	7,198 <i>A</i>	

Letras maiúsculas – Separam as médias referentes ao efeito primário da condição do micélio.

Letras maiúsculas em itálico – Separam as médias referentes ao efeito primário do nível de fósforo.

Letras minúsculas – Separam as médias referentes à interação entre o nível de fósforo e a condição do micélio.

Letras minúsculas em itálico – Separam efeito da interação tripla.

Na tabela 6, verifica-se que houve diferenças significativas entre os níveis um, dois e três de fósforo, não havendo entre os níveis três e quatro, sendo que quanto mais alto o nível de fósforo maior o RD.

Houve diferenças significativas entre as diferentes condições do micélio, sendo o RD superior quando o micélio estava intacto.

A interação entre o nível de fósforo e a condição do micélio foi significativa. Enquanto que para os dois níveis mais altos de fósforo a condição do micélio não teve influência significativa na RD, quando considerados os níveis mais baixos de fósforo, o valor da RD no nível um e dois de fósforo quando o micélio estava intacto foi significativamente mais alto que quando o micélio estava fragmentado.

No segundo tempo de crescimento os valores de RD foram superiores aos do primeiro tempo, em todos os níveis de fósforo e nas duas condições do micélio.

O RD aumenta com o decorrer do tempo, e com o aumento do nível de fósforo, sendo superior quando o micélio estava intacto.

Verificaram-se interações triplas, indicando que o aumento de RD ao longo do tempo foi mais dependente do nível de fósforo aplicado na condição de micélio fragmentado.

Tabela 7 - Efeito do nível de fósforo, condição do micélio e tempo de crescimento na colonização arbuscular (AC).

Condição do Micélio	Tempo de Crescimento (Dias)	Fósforo (kg.P.ha ⁻¹)				Condição do Micélio (Média)
		0	15	30	45	
Micélio Intacto	21	0,825	0,785	0,612	0,580	
	31	0,920	0,880	0,808	0,667	0,760 A
	MÉDIA	0,872 a	0,832 a	0,710 b	0,624 b	
Micélio Fragmentado	21	0,117	0,067	0,060	0,032	
	31	0,350	0,203	0,208	0,075	0,139 B
	MÉDIA	0,234 c	0,135 cd	0,134 cd	0,054 d	
Fósforo (Média)		0,553 A	0,484 AB	0,422 B	0,339 C	

Letras maiúsculas – Separam as médias referentes ao efeito primário da condição do micélio.

Letras maiúsculas em itálico – Separam as médias referentes ao efeito primário do nível de fósforo.

Letras minúsculas – Separam as médias referentes à interação entre o nível de fósforo e a condição do micélio.

Na tabela 7, verifica-se que a AC foi baixando à medida que o nível de fósforo aumenta, mas apenas se observaram diferenças significativas do nível três para o quarto de fósforo.

Houve diferenças significativas entre as diferentes condições do micélio, sendo a AC superior quando o micélio estava intacto.

A interação entre o nível de fósforo e a condição do micélio não foi significativa, pois a redução da AC com o aumento do nível de fósforo aplicado verificou-se para as duas condições do micélio.

No segundo tempo de crescimento os valores de AC foram superiores aos do primeiro tempo, em todos os níveis de fósforo e nas duas condições do micélio.

A AC aumentou com o decorrer do tempo, e diminuiu com o aumento do nível de fósforo, sendo superior quando o micélio estava intacto.

A interação tripla não foi significativa.

No que diz respeito à relação entre a taxa de colonização e o crescimento do milho, esta foi-se atenuando à medida que aumentou o nível de fósforo, indicando que à medida que a fertilização fosfatada se intensificou a dependência do crescimento do milho da taxa de colonização foi sendo menor. Podendo estes resultados serem observados nos gráficos que se seguem.

P1

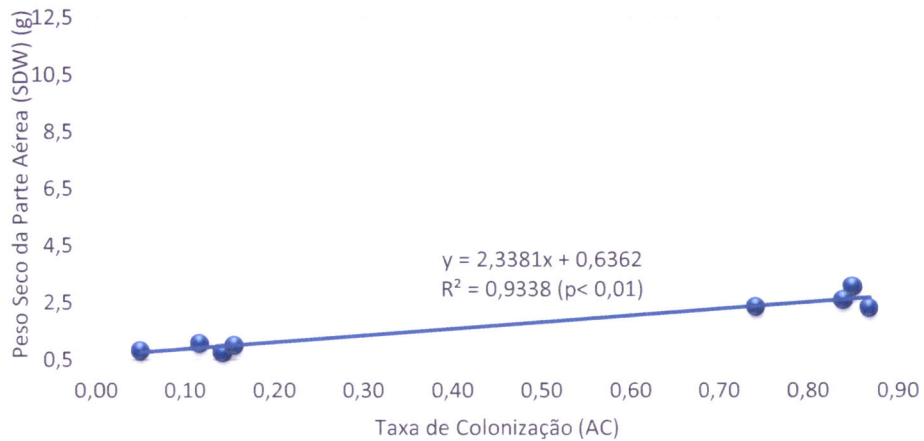


Figura 14 - Relação entre taxa de colonização e peso seco da parte aérea do milho, após 21 dias de crescimento para o nível de 0 kg de P.ha⁻¹.

P2

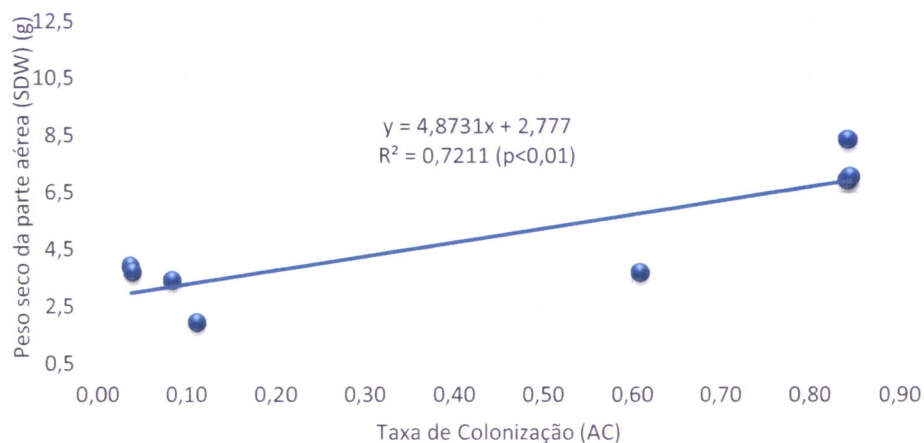


Figura 15 - Relação entre taxa de colonização e peso seco da parte aérea do milho, após 21 dias de crescimento para o nível de 15 kg de P.ha⁻¹.

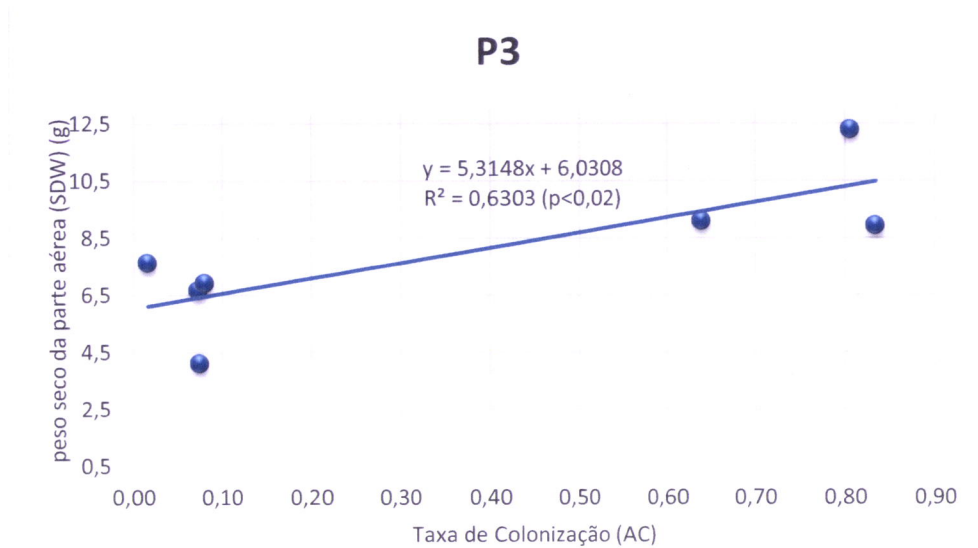


Figura 16 - Relação entre taxa de colonização e peso seco da parte aérea do milho, após 21 dias de crescimento para o nível de 30 kg de P.ha⁻¹.

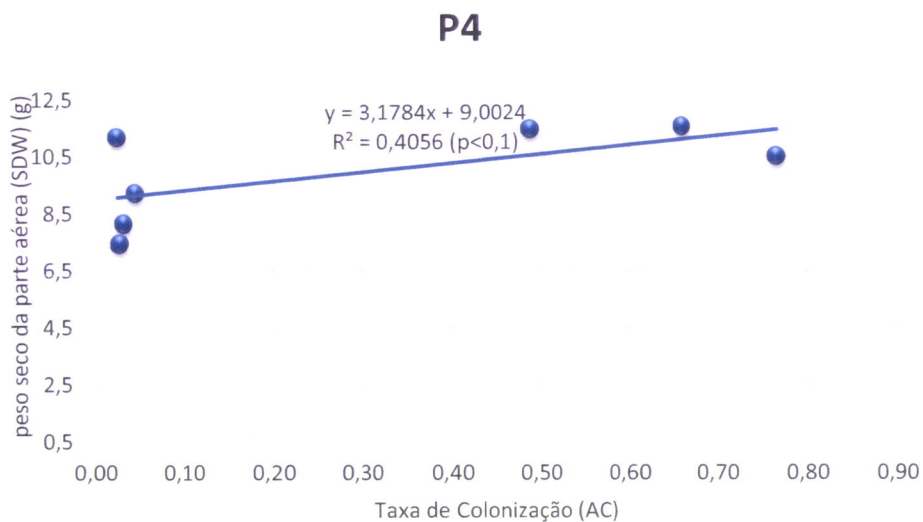


Figura 17 - Relação entre taxa de colonização e peso seco da parte aérea do milho, após 21 dias de crescimento para o nível de 45 kg de P.ha⁻¹.

Tabela 8 - Efeito do nível de fósforo, condição do micélio e tempo de crescimento na densidade de raiz colonizada (CRD) (cm raiz colonizada/cm³ de solo).

Condição do Micélio	Tempo de Crescimento (Dias)	Fósforo (kg.P.ha ⁻¹)				Condição do Micélio (Média)
		0	15	30	45	
Micélio Intacto	21	2,043	3,310	3,280	2,955	
	31	5,728	6,165	6,395	6,015	4,486 A
	MÉDIA	3,885 a	4,738 a	4,837 a	4,485 a	
Micélio Fragmentado	21	0,138	0,168	0,238	0,165	
	31	0,470	1,027	1,972	0,697	0,609 B
	MÉDIA	0,304 b	0,597 b	1,105 b	0,431 b	
Fósforo (Média)		2,094 A	2,668 A	2,971 A	2,458 A	

Letras maiúsculas – Separam as médias referentes ao efeito primário da condição do micélio.

Letras maiúsculas em itálico – Separam as médias referentes ao efeito primário do nível de fósforo.

Letras minúsculas – Separam as médias referentes à interação entre o nível de fósforo e a condição do micélio.

Na tabela 8, verifica-se que não houve diferenças significativas da CRD entre os diferentes níveis de fósforo.

Houve diferenças significativas entre as diferentes condições do micélio, sendo o CRD acentuadamente superior quando o micélio estava intacto.

Não houve interação entre o nível de fósforo e a condição do micélio, pois não houve efeito significativo do fósforo neste parâmetro em nenhuma das condições do micélio.

No segundo tempo de crescimento os valores de CRD foram superiores aos do primeiro tempo, em todos os níveis de fósforo e nas duas condições do micélio.

O CRD aumentou com o decorrer do tempo, manteve-se constante em todos os níveis de fósforo, sendo superior quando o micélio estava intacto.

A interação tripla não foi significativa.

Tabela 9 - Extração de fósforo (mg P/Vaso).

Condição do Micélio	Tempo de Crescimento (Dias)	Fósforo (kg.P.ha ⁻¹)				Condição do Micélio (Média)
		0	15	30	45	
Micélio Intacto	21	2,230 <i>gh</i>	6,000 <i>dg</i>	8,910 <i>bd</i>	9,220 <i>bd</i>	
	31	6,322 <i>cf</i>	9,290 <i>bd</i>	11,185 <i>b</i>	16,193 <i>a</i>	
	MÉDIA	4,276 <i>e</i>	7,645 <i>cd</i>	10,048 <i>b</i>	12,706 <i>a</i>	8,669 <i>A</i>
Micélio Fragmentado	21	0,655 <i>h</i>	2,560 <i>fh</i>	5,290 <i>dg</i>	10,265 <i>bc</i>	
	31	0,568 <i>h</i>	4,090 <i>eh</i>	7,403 <i>be</i>	8,605 <i>bd</i>	
	MÉDIA	0,611 <i>f</i>	3,325 <i>e</i>	6,346 <i>d</i>	9,435 <i>bc</i>	4,929 <i>B</i>
Fósforo (Média)		2,444 <i>D</i>	5,485 <i>C</i>	8,197 <i>B</i>	11,071 <i>A</i>	

Letras maiúsculas – Separam as médias referentes ao efeito primário da condição do micélio.

Letras maiúsculas em itálico – Separam as médias referentes ao efeito primário do nível de fósforo.

Letras minúsculas – Separam as médias referentes à interação entre o nível de fósforo e a condição do micélio.

Letras minúsculas em itálico – Separam efeito da interação tripla.

Na tabela 9, verifica-se que houve diferenças significativas entre todos os níveis de fósforo, sendo que quanto mais alto o nível de fósforo maior foi a extração deste nutriente.

Houve diferenças significativas entre as diferentes condições do micélio, sendo a extração de fósforo superior quando o micélio está intacto.

A interação entre o nível de fósforo e a condição do micélio não foi significativa, sendo que para todos os níveis de fósforo a extração de P foi sempre superior quando o micélio estava intacto, sendo estes resultados consistentes em ambos os tempos de crescimento.

No segundo tempo de crescimento os valores de extração foram superiores aos do primeiro tempo, em todos os níveis de fósforo e nas duas condições do micélio.

A interação tripla foi significativa, pois o aumento da extração de P provocado pela adubação na segunda data de crescimento verificou-se principalmente na condição de micélio intacto.

Tabela 10 - Concentração de fósforo na parte aérea (g.kg⁻¹).

Condição do Micélio	Tempo de Crescimento (Dias)	Fósforo (kg.P.ha ⁻¹)				Condição do Micélio (Média)
		0	15	30	45	
Micélio Intacto	21	1,735	1,850	1,840	2,000	
	31	1,385	1,660	1,430	1,470	
	MÉDIA	1,560 ab	1,755 a	1,635 ab	1,735 a	1,671 A
Micélio Fragmentado	21	1,435	1,580	1,670	2,280	
	31	1,195	1,365	1,220	1,190	
	MÉDIA	1,315 b	1,472 ab	1,445 ab	1,735 a	1,492 B
Fósforo (Média)		1,437 B	1,614 AB	1,540 AB	1,735 A	

Letras maiúsculas – Separam as médias referentes ao efeito primário da condição do micélio.

Letras maiúsculas em itálico – Separam as médias referentes ao efeito primário do nível de fósforo.

Letras minúsculas – Separam as médias referentes à interação entre o nível de fósforo e a condição do micélio.

Na tabela 10, verifica-se que apenas houve diferenças significativas entre o nível máximo e mínimo de fósforo.

Houve diferenças significativas entre as diferentes condições do micélio, sendo a concentração de fósforo superior quando o micélio estava intacto.

A interação entre o nível de fósforo e a condição do micélio não foi significativa, sendo que para todos os níveis de fósforo a concentração de P foi semelhante em ambas as condições do micélio.

Nas duas condições do micélio a concentração de fósforo foi ligeiramente superior no primeiro tempo de crescimento relativamente ao segundo.

A interação tripla não foi significativa.

Tabela 1 - Concentração de nutrientes na parte aérea.

Condição do Micélio	Azoto (g.kg ⁻¹)	Fósforo (g.kg ⁻¹)	Potássio (g.kg ⁻¹)	Cálcio (g.kg ⁻¹)	Magnésio (g.kg ⁻¹)	Boro (mg.kg ⁻¹)	Ferro (mg.kg ⁻¹)	Cobre (mg.kg ⁻¹)	Zinco (mg.kg ⁻¹)	Manganês (mg.kg ⁻¹)	Enxofre (mg.kg ⁻¹)
Micélio Intacto	27,665 a	1,671 a	36,137 b	6,453 a	5,107 a	61,306 a	247,710 a	25,427 a	59,063 a	127,756 a	1,654 a
Micélio Fragmentado	29,299 a	1,492 b	45,938 a	5,432 b	3,281 b	37,263 b	207,838 b	20,177 b	62,438 a	110,067 b	1,181 b

Letras minúsculas – Separam as médias referentes ao efeito primário da condição do micélio.

Na tabela 11, verifica-se que para todos os elementos analisados, à exceção do azoto e do zinco foram encontradas diferenças significativas, da sua concentração quando comparadas as plantas a crescer nas diferentes condições de micélio, sendo a média sempre superior quando o micélio está intacto, exceto para o potássio onde se verifica o inverso.

V - Discussão de Resultados

Quando o micélio extra radicular foi mantido intacto, servindo de fonte preferencial de inóculo, a colonização das raízes do milho iniciou-se mais cedo e desenvolveu-se de forma mais rápida, qualquer que tenha sido o parâmetro usado para a avaliação do nível de micorrização (AC e CRD). A colonização mais precoce e rápida conferiu vantagens à planta relativamente à aquisição de nutrientes, particularmente o fósforo, e ao seu crescimento, tanto da parte aérea como da raiz. Estes resultados estão de acordo com o apresentado por outros autores para a planta de milho (Kahilouto, et al., 2000; Smith & Read, 1997). No entanto, os resultados deste trabalho levam mais longe o conhecimento já existente, particularmente no que diz respeito ao benefício da presença de micélio intacto à sementeira de milho, mesmo para níveis muito elevados de fósforo, assim como sobre o efeito da adubação fosfatada no processo da simbiose entre a planta de milho e os fungos micorrízicos.

Em termos da evolução da simbiose é normalmente afirmado que a aplicação de fósforo prejudica a colonização pela redução do crescimento do fungo (Kahilouto et al., 2000). Estas afirmações são baseadas na evolução da taxa de colonização (AC). De facto, os resultados indicam a mesma tendência de redução da AC com a adubação fosfatada. No entanto o processo de colonização nas duas condições do micélio nunca se iguala à medida que os teores de fósforo aumentam, mesmo para o nível mais elevado de P, mantendo-se sempre uma AC mais altas nas plantas em que a colonização se iniciou por micélio extra radicular intacto. A resposta à questão do efeito do nível de P no solo sobre o progresso da colonização micorrízica depende do parâmetro utilizado para a sua avaliação. A taxa de colonização integra simultaneamente o efeito das condições sobre o crescimento dos dois parceiros da simbiose: a planta e o fungo. Assim a sua variação é difícil de interpretar. Uma redução da AC pode não significar condições desfavoráveis ao crescimento do fungo, mas somente ser o resultado de um maior crescimento do sistema radicular da planta. Uma forma de resolver esta dificuldade será utilizar a densidade de raiz colonizada (CRD), uma vez que este parâmetro poderá discriminar o efeito das condições de crescimento sobre cada um dos simbiontes. O aumento do nível de fósforo fez baixar a taxa de colonização, mas não alterou os valores de CRD, isto porque o aumento do nível de fósforo fez aumentar a densidade radicular. Assim a presença do fungo micorrízico ficou dissipada por um maior comprimento de raiz, mas o facto de os

valores de CRD se terem mantido constantes, evidenciam que a taxa de crescimento do fungo não diminuiu. Este parâmetro será mais indicado quando se pretende estudar o efeito das condições de crescimento sobre o nível de colonização micorrízica de uma planta.

A maior colonização micorrízica do milho traduziu-se numa maior eficiência da aquisição de fósforo, já que o máximo SDW observado em condição do micélio fragmentado foi atingido com uma aplicação de 45 kg.P.ha⁻¹, enquanto que em condição de micélio intacto o mesmo nível de crescimento foi atingido com uma aplicação de 30 kg.P.ha⁻¹. O benefício de uma colonização micorrízica mais precoce continuou a verificar-se na segunda data de crescimento, evidenciando que o efeito benéfico se mantém no tempo.

Quando considerado o crescimento da cultura e a sua correlação com a AC para os diferentes níveis de P (consultar gráficos 1, 2, 3 e 4), verifica-se que essa correlação vai sendo cada vez menos expressiva, no entanto continua a verificar-se um maior crescimento das plantas colonizadas mais precocemente (micélio intacto) mesmo para o nível mais alto de P aplicado, indicando que para além das vantagens na aquisição de P, outros benéficos decorrentes da micorrização se traduzem num maior crescimento da planta, nomeadamente na aquisição de outros nutrientes.

VI – Conclusões Gerais

A colonização micorrízica iniciada por micélio extra radicular foi mais precoce e mais rápida independentemente do nível de fósforo aplicado.

O efeito negativo do fósforo na colonização micorrízica é aparente e resulta do parâmetro utilizado na sua avaliação. A utilização de CRD permite concluir que a redução da AC normalmente associada a elevados níveis de P resulta do seu efeito no aumento do crescimento da raiz não na redução do crescimento do fungo.

A presença de ERM intacto à sementeira do milho é uma estratégia com benefícios para a planta, quer no seu crescimento, quer na absorção de P e outros nutrientes, mesmo para níveis elevados de P no solo, pelo que terá aplicação em sistemas de culturas mais intensivos, sem necessidade de recorrer a inóculos comerciais.

Referências Bibliográficas

- Abbott, L. K. & Robson, A. D. (1981). Infectivity and Effectiveness of Vascular Arbuscular Mycorrhizal Fungi: Effect of Inoculum Type. *Aust. J. Agric. Res.*, 32: 631-639.
- Abbott, L. K., Robson, A. D. & Scheltema, M. A. (1995). Managing Soils To Enhance Mycorrhizal Benefits in Mediterranean Agriculture. *Critical Reviews in Biotechnology*, 15 (3/4): 213 - 228.
- Allen, M. F. (2001). Modeling arbuscular mycorrhizal infection: Is % infection an appropriate variable? *Mycorrhiza*, 10: 255-258.
- Ahmed, F. R. S., Killham, K., Alexander, I. (2006). Influences of arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus mosseae* on growth and nutrition of lentil irrigated with arsenic contaminated water. *Plant and Soil*, 283:33-41.
- Arnon, D. I. & Stout, P. R. (1939). The essentiality of certain elements in minute quantity for plants with special reference to copper. *Plant Physiology*, 14: 317 - 375.
- Augé, R. M. (2004). Arbuscular mycorrhizae and soil/plant water relations. *Can. J. Soil Sci.*, 84: 373-381.
- Bago, B., Pfeffer, P. E., Shachar-Hill, Y. (2000). Carbon metabolism and transport in arbuscular mycorrhizas. *Plant Physiology*, 124: 949-958.
- Bolan, N. S. (1991). A critical review on the role of mycorrhizal fungi in the uptake of phosphorus by plants. *Plant and Soil*, 134: 189-207.
- Brito, I. (2008). *Potential Value of Arbuscular Mycorrhiza in the Agricultural Systems of Alentejo Region – Portugal*. Tese de Doutoramento. Évora: Universidade de Évora.
- Brito, I., Carvalho, M., Alho, L. & Goss, M. J. (2014). Managing arbuscular mycorrhizal fungi for bioprotection: Mn toxicity. *Soil Biology & Biochemistry*, 78-84.
- Bruce, A., Smith, S. E., & Tester, M. (1994). Infection in cucumber-Effects of P-Supply on Root-Growth, Formation of Entry Points and Growth of Infection Units . *New Phytologist*, 127: 507-514.
- Cardoso, J. V. (1965). *Solos de Portugal*. Lisboa.
- Clark, R.B. & Zeto, S.K. (2000). Mineral acquisition by arbuscular mycorrhizal plants. *Journal of Plant Nutrition* 23: 867-902.

- Clark, R. B., Zobel, R. W., Zeto, S.K. (1999) .Effects of mycorrhizal fungus isolates on mineral acquisition by *Panicum virgatum* in acidic soil. *Mycorrhiza*, 19: 167-176.
- Corkidi, L., Rowland, D. L., Johnson, N. C., & Allen, E. B. (2002). Nitrogen fertilization alters the functioning of arbuscular mycorrhizas at two semiarid grasslands. *Plant and Soil*, 240:, 299-310.
- Derpsch, R. (1998). Historical Review of No-Tillage cultivation of crops. *Proceedings, the 1st JIRCAS Seminar on Soybean Research. No-Tillage Cultivation anf Future Research Needs, March 5-6, report n° 13*: 1-18.
- Douds, J. D., Galvez, L. R. & Wagoner, P. (1995). Effect of tillage and farming system upon populations and distribution of vesicular-arbuscular fungi. *Agriculture Ecosystems and Environment*, 52: 111-118.
- Douds, Jr. D.D. & Miller, P.A. (1999). Biodiversity of arbuscular mycorrhizal fungi in agroecosystems. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 74:77-93.
- El-Hassanin, A. S., Lynd, J. Q. (1985). Soil fertility effects with tripartite symbiosis for growth,nodulation and nitrogenase activity of *Vicia faba* L. *Journal of Plant Nutrition*, 8: 491-504.
- Evans, D. G. & Miller, M. H. (1988). Vesicular-arbuscular mycorrhizas and the soil-disturbance-induced reduction of nutrient absorption in maize. I Causal relations. *New Phytol*, 110: 67-74.
- Evans, D. G. & Miller, M. H. (1990). The role of the external mycelial network in the effect of soil disturbance upon vasicular-arbuscular mycorrhizal colonization of maize. *New Phytol*, 114: 65-71.
- Ezawa, T., Smith, S. E. & Smith, F. A. (2002). P metabolism and transport in AM fungi. *Plant and Soil*, 244: 221-230.
- Follett, R. F. & Schimel, D. S. (1989). Effect of tillage practices on microbial Biomass dynamics. *Soil Sci.*, 53: 1091-1096.
- Freitas, M. S., Martins, M. A. & J.C., C. A. (2006). Crescimento e composição mineral de menta em resposta à inoculação com fungos micorrízicos arbusculares e adubação fosfatada. *Horticultura Brasileira*, 24: 11-16.

- Galvez, L., Douds, D., Jr., Drinkwater, L. E. & Wagoner, P. (2001). Effect of tillage and farming system upon VAM fungus populations and mycorrhizas and nutrient uptake of maize. *Plant and Soil*, 288: 299-308.
- Gianinazzi, S. & Vosátka, M. (2004). Inoculum of arbuscular mycorrhizal fungi for production systems: Science meets business. *Can. J. Bot.*, 82: 1264-1271.
- Gomide, P. H. (2013). *Diversidade de fungos micorrízicos arbusculares em diferentes fitofisionomias do Pantanal da Nhecolândia .Tese de Doutorado. MS. Lavras, MG: Universidade Federal de Lavras. CDD - 631.46.*
- Goubran, F. H. & Richards, D. (1979). The estimation of root length in samples and subsamples. *Plant and soil*, 52: 77-83.
- Graham, J. H. (2001). What do root pathogens see in mycorrhizas. *New Phytologist*, 149: 357-359.
- Grant, C., Bittman, S., Montreal, M., Plenchette, C. & Morel, C. (2004). Soil and fertilizer phosphorus: Effects on plant P supply and mycorrhizal development. *Canadian Journal of plant Science*, 85:3-14.
- Gyaneshwar, P., Kumar, N., Parekh, L. J. & Poole, P. S. (2002). Role of soil microorganisms in improving P nutrition of plants. *Plant and soil*, 245: 83-93.
- Heggo, A., Angle, J. S. & Chaney, R. L. (1990). Effects of vesicular- arbuscular mycorrhizal fungi on heavy metal uptake by soybeans. *Soil Biology and Biochemistry* 22:865-869.
- Hendrix, W., GuoB, Z. & An, Z.Q. (1995). Divergence of mycorrhizal fungal communities in crop production systems. *Plant and Soil* 170: 131-140.
- Instituto Nacional de Estatística (INE) (2013). Estatísticas Agrícolas, 2012.
- Jasper, D. A., Abbott, L. K. & Robson, A. D. (1989b). Hyphae of a vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus maintain infectivity in dry soil, except when the soil is disturbed. *New Phytologist*, 112:101-107.
- Johnson, N.C., Pflieger, F.L., Crookston, R.K., Simmons, S.R. & Copeland, P.J. (1991). Vesiculararbuscular mycorrhizas respond to corn and soybean cropping history. *New Phytologist*, 117:657-663.
- Kabir, Z. (2005). Tillage or no-tillage: Impact on mycorrhizae. *Can. J. Plant Sci.*, 85: 23-29.

- Kabir, Z., O' Halloran, I. P., Widden, P. & Hamel, C. (1998). Vertical distribution of arbuscular mycorrhizal fungi under corn (*Zea mays* L.) in no-till and conventional tillage systems. *Mycorrhiza*, 8: 53-55.
- Kabir, Z., Koide, R.T. (2000). The effect of dandelion or a cover crop on mycorrhiza inoculum potential, soil aggregation and yield of maize. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 78:167-174.
- Kahilouto, H., Ketoja, E. & Vestberg, M. (2001). Promotion of utilization of arbuscular mycorrhiza through reduced P fertilization 2. Field studies. *Plant and Soil*, 231: 65-79.
- Kahiluoto, H., Ketoja, E. & Vestberg, M. (2000). Promotion of utilization of arbuscular mycorrhiza through reduced P fertilization 1. Bioassays in growth chamber. *Plant and Soil*, 227: 191-206.
- Klironomos, J. N. & Hart, M. M. (2002). Colonization of roots by arbuscular mycorrhizal fungi using different sources of inoculum. *Mycorrhiza*, 12: 181-164.
- Koide, R. T. (2000). Functional complementarity in the arbuscular mycorrhizal symbiosis. *New Phytol*, 147: 233-235.
- Kothari, S. K., Marschner, H., Römheld, V. (1990). Direct and indirect effects of VA mycorrhizal fungi and rhizosphere microorganisms on acquisition of mineral nutrients by maize (*Zea mays*) in a calcareous soil. *New Phytologist*, 116:637-645.
- Lu, S., Miller, M. H. (1989). The role of VA mycorrhizae in the absorption of P and Zn by maize in field and growth chamber experiments. *Canadian Journal Soil Science*, 69: 97-109.
- McGee, P.A., Pattinson, G.S., Heath, R.A., Newman, C.A. & Allen, S.J. (1997). Survival of propagules of arbuscular mycorrhizal fungi in soils in eastern Australia used to grow cotton. *New Phytologist*, 135:773-780.
- McGonigle, T. P. & Miller, M. H. (2000). The inconsistent effect of soil disturbance on colonization of roots by arbuscular mycorrhizal fungi: a test of the inoculum density hypothesis. *Applied Soil Ecology*, 14: 147-155.

- McGonigle, T., Miller, M. H., Evans, D. G., Fairchild, G. L. & Swan, J. (1990). A new method which gives an objective measure of colonization of roots by vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytologist*, 115: 495-501.
- McGonigle, T. P. & Fitter, A. H. (1990). Ecological specificity of vesicular-arbuscular mycorrhizal associations. *Mycological Research*, 94:, 120-122.
- Miller, R. M. & Kling, M. (2000). The importance of integration and scale in the arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Plant and Soil*, 226: 295-309.
- Niemi, M., Eklund, M. (1988). Effect of VA mycorrhizae and bark ash on the growth and N₂-fixation of two legumes. *Symbiosis*, 6: 167-180.
- Pouyú-Rojas, E. & Siqueira, J. O. (2000). micorriza arbuscular e fertilização do solo no desenvolvimento pós-transplante de mudas de sete espécies florestais. *Pesq. agropec. v.35 (1)*: 103-114.
- Rhodes, L. H. & Gerdemann, J. W. (1975). Phosphate uptake zones of mycorrhizal and non-mycorrhizal onions. *New Phytol*, 75: 555-561.
- Rilling, M. C. & Allen, M. F. (1999). What is the role of arbuscular mycorrhizal fungi in plant-to-ecosystem responses to elevated atmospheric CO₂. *Mycorrhiza*, 9: 1-8.
- Rilling, M. C. & Mummey, D. L. (2006). Mycorrhizas and soil structure. *New Phytologist*, 171: 41-53.
- Rillig, M. C., Wright, S. F., Nichols, K.A., Schmidt, W.F., Torn, M.S. (2001). Large contribution of arbuscular mycorrhizal fungi to soil carbon pools in tropical forest soils. *Plant and Soil*, 233:167–177.
- Saito, M. & Marumoto, T. (2002). Inoculation with arbuscular mycorrhizal fungi: the status quo in Japan and the future prospects. *Plant and Soil*, 244: 273-279.
- Sannazzaro, A., Ruiz, O., Alberto, E., & B., M. A. (2006). Alleviation of salt stress in *Lotus glaber* by *Glomus intraradices*. *Plant Soil*, 285: 279-287.
- Sanders, F. E. & Tinker, P. (1973). Phosphate flow into mycorrhizal roots. *Pesticide Science*, 4:385-395.
- Schachtman, D. P., Reid, R. J. & Ayling, S. M. (1998). Phosphorus Uptake by Plants: From Soil to Cell. *Plant Physiol*, 116: 447-453.
- Silva-Junior, J. P. & Siqueira, J. O. (1997). Aplicação de formononeina sintética ao solo como estimulante da formação de micorriza no milho e na soja. *R. Bras.Fisiol.Veg.*, 9 (1): 33-39.

- Simon, L., Bousquet, J., Lésvesque, R., & Lalonde, M. (1993). Origin and diversification of endomycorrhizal fungi and coincidence with vascular land plants. *Nature*, 363:, 67-69.
- Sjöberg, J. (2005). *Arbuscular Mycorrhizal Fungi, Occurrence in Sweden and Interaction with a Plant Pathogenic Fungus in Barley*. Uppsala, Suécia: Swedish University of Agricultural Sciences, Acta Universitatis Agriculturae Sueciae: 33.
- Smith, S. & Read, D. (1997). *Mycorrhizal Symbiosis*. Academic Press, Second Edition, London, 605 pp.
- Subhan, S., P., S. & Saradhi P, P. S. (1998). Glomus fasciculatum alleviates transplantation shock of micropropagated Sesbania sesban. *Plant Cell Reports*, 17: 268.272.
- Varma Ed., A. E. (2008). *Mycorrhiza*. Springer Heidelberg, Third Edition.
- Varenes, A. (2003). *Produtividade de Solos e Ambiente*. Lisboa: Escolar Editora, Disponível em: http://www.isa.utl.pt/dqaa/soloseambiente/PSA_Resumo.pdf, consultado a 07 de Agosto de 2014.
- Yano, K., Takaki, M. (2005). Mycorrhizal alleviation of acid soil stress in the sweet potato (*Ipomoea batatas*). *Soil Biology and Biochemistry*, 37:1569-1572.

Anexos

Anexo I - Análise de variância relativa à tabela 3 (SDW)				
Fonte	G.L.	Quadrado Médio	F (teste de Fisher)	Prob.
Rep.	3	0.927	0.6967	
Fator A	1	121.468	91.2974	0.0000
Fator B	1	67.795	50.9556	0.0000
AB	1	15.970	12.0033	0.0012
Fator C	3	82.569	62.0603	0.0000
AC	3	7.104	5.3395	0.0031
BC	3	0.393	0.2953	
ABC	3	3.046	2.2896	0.0912
ERRO	45	1.330		
Coeficiente de variação: 26.56%				
Fator A: Tempo de crescimento do milho				
Fator B: Condição do micélio				
Fator C: Nível de fósforo				

Anexo II - Análise de variância relativa à tabela 4 (R/S)				
Fonte	G.L.	Quadrado Médio	F	Prob.
Rep.	3	1.768	1.1990	0.3210
Fator A	1	22.884	15.3658	0.0003
Fator B	1	25.616	17.2002	0.0001
AB	1	4.436	2.9788	0.0912
Fator C	3	22.186	14.8967	0.0000
AC	3	3.293	2.2108	0.0999
BC	3	2.619	1.7588	0.1686
ABC	3	1.508	1.0128	0.3959
ERRO	45	1.489		
Coeficiente de variação: 24.33%				
Fator A: Tempo de crescimento do milho				
Fator B: Condição do micélio				
Fator C: Nível de fósforo				

Anexo III - Análise de variância relativa à tabela 5 (RD)				
Fonte	G.L.	Quadrado Médio	F	Prob.
Rep.	3	2.460	2.0785	0.1164
Fator A	1	155.875	131.6912	0.0000
Fator B	1	19.536	16.5053	0.0002
AB	1	0.339	0.2867	
Fator C	3	63.380	53.5466	0.0000
AC	3	3.654	3.0871	0.0365
BC	3	9.568	8.0839	0.0002
ABC	3	6.120	5.1707	0.0037
ERRO	45	1.184		
Coeficiente de variação: 20.36%				
Factor A: Tempo de crescimento do milho				
Factor B: Condição do micélio				
Factor C: Nível de fósforo				

Anexo IV - Análise de variância relativa à tabela 6 (AC)				
Fonte	G.L.	Quadrado Médio	F	Prob.
Rep.	3	0.035	3.0707	0.0372
Fator A	1	0.265	23.1127	0.0000
Fator B	1	6.163	537.0507	0.0000
AB	1	0.002	0.1574	
Fator C	3	0.133	11.5912	0.0000
AC	3	0.010	0.8464	
BC	3	0.014	1.2514	0.3024
ABC	3	0.008	0.6676	
ERRO	45	0.011		
Coeficiente de variação: 23.84%				
Fator A: Tempo de crescimento do milho				
Fator B: Condição do micélio				
Fator C: Nível de fósforo				

Anexo V - Análise de variância relativa à tabela 7 (CRD)				
Fonte	G.L.	Quadrado Médio	F	Prob.
Rep.	3	1.790	1.7779	0.1649
Fator A	1	65.408	64.9649	0.0000
Fator B	1	240.483	238.8545	0.0000
AB	1	21.414	21.2688	0.0000
Fator C	3	2.172	2.1574	0.1062
AC	3	0.321	0.3186	
BC	3	0.278	0.2765	
ABC	3	0.699	0.6947	
ERRO	45	1.007		
Coeficiente de variação: 39.38%				
Fator A: Tempo de crescimento do milho				
Fator B: Condição do micélio				
Fator C: Nível de fósforo				

Anexo VI - Análise de variância relativa à tabela 8 (Extração de fósforo)				
Fonte	G.L.	Quadrado Médio	F	Prob.
Rep.	3	2.208	0.6301	
Fator A	1	85.794	24.4814	0.0000
Fator B	1	223.727	63.8409	0.0000
AB	1	54.280	15.4889	0.0003
Fator C	3	218.110	62.2381	0.0000
AC	3	0.317	0.0905	
BC	3	0.751	0.2143	
ABC	3	13.612	3.8842	0.0149
ERRO	45	3.504		
Coeficiente de variação: 27.53%				
Fator A: Tempo de crescimento do milho				
Fator B: Condição do micélio				
Fator C: Nível de fósforo				

Anexo VII - Análise de variância relativa à tabela 9 (Concentração de fósforo na parte aérea)

Fonte	G.L.	Quadrado Médio	F	Prob.
Rep.	1	0.046	1.7085	0.2109
Fator A	1	0.257	9.6118	0.0073
Fator B	3	0.125	4.6862	0.0168
AB	3	0.031	1.1758	0.3520
Fator C	1	1.509	56.3654	0.0000
AC	1	0.033	1.2380	0.2834
BC	3	0.143	5.3350	0.0106
ABC	3	0.044	1.6282	0.2249
ERRO	15	0.027		
Coeficiente de variação: 10.35%				
Fator A: Condição do micélio				
Fator B: Nível de fósforo				
Fator C: Tempo de crescimento do milho				

Anexo VIII - Análise de variância relativa à tabela 10 (Concentração de Azoto na parte aérea)

Fonte	G.L.	Quadrado Médio	F	Prob.
Rep.	1	33.171	1.6722	0.2155
Fator A	1	21.353	1.0765	0.3159
Fator B	3	33.912	1.7096	0.2078
AB	3	12.951	0.6529	
Fator C	1	767.732	38.7042	0.0000
AC	1	0.025	0.0013	
BC	3	60.011	3.0254	0.0624
ABC	3	30.089	1.5169	0.2508
ERRO	15	19.836		
Coeficiente de variação: 15.64%				
Fator A: Condição do micélio				
Fator B: Nível de fósforo				
Fator C: Tempo de crescimento do milho				

Anexo IX - Análise de variância relativa à tabela 10 (Concentração de Potássio na parte aérea)

Fonte	G.L.	Quadrado Médio	F	Prob.
Rep.	1	51.511	0.6394	
Fator A	1	768.320	9.5372	0.0075
Fator B	3	174.879	2.1708	0.1340
AB	3	85.229	1.0580	0.3961
Fator C	1	41.405	0.5140	
AC	1	17.701	0.2197	
BC	3	230.433	2.8604	0.0720
ABC	3	145.254	1.8031	0.1898
ERRO	15	80.560		
Coeficiente de variação: 21.87%				
Fator A: Condição do micélio				
Fator B: Nível de fósforo				
Fator C: Tempo de crescimento do milho				

Anexo X - Análise de variância relativa à tabela 10 (Concentração de Cálcio na parte aérea)				
Fonte	G.L.	Quadrado Médio	F	Prob.
Rep.	1	1.217	0.8327	
Fator A	1	8.344	5.7102	0.0304
Fator B	3	5.198	3.5574	0.0400
AB	3	23.519	16.0956	0.0001
Fator C	1	0.557	0.3809	
AC	1	1.361	0.9316	
BC	3	3.226	2.2076	0.1295
ABC	3	1.597	1.0931	0.3824
ERRO	15	1.461		
Coeficiente de variação: 20.34%				
Fator A: Condição do micélio				
Fator B: Nível de fósforo				
Fator C: Tempo de crescimento do milho				

Anexo XI - Análise de variância relativa à tabela 10 (Concentração de Magnésio na parte aérea)				
Fonte	G.L.	Quadrado Médio	F	Prob.
Rep.	1	0.503	12.6141	0.0029
Fator A	1	26.663	669.3178	0.0000
Fator B	3	1.265	31.7524	0.0000
AB	3	4.640	116.4811	0.0000
Fator C	1	13.742	344.9578	0.0000
AC	1	0.131	3.2967	0.0895
BC	3	0.454	11.3856	0.0004
ABC	3	0.268	6.7163	0.0043
ERRO	15	0.040		
Coeficiente de variação: 4.76%				
Fator A: Condição do micélio				
Fator B: Nível de fósforo				
Fator C: Tempo de crescimento do milho				

Anexo XII - Análise de variância relativa à tabela 10 (Concentração de Boro na parte aérea)				
Fonte	G.L.	Quadrado Médio	F	Prob.
Rep.	1	10.695	0.0996	0.0000
Fator A	1	4624.815	43.0766	0.0000
Fator B	3	2614.749	24.3544	0.0158
AB	3	511.763	4.7667	0.0094
Fator C	1	951.570	8.8631	0.0361
AC	1	568.688	5.2969	0.1531
BC	3	217.831	2.0289	0.2750
ABC	3	152.862	1.4238	
ERRO	15	107.363		
Coeficiente de variação: 21.02%				
Fator A: Condição do micélio				
Fator B: Nível de fósforo				
Fator C: Tempo de crescimento do milho				

Anexo XIII - Análise de variância relativa à tabela 10 (Concentração de Ferro na parte aérea)				
Fonte	G.L.	Quadrado Médio	F	Prob.
Rep.	1	17800.541	40.3264	0.0000
Fator A	1	12718.132	28.8124	0.0001
Fator B	3	6086.505	13.7887	0.0001
AB	3	22057.526	49.9704	0.0000
Fator C	1	33759.063	76.4797	0.0000
AC	1	3281.919	7.4350	0.0156
BC	3	5611.234	12.7120	0.0002
ABC	3	10265.025	23.2550	0.0000
ERRO	15	441.412		
Coeficiente de variação: 9.22%				
Fator A: Condição do micélio				
Fator B: Nível de fósforo				
Fator C: Tempo de crescimento do milho				

Anexo XIV Análise de variância relativa à tabela 10 (Concentração de Cobre na parte aérea)				
Fonte	G.L.	Quadrado Médio	F	Prob.
Rep.	1	79.443	2.9134	0.1085
Fator A	1	220.500	8.0865	0.0123
Fator B	3	6.090	0.2233	
AB	3	31.298	1.1478	0.3620
Fator C	1	1.796	0.0658	
AC	1	4.191	0.1537	
BC	3	8.999	0.3300	
ABC	3	16.334	0.5990	
ERRO	15	27.268		
Coeficiente de variação: 22.90%				
Fator A: Condição do micélio				
Fator B: Nível de fósforo				
Fator C: Tempo de crescimento do milho				

Anexo XV - Análise de variância relativa à tabela 10 (Concentração de Zinco na parte aérea)				
Fonte	G.L.	Quadrado Médio	F	Prob.
Rep.	1	36.125	0.2087	
Fator A	1	91.125	0.5264	
Fator B	3	867.583	5.0113	0.0133
AB	3	1215.042	7.0183	0.0036
Fator C	1	4232.000	24.4448	0.0002
AC	1	15.125	0.0874	
BC	3	340.083	1.9644	0.1627
ABC	3	115.542	0.6674	
ERRO	15	173.125		
Coeficiente de variação: 21.66%				
Fator A: Condição do micélio				
Fator B: Nível de fósforo				
Fator C: Tempo de crescimento do milho				

Anexo XVI - Análise de variância relativa à tabela 10 (Concentração de Manganês na parte aérea)				
Fonte	G.L.	Quadrado Médio	F	Prob.
Rep.	1	1784.583	19.6543	0.0005
Fator A	1	2503.312	27.5700	0.0001
Fator B	3	8692.271	95.7315	0.0000
AB	3	10583.346	116.5587	0.0000
Fator C	1	403.209	4.4407	0.0523
AC	1	198.353	2.1845	0.1601
BC	3	316.048	3.4808	0.0426
ABC	3	255.946	2.8188	0.0746
ERRO	15	90.798		
Coeficiente de variação: 8.01%				
Fator A: Condição do micélio				
Fator B: Nível de fósforo				
Fator C: Tempo de crescimento do milho				

Anexo XVII - Análise de variância relativa à tabela 10 (Concentração de Enxofre na parte aérea)				
Fonte	G.L.	Quadrado Médio	F	Prob.
Rep.	1	2.826	21.9783	0.0003
Fator A	1	1.791	13.9259	0.0020
Fator B	3	0.445	3.4635	0.0432
AB	3	0.448	3.4863	0.0424
Fator C	1	1.697	13.1998	0.0025
AC	1	0.170	1.3193	0.2687
BC	3	0.189	1.4674	0.2634
ABC	3	0.063	0.4878	
ERRO	15	0.129		
Coeficiente de variação: 25.29%				
Fator A: Condição do micélio				
Fator B: Nível de fósforo				
Fator C: Tempo de crescimento do milho				