

LILIANA AUXILIADORA AVELAR PEREIRA

DESENVOLVIMENTO DE MUDAS DE CAFEEIRO (*Coffea arabica* L.) NA PRESENÇA DE *Gigaspora margarita* Becker & Hall E *Rhizoctonia solani*, Kuhn

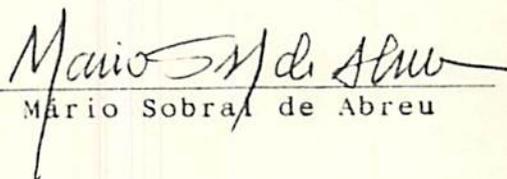
Dissertação apresentada à Escola Superior de Agricultura de Lavras, como parte das exigências do curso de Pós-Graduação em Agronomia, área de concentração Fitossanidade, sub-área Fitopatologia, para obtenção do grau de «MESTRE».

ESCOLA SUPERIOR DE AGRICULTURA DE LAVRAS
LAVRAS — MINAS GERAIS

1994

DESENVOLVIMENTO DE MUDAS DE CAFEEIRO (*Coffea arabica* L.) NA
PRESENÇA DE *Gigaspora margarita* Becker & Hall
E *Rhizoctonia solani*, Kuhn

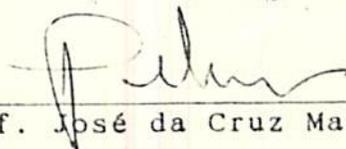
APROVADA: 28/02/94



Prof. Mário Sobral de Abreu



Pesq. Elizabeth Oliveira



Prof. José da Cruz Machado

A Deus

Aos meus pais,

A minha irmã Silvana

OFEREÇO

AGRADECIMENTOS

A Escola Superior de Agricultura de Lavras, pelos ensinamentos e oportunidade oferecida para realização deste curso.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e tecnológico (CNPq), pela bolsa de estudo concedida.

Ao professor Mário Sobral de Abreu, pelos ensinamentos, companheirismo e orientação em todo decorrer do curso.

A amiga Elizabeth de Oliveira, não só pelos ensinamentos transmitidos, como também pelas sugestões, amizade e incentivo durante a realização deste curso.

Ao professor José da Cruz Machado, pela participação na banca examinadora.

A professora Janice Guedes Carvalho pelas sugestões e atenção dispensada.

Aos professores Milton Moreira de Carvalho e José Oswaldo Siqueira.

A Ana Maria, Maria de Lourdes, Lisiane e Kleber pela amizade e auxílio na realização deste trabalho.

Ao Laboratorista Manoel Aparecido da Silva, pela colaboração e ensinamentos.

Ao José Avelino e José Maurício, funcionários do viveiro de café da ESAL, aos funcionários da biblioteca Central, e a todos aqueles que contribuíram direta ou indiretamente para realização deste trabalho, meus agradecimentos sinceros.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS	viii
1. INTRODUÇÃO	01
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	03
2.1. Patogenicidade de <i>Rhizoctonia solani</i> ao cafeeiro	03
2.2. Micorrizas vesículo - arbusculares em cafeeiro ..	05
2.3. Interações entre fungos micorrizicos vesículo - - arbusculares e fitopatógenos	10
3. MATERIAL E MÉTODOS	16
EXPERIMENTO I	16
3.1. Obtenção das plântulas	16
3.2. Preparo do substrato	16
3.3. Tratamentos e delineamento experimental	17
3.4. Preparo do inóculo do fungo micorrizico	18

3.5. Isolamento e preparo do inóculo de <i>Rhizoctonia solani</i>	18
3.6. Instalação e condução do experimento	19
3.7. Avaliações	20
3.8. Análise Estatística	22
EXPERIMENTO II	23
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	24
4.1. Experimento I	24
4.2. Experimento II	32
5. CONCLUSÕES	39
6. RESUMO	41
7. SUMMARY	43
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	45
APÊNDICE	59

LISTA DE TABELAS

Tabela		Página
1	Efeito de <i>Rhizoctonia solani</i> sobre as taxas de sobrevivência (%) e de colonização micorrízica (%) em cafeeiro na presença de <i>G. margarita</i> sob condições de baixo nível de fósforo	25
2	Efeito de <i>Rhizoctonia solani</i> sobre a altura (cm) e peso fresco e seco de parte aérea e raiz (g) em cafeeiro na presença de <i>G. margarita</i> sob condições de baixo nível de fósforo	28

Tabela

Página

3	Efeito de <i>Rhizoctonia solani</i> sobre o teor de P na parte aérea (%) em mudas de cafeeiro na presença de <i>G. margarita</i> sob condições de baixo nível de fósforo	30
4	Efeito de <i>Rhizoctonia solani</i> sobre as taxas de sobrevivência (%) e de colonização micorrízica (%) em mudas cafeeiro na presença de <i>G. margarita</i> sob condições de elevado nível de fósforo	33
5	Efeito de <i>Rhizoctonia solani</i> sobre a altura (cm) e pesos fresco e seco de parte aérea e raiz (g) em mudas de cafeeiro na presença de <i>G. margarita</i> sob condições de elevado nível de fósforo	36
6	Efeito de <i>Rhizoctonia solani</i> sobre o teor de P (%) na parte aérea em mudas de cafeeiro na presença de <i>G. margarita</i> sob condições de elevado nível de fósforo	38

1. INTRODUÇÃO

O tombamento causado pelo fungo *Rhizoctonia solani* Kuhn, ocorre comumente em viveiros e sementeiras de café, provocando danos às plântulas desde a pré emergência, até às mudas recém plantadas no campo, assumindo grande importância econômica (MANSK 1990).

O controle do tombamento se realiza com o emprego de práticas culturais adequadas e o uso de fungicidas.

Com a chamada crise energética e a preocupação com a qualidade do ambiente, tem havido um interesse na utilização de microorganismos no controle biológico de doenças. Entre as muitas formas pelas quais o controle biológico pode ser exercido, está o uso de fungos micorrizicos. Esses fungos simbiotes se associam a raízes de plantas, estabelecendo uma interação simbiótica mutualística, onde ambos os membros se beneficiam. Dentre os benefícios que fungos micorrizicos podem propiciar inclui-se a maior tolerância das plantas à patógenos do sistema radicular.

Em vários estudos realizados com fungos micorrizicos ficou evidenciado que o cafeeiro apresenta alto grau de dependência micorrizica para o seu desenvolvimento em solos de baixa fertilidade (SIQUEIRA et al., 1987). Baseando-se no efeito diferenciado na efetividade das espécies, vários fungos MVA foram inoculados em mudas de cafeeiro. Em todos os experimentos o fungo *Gigaspora margarita* Becker & Hall foi o que demonstrou maior efetividade na promoção do desenvolvimento das mudas.

Vários relatos indicam que além das vantagens nutricionais no desenvolvimento das plantas, os fungos micorrizicos podem reduzir os efeitos de alguns fitopatógenos no hospedeiro.

Até o momento estudos dos efeitos de micorriza vesículo-arbusculares no controle de enfermidades fungicas no cafeeiro não foram realizados.

Esse trabalho teve por objetivo verificar, sob condições de casa de vegetação, o efeito da associação micorrizica vesículo-arbuscular, formada por *Gigaspora margarita* em mudas de cafeeiro, sobre o fungo patogênico *Rhizoctonia solani*, em substrato fumigado e não fumigado, com diferentes doses de superfosfato simples.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Patogenicidade de *Rhizoctonia solani* ao cafeeiro

A Rhizoctoniose é uma das enfermidades mais graves do cafeeiro, manifestando-se em viveiros, podendo causar graves prejuízos na formação de mudas (BORDIN, 1989). A doença pode causar danos durante a estação chuvosa em mudas recém plantadas no campo, principalmente naquelas que já apresentavam lesões no viveiro, determinando atrasos de cerca de 3 anos em relação ao desenvolvimento normal da planta sadia (ABRAHÃO, 1963; CARVALHO, 1970; MANSK, 1990).

A doença é causada pelo fungo parasita *Rhizoctonia solani* Kuhn que apresenta também grande capacidade saprofítica podendo sobreviver por longos períodos em restos culturais e no solo, na forma de escleródios (GALLI & CARVALHO, 1980).

O aparecimento da doença é favorecido pelo excesso de sombra e umidade elevada.

O principal sintoma consiste no estrangulamento do hipocótilo na região do coleto, rente ao solo, que se dá devido à penetração do micélio do fungo hospedeiro, ocasionando o apodrecimento, conseqüentemente a translocação da seiva é interrompida, provocando murcha e tombamento da muda.

Em ambiente úmido, a lesão é recorberta pelo micélio do fungo, o qual é responsável pela disseminação da doença. O ataque ocorre geralmente em reboleira. Em mudas de um ano, no campo, as lesões formadas no colo deixam as mudas expostas à quebra pelo vento, ou pelos tratos culturais. Este estrangulamento abrange uma extensão de 5-10 cm, e no limite superior da lesão, ocorre o entumescimento e a formação de um tecido cicatricial, devido ao acúmulo de seiva descendente (MANSK, 1990).

Para o controle da enfermidade têm sido adotadas medidas preventivas como escolha de local apropriado para a formação dos viveiros, evitando-se locais úmidos e sombreados, além da fumigação do substrato. O tratamento químico com fungicidas é feito tanto preventiva como curativamente. Vários produtos foram testados e apresentam boa eficiência no controle da enfermidade (IBC, 1986; BORDIN, 1989; MANSK, 1990).

não ←/ Até o momento não se tem conhecimento de trabalhos visando o controle biológico com o uso de fungos micorrizicos vesiculo arbusculares no controle de enfermidades fungicas no cafeeiro./

Rhizoctonia solani Kuhn, é um membro da sub-divisão Deuteromycotina, da classe Agonomycetes, ordem Micelia sterilia,

fase assexual de *Thanatephorus cucumeris* (Frank) Dowk. Caracteriza-se por apresentar células multinucleadas na fase jovem, um septo proeminente, ramificação e colônias com pigmentação amarronzada. Os isolados geralmente apresentam células monilióides e escleródios com anel e medula, e crescimento micelial rápido. (PARMETER JR & WITHINEY, 1970).

O fungo *Rhizoctonia solani* apresenta grande variabilidade quanto à patogenicidade, gama de hospedeiros e produção de escleródios. Cosmopolita e de distribuição extensiva nos solos, apresenta mais de 200 espécies de hospedeiros (Davey & Papavizas, 1959; citados por KUNDU & NANDI, 1985).

2.2. Micorrizas vesículo-arbusculares em cafeeiro.

As micorrizas são associações simbióticas mutualísticas que se desenvolvem entre as raízes da maioria das espécies vegetais e fungos do solo. Os fungos colonizam o cortex das raízes, em perfeito equilíbrio biológico onde a planta supre o fungo com fotossintatos e este capta nutrientes da solução do solo transferindo-as para as plantas (BAREA et al., 1984).

Estas associações podem ser agrupadas em ectomicorrizas, ectendomicorrizas e endomicorrizas do tipo vesicular-arbusculares (MVA). Fungos da ordem Glomales, classe Zygomycetes (MORTON & BENNY, 1990), associam-se às raízes da maioria das plantas vasculares, formando associações denominadas micorrizas Vesículo-arbusculares (MVA).

As MVA caracterizam-se pela ausência de alteração morfológica visual nas raízes, pelo desenvolvimento inter e intra celular do fungo, com formação de estruturas típicas sendo vesículas e arbuscúlos no interior das raízes e hifas, células auxiliares e esporos na rizosfera (SIQUEIRA, 1986).

Gigaspora margarita Bercker & Hall, é um membro da subdivisão Zygomycotina, classe Zygomycetes, ordem Glomales, família Gigasporaceae, que se caracteriza por produzir zigosporos ectocárpicos, que se formam terminal ou lateralmente sobre a hifa, a qual se dilata em uma célula bulbosa suspensora (bulbo). Os esporos são de estrutura relativamente simples e possuem um único grupo de paredes, através da qual o tubo germinativo emerge, (MORTON & BENNY, 1990).

Estas associações beneficiam a planta hospedeira pela maior absorção de nutrientes do solo, particularmente os pouco móveis como o fósforo, zinco e cobre (COOPER, 1984; KOIDE, 1991). Induzem a uma maior tolerância aos estresses devido à seca, fatores fitotóxicos e patógenos do sistema radicular. Além de tornarem as plantas micorrizadas mais adaptadas ao ecossistema como em solos de baixa fertilidade e ácidos (NELSEN, 1987; SIQUEIRA et al., 1991; GIOVANNETTI, 1990; FELDMANN et al., 1989; MARSCHNER, 1991). A formação e o funcionamento desta simbiose são influenciados por um grande número de fatores, como a espécie ou isolado de uma mesma espécie do fungo; a variedade, espécie, idade e estado nutricional da planta; temperatura, nível e

disponibilidade de nutrientes, aeração, pH, a microbiota e o manejo do ambiente (SIQUEIRA & FRANCO, 1988).

Um dos fatores mais importantes envolvidos no controle da colonização micorrizica é o teor de fósforo no solo.

Com o aumento da concentração de fosfato solúvel no solo, a porcentagem de colonização, normalmente é reduzida. Entretanto quando a concentração inicial de fósforo é extremamente baixa, pequenas adições podem aumentar a colonização (SANDERS & TINKER, 1973).

Há relatos que espécies ou isolados de uma mesma espécie de fungo micorrizico, podem apresentar diferenças de efetividade quando submetidas a diferentes teores de fósforo disponível no substrato (ABBOTT & ROBSON, 1985; PAULA et al., 1988; BOENER, 1990; LOUIS & LIM, 1988). O mecanismo pelo qual o fósforo controla a colonização ainda é pouco conhecido. Segundo GRAHAM et al. 1982 a alteração da permeabilidade da membrana é o mecanismo controlador. JASPER et al. (1979) sugerem que quanto mais alta a concentração de P numa planta, mais baixo o conteúdo de carboidratos solúveis e exsudatos nas raízes, regulando assim o suprimento de carbono que estaria disponível para o fungo, o que reduz a taxa de colonização.

Os níveis de fósforo considerados inibitórios à colonização, variam de acordo com a espécie vegetal envolvida na simbiose (SIQUEIRA et al., 1984).

COLOZZI-FILHO & SIQUEIRA (1986), estudando o efeito da inoculação das mudas de cafeeiro com *Gigaspora margarita*, cultivadas em solo com diferentes níveis de P, verificaram que os benefícios da inoculação atingiram um nível máximo com a dosagem de 200ppm de P_2O_5 aos 110 dias, quando as plantas apresentaram maior relação raiz parte aérea, menores teores de N e Zn e maiores de P, K e Ca. Em doses superiores a essa, foi verificada a tendência inversa.

SOUZA et al. (1989), estudando o efeito da aplicação de diferentes doses de superfosfato simples ao substrato de mudas de cafeeiro, verificou que doses acima de 1.5 Kg de superfosfato simples/m³ de substrato, reduziram a colonização micorrizica nas raízes. No entanto ZAMBOLIM et al., (1986) não verificaram efeito significativo de fósforo sobre a percentagem de colonização micorrizica.

O efeito do fósforo no estabelecimento e funcionamento da simbiose entre as mudas de cafeeiro e *Gigaspora margarita* foi estudado também por SIQUEIRA & COLOZZI-FILHO (1986) sob condições de casa-de-vegetação. Quando o solo tinha menos de 10 ppm de fósforo disponível, a simbiose apresentou natureza parasitica ou neutralistica. Entre 100 e 300 ppm, apresentou transição entre mutualismo e parasitismo e acima de 300 ppm de fósforo disponível, a simbiose foi parasitica. Observa-se que a taxa de colonização aumentou três vezes, quando se aplicou 200 ppm de P_2O_5 na forma de superfosfato triplo. Até a dose de 800ppm de

P₂O₅ a colonização manteve-se constante, reduzindo-se nas doses mais elevadas.

Uma espécie de fungo micorrizico pode infectar diferentes hospedeiros, e uma espécie de planta pode ser infectada por diferentes espécies de fungos. Isto sugere que a associação não é específica. No entanto, existem dados mostrando que as plantas podem ser beneficiadas de forma diferente, dependendo da espécie do fungo presente em suas raízes, o que indica a variação da efetividade da simbiose (MOSSE, 1973).

A ocorrência de MVA em cafeeiros foi descrita em 1897 por Janse citado por LOPES et al. (1983) e vários estudos recentes têm demonstrado que o cafeeiro é uma planta com alta dependência micorrizica para seu desenvolvimento normal em solos com baixa fertilidade (CARDOSO, 1978; LOPES et al., 1983; CALDEIRA et al., 1983; COLOZZI-FILHO et al., 1986; SAGGIN JR. et al., 1992; SIQUEIRA et al., 1991).

Os cafeeiros quando micorrizados apresentam acentuada melhoria em seu estado nutricional, um aumento de desenvolvimento e maior capacidade de suportar estresses, tanto na fase de formação de mudas (LOPES et al., 1983; COLOZZI-FILHO et al., 1986; COLOZZI-FILHO & SIQUEIRA, 1986), quanto após o transplante nas condições de casa de vegetação (SIQUEIRA et al., 1991; SAGGIN JR. et al., 1992) ou campo (SIQUEIRA et al., 1987).

Baseando-se no efeito diferenciado da efetividade das espécies, vários fungos foram testados em mudas de cafeeiro

(ALLEN & BOOSALIS, 1983; COLOZZI-FILHO et al., 1986; LOPES et al., 1983). Em todos os experimentos o fungo *G. margarita* foi o que demonstrou maior efetividade na promoção do desenvolvimento das mudas do cafeeiro.

Assim, é interessante observar que os fungos micorrizicos diferem grandemente na sua capacidade em promover o crescimento da planta, salientando a complexidade da existência deste sistema simbiótico, sendo necessário selecionar os fungos mais eficientes para determinada espécie vegetal e conjunto de condições edafoclimáticas.

2.3. Interações entre fungos micorrizicos vesiculo-arbusculares e fitopatógenos

Entre as muitas formas pelas quais o controle biológico pode ser exercido, está o uso de fungos micorrizicos. Entretanto, as interações entre MVA e doenças de plantas têm recebido pouca consideração do ponto de vista experimental.

O primeiro relato da influência de MVA sobre um patógeno de planta, foi feito por Safir em 1968 citado por LOPES et al. (1983). A partir daí, diversos estudos envolvendo estas interações foram publicados. A maior parte dos relatos encontrados na literatura revelam que as micorrizas induzem uma diminuição da severidade das doenças (MELO et al., 1985; GARCIA GARRIDO & OCAMPO, 1989; TAKA, 1991). Em vários estudos,

entretanto, a severidade da doença aumentou (DAVIS et al., 1979; ROSS, 1972;) e em outros, houve ausência de interação (BAATH & HAYMAN, 1983; GRAHAM, 1988; KOBAYASHI, 1992).

Os mecanismos pelos quais as plantas micorrizadas afetam os fitopatógenos, são complexos e pouco entendidos. Segundo ZAMBOLIM & SIQUEIRA (1985) para que a interação fungo MVA - fitopatógeno - hospedeiro tenha efeito benéfico, é necessário que o fungo micorrizico se estabeleça nos tecidos das raízes do hospedeiro, primeiro que o fitopatógeno.

Os fungos MVA podem influenciar direta ou indiretamente a severidade das doenças, alterando a rizosfera, beneficiando ou inibindo o patógeno, e/ou alterando o hospedeiro, tornando-o mais "resistente" (LOPES et al., 1983; ZAMBOLIM, 1986).

Mecanismos de natureza bioquímica, morfológica, anatômica ou nutricional agindo conjuntamente, têm sido propostos para explicar a redução das enfermidades proporcionadas pelos fungos micorrizicos. Becker, 1976; citado por BAGYARAJ(1984), relata ocorrer um endurecimento da parede celular devido à lignificação e produção de polissacarídeos impedindo a penetração e crescimento do patógeno.

SCHONBECK (1979), observa que a maior tolerância apresentada pelas plantas micorrizadas a fitopatógenos, seja devida ao sistema vascular mais vigoroso, o qual aumenta o escoamento de nutrientes e proporciona maior força mecânica à planta, diminuindo assim, os danos causados pelos patógenos.

O aumento da atividade de quitinase em tecidos micorrizados, como a presença de estruturas fungicas dentro das células corticais competindo por espaço, diminui o crescimento do patógeno no hospedeiro (BAGYARAJ, 1984).

Segundo GRAHAM & MENGE (1982), a composição dos exudatos radiculares também é modificada, inibindo o desenvolvimento do patógeno ou estimulando o crescimento de microorganismos antagônicos. Outra explicação sugerida por esses autores é que o elevado teor de P na planta micorrizada aumenta o teor de fosfolipideos, diminuindo a permeabilidade da membrana, ocasionando menor exsudação radicular, diminuindo a atração pelos patógenos ao sistema radicular.

Elevados teores de aminoácidos (BALTRUSCHAT & SCHONBECK, 1975) e de ortodihidroxifenóis em plantas micorrizadas provocam a diminuição da ação de certos patógenos (KRISHMA & BAGYARAY, 1983).

Segundo DEHNE(1982), o sucesso na supressão da doença vai depender da espécie do fungo micorrizico, da virulência do patógeno e sua espécie, da cultura envolvida na interação, e do modo de parasitismo. A alta densidade do inóculo do patógeno com a consequente elevada infecção da raiz tende a decrescer os efeitos positivos da simbiose.

A maior parte das pesquisas envolve a ação dos MVA sobre fungos fitopatogênicos. CASSIOLATO & MELO (1991) em experimentos realizados com plantas de tomateiro colonizadas por *Glomus*

Glomus leptotichum e *Acaulospora morrowae*, constataram que as plantas micorrizadas mostraram-se mais tolerantes ao tombamento causado por *Rhizoctonia solani*, principalmente quando a inoculação do patógeno foi realizada após a colonização das raízes das plantas.

ZAMBOLIM & SCHENCK (1984) estudaram o efeito de *Glomus mosseae* em soja na presença de *Rhizoctonia solani*, de *Macrophomina phaseolina* e *Fusarium solani*, verificando que as plantas inoculadas simultaneamente com os patógenos e o fungo micorrizico, apresentaram crescimento superior ou semelhante à testemunha.

MELO et al. (1985), utilizando berinjela (*Solanum melogena*) cv Flórida Market colonizada com *Glomus leptotichum* e *Glomus macrocarpum* e inoculadas com *Verticilium albo-atrum*, verificaram que esses fungos intensificaram a incidência da doença. Entretanto, as colonizadas com *Gigaspora margarita* e *Gigaspora heterogama* apresentaram menores taxas de murcha que as não micorrizadas.

Alguns estudos sobre a interação entre *Glomus intraradices* e *Fusarium oxysporum* em tomateiro têm mostrado que a presença do fungo MVA diminui a população de *Fusarium* e os danos nas raízes causados pelo patógeno (CARON et al., 1985; CARON et al., 1986).

BALTRUSCHAT & SCHONBECK (1975) trabalharam com fumo (*Nicotiana tabacum* L) colonizado por *Glomus mosseae* e observaram um decréscimo na infecção causada por *Thielaviopsis basicola*.

SCHENCK & KELLAM (1978), em experimentos realizados com citrus pré colonizados por *Gigaspora margarita* e *Glomus macrocarpum*, verificaram que as plantas micorrizadas foram menos atacadas por *Phytophthora parasitica*, obtendo maior peso seco de raiz e maior diâmetro dos caules que as plantas não micorrizadas.

Em cafeeiro foram realizados estudos para avaliar a interação entre fungos MVA e nematoídes. ZAMBOLIM & LANA (1987) inocularam *Meloidogyne exigua* e *Gigaspora margarita*, em plântulas de café no estágio "orelha de onça" e constataram que as mudas micorrizadas mostraram-se tolerantes ao nematoíde.

Em outro ensaio LANA et al. (1989), estudaram a interação entre *Gigaspora margarita* e nematoíde. Mudanças de café "Catuaí" vermelho foram inoculadas simultaneamente com *Gigaspora margarita* e o nematoíde *Meloidogyne exigua*, sob diferentes níveis de fósforo (0, 20, 40, 80, 120, 200 ppm). As plantas micorrizadas apresentaram maior altura, maior peso seco da parte aérea, maior absorção de fósforo, para todas as doses testadas. Plantas inoculadas com *M. exigua* sofreram drástica redução da parte aérea, independente da dose de fósforo testada. A inoculação simultânea do simbiote e do patógeno mostrou que *Gigaspora margarita* pode compensar parcialmente os efeitos deletérios do nematoíde.

Assim, o efeito do patógeno de raiz na colonização dos fungos MVA pode variar nas diferentes interações fungos MVA-patógeno - hospedeiro (CARON et al., 1986). Segundo DEHNE (1982),

a efetividade da simbiose e o grau de severidade da doença, parecem ser dependentes de um hospedeiro ótimo, da espécie do fungo micorrizico, da densidade de inóculo e patogenicidade do patógeno, do modo de parasitismo e ambiente (fertilidade do solo, temperatura, umidade, aeração, microbiota e manejo do ambiente).

3. MATERIAL E MÉTODOS

EXPERIMENTO I

3.1. Obtenção das plântulas

Sementes de café Catuaí vermelho CH-2077-2-5-44, provenientes de cafeeiro cultivados na ESAL, foram semeadas em germinadores de alvenaria, contendo areia como substrato, usando-se 1 Kg de semente por m² de germinador, conforme instruções do IBC (1986).

3.2. Preparo do substrato

O substrato utilizado foi composto de solo e areia, na proporção de 2:1 respectivamente. Uma amostra composta deste substrato foi utilizada para a análise de fertilidade, no laboratório do Departamento de Ciências do Solo da ESAL,

apresentando como resultados: pH = 4.3; P = 2 ppm; K = 8 ppm; Ca = 0.3 meq/100cc; Mg = 0.1 meq/100cc; Al = 0.4 meq/100cc.

Parte do substrato foi fumigado com Brometo de metila (260 ml/m³ de substrato). As porções do substrato fumigado e não fumigado, foram fertilizadas com superfosfato simples na dosagem de 1 Kg/m³ de substrato. O substrato foi colocado em recipientes plásticos com capacidade de 500g e antes do plantio das mudas, adicionou-se em cada recipiente 10 ml de uma solução nutritiva contendo 50 ppm de N, 50 ppm de K, 0.5 ppm de B, 1.5 ppm de Cu, 5 ppm de Zn, 0.1 ppm de Mo, 15 ppm de Mg.

3.3. Tratamentos e delineamento experimental

O experimento foi constituído por 8 tratamentos sendo: substrato fumigado e substrato não fumigado, presença e ausência de *Gigaspora margarita* e presença e ausência de *Rhizoctonia solani*.

Cada parcela experimental, foi composta de seis recipientes plásticos, com capacidade de 500 ml, cada qual com uma muda e cada tratamento foi repetido quatro vezes.

O delineamento experimental utilizado foi em blocos casualizados.

3.4. Preparo do inóculo do fungo micorrizico

A espécie *Gigaspora margarita* utilizada, foi multiplicada em vasos de cultivo, tendo *Brachiaria decumbens* Stapf como planta hospedeira e Latossolo Roxo fumigado (393 cm³ de Bromex/m³ de substrato) como substrato. As suspensões de esporos foram preparadas por peneiramento via úmida, do substrato de vasos de cultivo, conforme GERDEMAN & NICOLSON (1963), utilizando-se peneiras de 0.710 e 0.053 mm de abertura, seguido de centrifugações a 2000 rpm, sendo uma em água e outra em sacarose a 45%, durante 3 e 2 minutos respectivamente. Após a extração os esporos foram lavados e transferidos para um becker de onde retiraram-se aliquotas para contagem em microcópico estereoscópico, padronizando-se assim a quantidade de esporos nas suspensões. Estas suspensões foram utilizadas como inóculo do fungo micorrizico.

3.5. Isolamento e preparo de Inóculo de *Rhizoctonia solani*

Os isolamentos de *Rhizoctonia solani*, foram feitos a partir de fragmentos do colo de plântulas de cafeeiro, apresentando sintomas de tombamento. Após a desinfecção superficial dos fragmentos dos tecidos infectados, os mesmos foram colocados em placas de petri, contendo meio BDA e 200 ppm de sulfato de estreptomicina.

As placas foram mantidas em câmara de incubação à temperatura de $21^{\circ} \pm 2$ com alternância de 12 horas de escuro e 12 horas sob luz negra. O patógeno retirado das colônias obtidas, foi periodicamente inoculado em plântulas de cafeeiro no estágio "orelha de onça" e reisolado com o propósito de verificar sua virulência.

O inóculo constou de 2 discos da colônia em meio BDA, tomados da margem das placas, sendo colocados a 2cm de profundidade em pontos equidistantes dos recipientes, conforme metodologia utilizada por STEPHENS et al., 1981.

3.6. Instalação e condução do experimento

As plântulas foram conduzidas em germinadores de alvenaria, contendo areia como substrato até o estágio "palito de fósforo". Após atingirem esse estágio, foram selecionadas e repicadas para os recipientes plásticos.

A inoculação do fungo micorrízico foi realizada simultaneamente ao transplante das mudas, através da pipetagem sobre as raízes de 1 ml de suspensão de esporos contendo cerca de 50 esporos por plântula.

Os vasos de todos os tratamentos receberam 10 ml de filtrado do substrato dos vasos de cultivo, contendo outros microorganismos porém isento de esporos de fungo MVA.

Procedeu-se à inoculação do fungo patogênico *R. solani*, quando mais de 80% das plântulas já apresentavam o primeiro par de folhas.

As adubações com N e K foram parceladas em 3 aplicações, sendo a primeira antes do plantio das mudas e as demais com intervalos de 45 dias. As dosagens das adubações de cobertura foram as mesmas da adubação inicial.

Quatro meses após o transplântio, as plantas foram pulverizadas com uma solução de sulfato de zinco e uréia, na proporção de 0.5 g de sulfato de zinco e 0.1 g de uréia por litro de água, e, posteriormente, com intervalo de 7 dias pulverizou-se sulfato ferroso amoniacal na dosagem de 0.1 g por 100 ml de água.

As regas foram diárias mantendo-se a umidade em torno de 60% da capacidade de retenção de água no solo.

3.7. Avaliações

O crescimento vegetativo foi avaliado periodicamente, com o intervalo de 60 dias, através da medida de altura das plantas.

Após seis meses da inoculação do fungo micorrizico e transplântio das mudas, foi efetuada avaliação final, considerando os seguintes parâmetros: altura das mudas, peso fresco e seco de raiz e parte aérea, teores de P na parte aérea, taxa de colonização micorrizica e avaliação da porcentagem de plantas que sobreviveram sob a ação de *Rhizoctonia solani*.

A altura das plantas foi determinada a partir da superfície do solo, até o ponto de inserção dos brotos terminais, utilizando-se régua milimetrada. Mediu-se a altura de cada planta da parcela, obtendo-se uma média por tratamento.

A parte aérea de cada muda foi separada do sistema radicular na altura do colo, determinando-se o peso fresco da parte aérea. Posteriormente as mudas foram acondicionadas separadamente em sacos de papel, colocadas em estufa com aeração a 70°C até a obtenção de peso constante para a determinação do peso seco.

As raízes foram separadas da parte aérea, lavadas em água corrente para posterior obtenção do peso fresco, em seguida foram acondicionadas em frascos de vidro contendo FAA (ácido acético glacial, 5 ml; formalina, 13 ml; álcool etílico, 200 ml), com o propósito de conservá-las até a determinação da taxa de colonização micorrizica.

A quantidade de raízes foi insuficiente para a determinação da taxa de colonização micorrizica e do peso seco. Assim, para estimar o peso seco, acondicionou-se raízes de 5 mudas separadamente, em saco de papel, os quais foram colocados em estufa com aeração à 70°C, até a obtenção do peso constante. Determinou-se o teor de umidade médio das raízes amostradas e posteriormente subtraiu-se de cada raiz de todos os tratamentos o valor médio obtido para o teor de umidade, obtendo-se os valores de peso seco.

Para a determinação dos teores de P na parte aérea utilizou-se o material de todas as plantas de cada parcela. Após a secagem e obtenção do peso seco, o material foi triturado em moído, homogenizado e posteriormente retirou-se uma amostra de 1 g para as análises. Os extratos dos tecidos foram preparados conforme HUNTER (1975) por digestão nítrico-perclórica, os teores de P foram determinados por colorimetria.

A reação do hospedeiro ao isolado de *R. solani* foi baseada no critério de percentagem de sobrevivência, efetuando-se a avaliação final das plantas mortas.

Para a quantificação da colonização micorrizica utilizou-se o método de coloração de raiz descrito por PHILLIPS & HAYMAN (1970), seguindo-se a determinação da percentagem da colonização pelo método da placa quadriculada (GIOVANNETTI & MOSSE, 1980).

3.8. Análise estatística

Os dados foram tabulados e submetidos a análise de variância e teste de médias pelo programa estatístico SANEST (Sistema para análise de variância). Os dados foram submetidos à transformação através da expressão $\text{Log } X + 10$.

EXPERIMENTO II

Neste ensaio, utilizou-se a mesma metodologia aplicada ao experimento I, diferindo apenas na fertilização de P, sendo aplicado uma dosagem de 4 kg/m³ de substrato.

Os tratamentos e o delineamento utilizado foram os mesmos descritos para o primeiro ensaio.

Cada parcela experimental foi constituída de 15 recipientes contendo uma muda cada.

A instalação, condução e avaliações seguiram a mesma metodologia utilizada no experimento I.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Experimento I - Influência de *Gigaspora margarita* sobre tombamento de mudas de cafeeiro em substrato adubado com 1 kg de superfosfato simples por m³ de substrato.

Para dosagem de 1 kg de superfosfato simples por m³ de substrato, observou-se que a presença de *Rhizoctonia solani*, reduziu significativamente o índice de sobrevivência das mudas de cafeeiro (Tabela 1). O índice de sobrevivência das mudas inoculadas com o patógeno sendo em média de 20.83%, evidencia que a micorrização não conferiu maior tolerância das mudas ao ataque do patógeno.

Para as mudas não micorrizadas, observou-se uma tendência de maior sobrevivência no solo não fumigado, o que possivelmente pode ser devido a organismos antagônicos ao patógeno presentes no substrato.

TABELA 1. Efeito de *R. solani* sobre as taxas de sobrevivência e de colonização micorrizica em cafeeiro na presença de *Gigaspora margarita* sob condições de baixo nível de fósforo (médias de 4 repetições).

		Parâmetros			
		Sobrevivência de planta (%)		Taxa de colonização (%)	
		<i>R. solani</i>		<i>R. solani</i>	
		Não inoc.	Inoc.	Não inoc.	Inoc.
Micorrizado	Fumigado	100 aA	29.16 aB	50.76 aA	18.79 aB
	Não fumigado	100 aA	24.99 aB	26.61 aA	48.33 aB
Não micorrizado	Fumigado	100 aA	8.33 aB	0.00 bA	0.00 bA
	Não fumigado	100 aA	20.83 aB	0.81 bA	0.99 bA
CV (%)		13.90		14.58	

Médias seguidas pela mesma letra maiúscula nas linhas e minúsculas nas colunas não diferem entre si pelo teste Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

As mudas micorrizadas, em solo fumigado, apresentaram maior percentagem de sobrevivência, embora esta diferença não tenha sido detectada pela análise de variância.

Diante desses resultados pode-se verificar que embora o índice de mortalidade tenha sido alto, detectou-se uma tendência de proteção das mudas pela micorriza, na presença do patógeno, já

que o número de mudas micorrizadas sobreviventes foi em média, superior ao das não micorrizadas.

A taxa de colonização média de todos os tratamentos foi de 36.12%. COOPER (1984) considera 20 a 30% a taxa de colonização mínima necessária para promover respostas pela micorrização. Entretanto, COLOZZI-FILHO & SIQUEIRA (1986) observaram respostas à micorrização, em mudas de cafeeiro inoculadas com *G. margarita* apenas quando atingiram mais de 30% de colonização radicular. Para as plantas não inoculadas com o patógeno a taxa de colonização foi em média de 49.54%, o suficiente para conferir vantagem nas características de crescimento e nutricionais.

Não foi verificada a influência da fumigação do substrato na colonização das raízes pelo fungo micorrízico.

A inoculação com *R. solani* reduziu a colonização micorrízica. Esta redução pode ser devida à presença do patógeno nos tecidos da planta, exercendo uma competição por espaço ou fotossintatos da planta hospedeira. Esta redução também pode ter sido ocasionada pelos danos causados pelo patógeno no sistema radicular e vasos condutores de seiva com desestruturação dos tecidos, limitando conseqüentemente o crescimento do fungo micorrízico. BAATH & HAYMAN (1983) trabalharam com tomateiros pré-inoculados com uma mistura de fungo MVA e *Verticillium albo-atrum*. Observaram que as plantas apresentaram uma baixa percentagem de colonização micorrízica nas raízes, e que os danos causados pelo patógeno diminuíram a eficiência fotossintética, reduzindo assim o transpor-

te de fotossintatos para a raízes, ocasionando redução no crescimento do fungo MVA. A redução na colonização micorrízica, na presença de patógeno foi também observada por GRAHAM (1988), em experimento utilizando plantas de laranja doce (*Citrus sinensis*) inoculadas com *Glomus intraradices* e *Phytophthora parasitica*.

Na primeira avaliação de altura de plantas, realizada aos 60 dias após o transplântio e inoculação do fungo micorrízico não foi constatada diferença significativa pelo teste Tukey, ao nível de 5% de probabilidade para os tratamentos micorrizados e não micorrizados. Entretanto, em experimentos realizados por SAGGIN JR. et al. (1992) foi verificada diferença marcante no crescimento de mudas de cafeeiro a partir de 30 dias, quando as plantas micorrizadas aumentaram em até 5 vezes o crescimento em relação às não micorrizadas. Já COLOZZI-FILHO & SIQUEIRA (1986), verificaram que o aumento no crescimento foi pequeno até os 60 dias elevando-se a partir dessa época até atingir 90% aos 110 dias.

Na segunda avaliação de altura das plântulas, neste experimento, 60 dias após a primeira e posterior à inoculação do patógeno, verificou-se que, embora não diferindo significativamente, houve uma tendência de maior crescimento das plântulas micorrizadas em relação às não micorrizadas. As plantas inoculadas com *R. solani* apresentaram menor crescimento em relação às não inoculadas.

Os resultados da avaliação final do experimento, realizada aos 6 meses após o transplântio, são apresentados na Tabela 2.

TABELA 2. Efeito de *R. solani* sobre a altura (cm) e pesos fresco e seco de parte aérea (PA) e raiz (R) em cafeeiro na presença de *G. margarita* sob condições de baixo nível de fósforo (médias de 4 repetições).

		Parâmetros									
		Altura (cm)		Peso fresco PA (g)		Peso fresco R (g)		Peso seco PA (g)		Peso seco R (g)	
		<i>R. solani</i>		<i>R. solani</i>		<i>R. solani</i>		<i>R. solani</i>		<i>R. solani</i>	
		N/inoc.	Inoc.	N/inoc.	Inoc.	N/inoc.	Inoc.	N/inoc.	Inoc.	N/inoc.	Inoc.
Micorrizado	Fumigado	13.63 aA	5.51 B	8.05 aA	3.38 aB	4.79 aA	1.52 aB	2.26 aA	0.93 aB	0.85 aA	0.27 aB
	Não fumigado	14.58 aA	6.17 aB	7.42 aA	4.59 aB	4.38 aA	2.15 aB	2.04 aA	1.28 aB	0.78 aA	0.31 aB
Não micorrizado	Fumigado	7.34 bA	3.55 aA	1.55 bA	1.36 bA	0.81 bA	0.75 bA	0.42 bA	0.38 bA	0.16 bA	0.13 bA
	Não fumigado	6.93 bA	5.50 aA	1.68 bA	1.39 bA	0.78 bA	0.67 bA	0.46 bA	0.38 bA	0.13 bA	0.11 bA
CV (%)		7.53		2.80		2.50		0.62		0.43	

Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na linha e minúsculas nas colunas não diferem entre si pelo teste Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Não foi verificada influência da fumigação do substrato na altura das plantas. A altura média das mudas micorrizadas, na ausência de *R. solani* foi superior à das não micorrizadas. O incremento em crescimento de mudas de cafeeiro inoculadas com *G. margarita*, em condições de viveiro, quando se adicionou 0,5 a 1 kg de superfosfato simples, por m³ de substrato, foi também verificado por SOUZA (1987).

Por outro lado, as mudas inoculadas com *R. solani* o patógeno apresentaram menores valores médios de altura em relação às não

inoculadas, o que demonstra o efeito prejudicial do patógeno no seu desenvolvimento, não sendo detectada diferença significativa entre os tratamentos micorrizados e não micorrizados.

A micorrização aumentou a produção de matéria fresca e seca, sendo este efeito mais acentuado na ausência de *R. solani* (Tabela 2). Tanto na ausência como na presença de *R. solani*, este aumento foi em média, da ordem de 100%, sendo bastante expressivo.

O efeito de *R. solani* na redução em produção de matéria fresca e seca foi detectado apenas nas plantas micorrizadas.

A fumigação do substrato não influenciou os resultados obtidos.

Os resultados obtidos para produção de matéria fresca e seca de raízes foram semelhantes aos obtidos para a parte aérea. A micorrização aumentou a produção de raízes, sendo este efeito maior na ausência de *R. solani*.

O efeito do patógeno reduzindo significativamente a produção de matéria fresca e matéria seca de raízes, foi detectado apenas nas plantas micorrizadas.

De forma qual, o menor crescimento das plantas não micorrizadas, pode ter dificultado a detecção do efeito do patógeno. Entretanto, verifica-se também nesta condição, tendência das mudas em apresentarem redução no crescimento de parte aérea e raízes, causada pelo patógeno.

LANA et al. (1989) em experimentos realizados com cafeeiro, testaram a interação entre nematóide e *G. margarita* e constataram

que o fungo micorrízico pode compensar parcialmente os efeitos deletérios do nematóide.

Neste ensaio pode-se observar também, a compensação parcial dos danos causados pelo patógeno, já que na sua presença, as plantas micorrizadas, apresentaram maior peso fresco e seco de raízes e parte aérea que as não micorrizadas.

A inoculação com *G. margarita* aumentou significativamente os teores de P na parte aérea das mudas não inoculadas com *R. solani*, verificando-se tendência semelhante na presença deste patógeno (Tabela 3). Aumentos na absorção de P por mudas de

TABELA 3. Efeito de *R. solani* sobre o teor de P na parte aérea (%) em mudas de cafeeiro na presença de *G. margarita* sob condições de baixo nível de fósforo (médias de 4 repetições).

		<i>R. solani</i>	
		Não inoc.	Inoc.
Micorrizado	Fumigado	0,079 aA	0,059 aB
	Não fumigado	0,089 aA	0,042 aB
Não micorrizado	Fumigado	0,039 bA	0,039 aA
	Não fumigado	0,049 bA	0,049 aA

Médias seguidas pela mesma letra maiúscula nas linhas e minúsculas nas colunas não diferem entre si pelo teste Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

CV (%) = 0.046

cafeeiro, resultantes da inoculação foram também observadas e relatadas por diversos autores (COLOZZI-FILHO & SIQUEIRA, 1986; FERNANDES & SIQUEIRA, 1989). O maior crescimento das mudas micorrízidas (Tabela 2), pode ser atribuído à maior absorção de P, proporcionada por *G. margarita*.

Considerando-se a fumigação do substrato, não foi detectada diferença significativa do teor de P na parte aérea para as mudas micorrizadas e não micorrizadas, na ausência e presença do patógeno.

As mudas micorrizadas, na ausência de *R. solani*, apresentaram teores de P superiores às mudas micorrizadas e inoculadas com o patógeno, evidenciando a influência deste patógeno nos teores de P. É provável que o patógeno ao danificar os vasos condutores de seiva e o sistema radicular da planta, tenha reduzido a absorção e translocação de P.

Por outro lado, segundo GRAHAM & MENGE (1982), de forma geral, altas concentrações de P na planta podem diminuir a exudação radicular, ocasionando a redução de doenças. Porém, esta explicação não é aplicável a todos os sistemas, de interação patógeno-hospedeiro. CARON et al. (1986) mostraram que altas concentrações de P em plantas, não reduziram a incidência de doenças.

Outra possibilidade é que o aumento da área de absorção radicular pelo micélio externo do fungo micorrízico pode ter compensado os efeitos deletéricos do patógeno no sistema radicular, resultando em um maior desenvolvimento da planta.

4.2. Experimento II - Influência de *Gigaspora margarita* sobre o tombamento de mudas de cafeeiro, em substrato adubado com 4 kg de superfosfato simples por m³ de substrato.

A análise de variância mostrou que a presença da *R. solani*, reduziu significativamente o índice de sobrevivência das mudas de cafeeiro. O efeito do patógeno sobre as mudas não foi influenciado pela micorriza, (Tabela 4). O rápido crescimento da *R. solani*, aliado a sua agressividade ao invadir os tecidos da planta, afetando-as independente do seu estado nutricional, foi o fator que ocasionou o alto índice de mortalidade das mudas.

Em relatos controversos, CASSIOLATO & MELO (1991), verificaram que as plantas micorrizadas mostraram-se mais tolerantes ao tombamento em tomateiro, em experimento realizado sob condições de casa de vegetação, avaliando os efeitos da interação entre *R. solani* e os fungos micorrízicos *Acaulospora morrowae* e *Glomus leptotichum*. SCHONBECK (1979), observa que plantas micorrizadas possuem sistema vascular mais vigoroso, o qual aumenta o escoamento de nutrientes proporcionando maior força mecânica às plantas, diminuindo assim os efeitos de danos diretos causados por patógenos vasculares.

TABELA 4. Efeito de *R. solani* sobre as taxas de sobrevivência e de colonização micorrízica em mudas de cafeeiro na presença de *G. margarita* sob condições de elevado nível de fósforo (médias de 4 repetições).

	Parâmetros				
	Sobrevivência de planta (%)		Taxa de colonização (%)		
	<i>R. solani</i>		<i>R. solani</i>		
	Não inoc.	Inoc.	Não inoc.	Inoc.	
Micorrizado	Fumigado	100 aA	24.98 aB	38.40 aA	31.22 aA
	Não fumigado	100 aA	14.99 aB	29.27 aA	30.00 aA
Não micorrizado	Fumigado	100 aA	5.00 aB	0.09 bA	0.00 bA
	Não fumigado	100 aA	11.61 aB	0.07 bA	0.12 bA
CV (%)		9.98		12.55	

Médias seguidas pela mesma letra maiúscula nas linhas e minúsculas nas colunas não diferem entre si pelo teste Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Neste experimento houve uma tendência de aumento na sobrevivência das plantas micorrizadas em solo fumigado, porém esta diferença não foi significativa. O efeito do patógeno provocando a morte das plântulas foi drástico, nas duas condições de solo estudadas, evidenciando também a ausência de possíveis microorganismos antagônicos no solo não fumigado, suficientes para impedir a morte das plantas.

Não foi constatada interação significativa entre a presença do patógeno e o fungo micorrízico, quando se analisou a variável taxa de colonização micorrízica (Tabela 4 e 1A), evidenciando que a colonização micorrízica não foi influenciada pela presença do patógeno. A taxa média de colonização das mudas foi de 32.22%, podendo ser considerada relativamente baixa. Ao analisar a relação entre a taxa de colonização e o efeito no crescimento vegetativo de mudas de cafeeiro, COLOZZI-FILHO & SIQUEIRA (1986), verificaram que os efeitos benéficos só se manifestaram quando a colonização foi superior a 30%.

CARON et al. (1986), em experimentos realizados com tomateiro, estudaram a interação entre *Glomus intraradices* e *Fusarium oxysporum* e constataram que a colonização micorrízica não foi afetada pela presença do *Fusarium*, mas foi reduzida com o aumento da disponibilidade de fósforo. SOUZA (1987) trabalhando com mudas de cafeeiro, inoculadas com *G. margarita*, sob condições de viveiro, com diferentes doses de superfosfato simples, constatou que a colonização micorrízica das raízes apresentou uma elevação nas doses iniciais de superfosfato simples adicionadas, até a dosagem de 1,5 Kg/m³ e decresceu nas doses mais elevadas. Considera-se possível portanto, que o baixo índice de colonização obtido neste experimento possa ser atribuído à elevação no teor de P disponível no substrato, propiciado pela adição de 4 kg de superfosfato simples/m³.

A fumigação do substrato também não influenciou na taxa de colonização micorrízica.

A *Rhizoctonia solani* reduziu significativamente a altura das plantas sobreviventes (Tabela 5), o que pode ser devido aos danos diretos provocados pelo patógeno ao sistema radicular. De acordo com MANSK (1990) a *R. solani* pode causar obstrução dos vasos condutores de seiva na planta, originando a formação de um calo cicatricial e ocasionando a entumescência e interrupção do fluxo livre de seiva na parte afetada, o que pode determinar um atraso no desenvolvimento da muda de cafeeiro. Esses sintomas caracterizaram particularmente a Rhizoctoniose tardia.

Verifica-se que as mudas inoculadas com *R. solani* e não inoculadas com *G. margarita*, em solo fumigado, diferiram significativamente das mudas não micorrizadas e inoculadas com *R. solani*, em solo não fumigado. Este efeito pode ser explicado possivelmente, pela presença de 0,12% de colonização micorrízica nas plantas cultivadas em solo não fumigado, e não inoculadas com *G. margarita* (Tabela 4). Esta colonização pode ter sido suficiente para compensar os efeitos do patógeno, que danifica os tecidos vasculares, já que o micélio externo do fungo micorrízico aumenta a absorção de nutrientes pelas raízes.

Não detectou-se diferença significativa para altura de plantas quando comparou-se mudas não inoculadas com *R. solani*, micorrizadas e não micorrizadas, para as duas condições de substrato testadas (Tabela 5).

Para o peso fresco e seco da parte aérea, e raiz, observou-se o mesmo comportamento da característica altura de plantas. Os resultados obtidos podem ser observados na Tabela 5.

TABELA 5. Efeito de *R. solani* sobre a altura (cm) e pesos fresco e seco de parte aérea (PA) e raiz (R) em mudas de cafeeiro na presença de *G. margarita* sob condições de elevado nível de fósforo (médias de 4 repetições).

		Parâmetros									
		Altura (cm)		Peso fresco PA (g)		Peso fresco R (g)		Peso seco PA (g)		Peso seco R (g)	
		<i>R. solani</i>		<i>R. solani</i>		<i>R. solani</i>		<i>R. solani</i>		<i>R. solani</i>	
		M/inoc. Inoc.		M/inoc. Inoc.		M/inoc. Inoc.		M/inoc. Inoc.		M/inoc. Inoc.	
Micorrizado	Fumigado	6.91 aA	4.38 aB	1.58 aA	0.64 aB	0.69 aA	0.31 aB	0.53 aA	0.32 aB	0.113 aA	0.051 aB
	Não fumigado	6.89 aA	4.78 aB	1.61 aA	0.69 aB	0.67 aA	0.30 aB	0.53 aA	0.33 aB	0.102 aA	0.043 aB
	Fumigado	6.91 aA	2.49 bB	1.45 aA	0.13 bB	0.64 aA	0.16 bB	0.46 aA	0.15 bB	0.099 aA	0.029 bB
Não micorrizado	Não fumigado	6.78 aA	4.52 aB	1.19 aA	0.41 aB	0.56 aA	0.28 aB	0.44 aA	0.32 aA	0.092 aA	0.045 aB
	CY (%)	4.62		1.055		0.615		0.49		0.615	

Médias seguidas pela mesma letra maiúscula nas linhas e minúsculas nas colunas não diferem entre si pelo teste Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Vários estudos mostram aumento na absorção de nutrientes e crescimento de mudas de cafeeiro micorrizados com *G. margarita*, sendo a magnitude das respostas dependentes da disponibilidade de P no substrato (COLOZZI-FILHO & SIQUEIRA, 1986; SOUZA, 1987). Entretanto, neste experimento, não se verificou efeito benéfico de *G. margarita* sobre o crescimento das plantas, o que pode ser provavelmente atribuído à baixa colonização das raízes,

decorrente do excesso de P disponível no substrato. Além disto, o pequeno tamanho dos recipientes utilizados para o cultivo das plantas, aliado a dose de superfosfato simples aplicada ao substrato, podem ter proporcionado às plantas não micorrizadas condições adequadas para absorção desse nutriente, limitando a expressão do efeito de *G. margarita* no aumento da área de absorção das raízes.

Os resultados deste ensaio corroboram com os obtidos por SOUZA (1987), em experimento conduzido sob condições de viveiro, em que mudas de cafeeiro inoculadas com *G. margarita*, foram cultivadas em recipientes contendo 500 g de substrato e não foi obtido efeito benéfico da micorrização, quando foram utilizadas doses de superfosfato simples acima de 1,5 kg/m³ de substrato.

Os teores de P na parte aérea das plantas não foram alterados pela micorrização ou pela presença do patógeno (Tabela 6). Este resultado também pode ser atribuído à baixa taxa de colonização micorrízica e às condições de substrato e tamanho de recipientes utilizados.

FERNANDES & SIQUEIRA (1989) em estudos realizados com cafeeiro, observaram que os teores de P aumentaram linearmente com a colonização.

SOUZA (1987), não detectou diferenças estatísticas nas respostas encontradas para micorrização e os diferentes níveis de superfosfato simples adicionados ao substrato, já COLOZZI-FILHO & SIQUEIRA (1986), encontraram diferenças estatísticas para os

TABELA 6. Efeito de *R. solani* sobre o teor de P na parte aérea (%) em mudas de cafeeiro na presença de *G margarita* sob condições de elevado nível de fósforo (médias de 4 repetições).

		Não inoc.	Inoc.
Micorrizado	Fumigado	0.057 aA	0.055 aA
	Não fumigado	0.050 aA	0.050 aA
Não micorrizado	Fumigado	0.052 a	--*
	Não fumigado	0.052 aA	0.050 aA

* Tratamento perdido - material insuficiente para realizar a análise.

Médias seguidas pela mesma letra maiúscula nas linhas e minúsculas nas colunas não diferem entre si pelo teste Tukey ao nível de 5%.

CV (%) = 9.05.

teores de P na planta, nos diferentes níveis de P adicionados, sendo que, as plantas micorrizadas apresentaram teores mais elevados de P e K nas doses mais baixas de P_2O_5 ; havendo uma inversão dessa situação nas condições de altos níveis de P.

No presente ensaio, como as respostas à micorrização não foram de grande magnitude, os fatores que interferiram na maior absorção de P pelas mudas micorrizadas interferiram conseqüentemente na efetividade do fungo para o bom desenvolvimento das mudas.

5. CONCLUSÕES

1. O fungo micorrizico, não impediu a ação de *Rhizoctonia solani*, sendo que a mortalidade de mudas de cafeeiro não diferiu significativamente para os tratamentos micorrizados e não micorrizados para as duas dosagens de fósforo testadas.
2. Para a dosagem de 4 kg de superfosfato simples/m³ de substrato não foi constatada diferença significativa entre os tratamentos micorrizados e não micorrizados para todas as características de crescimento e nutrição das mudas de cafeeiro avaliadas.
3. Para os tratamentos não micorrizados e inoculados com *Rhizoctonia solani*, em substrato fumigado fertilizado com superfosfato simples de 4 kg/m³ de substrato detectou-se menores valores de altura, peso fresco e seco de raiz e parte aérea, em relação ao substrato não fumigado.

4. Para a dosagem de superfosfato simples de 1 kg/m³ de substrato, foi detectado um maior desenvolvimento das mudas micorrizadas, nas duas condições de substrato estudadas.

5. Para a dosagem de superfosfato simples de 1 kg/m³ de substrato, verificou-se que as mudas micorrizadas superaram as não micorrizadas, mesmo quando inoculadas com *R. solani*.

6. RESUMO

Este trabalho teve como objetivo verificar sob condições de casa-de-vegetação, o efeito da associação micorrizica vesicular arbuscular, formada por *Gigaspora margarita* Becker & Hall em mudas de cafeeiro inoculadas com *Rhizoctonia solani* Kuhn, em substrato fumigado e não fumigado com diferentes doses de superfosfato simples.

Foram realizados dois ensaios com diferentes dosagens de superfosfato simples, sendo o primeiro ensaio com 1 kg/m³ e o segundo com 4 kg/m³.

As plântulas foram conduzidas em germinadores de alvenaria, contendo areia como substrato, até o estágio "palito de fósforo", posteriormente foram uniformizadas e repicadas para os recipientes plásticos, simultaneamente à inoculação do fungo micorrizico. Realizou-se a inoculação de *R. solani*, 60 dias após o transplântio, quando mais de 80% das plantas já apresentavam o primeiro par de folhas.

A avaliação final foi efetuada aos 6 meses após o transplante das mudas, considerando as características: altura, peso fresco e seco de raiz e parte aérea, teores de P na parte aérea, taxa de colonização micorrizica e reação do hospedeiro à *R. solani*.

Pelos resultados obtidos no primeiro ensaio, observou-se que as mudas apesar de colonizadas com uma taxa média de 32,22% não diferiram em nenhuma das características avaliadas, entretanto verificou-se menores valores de altura, peso seco e fresco de raiz e parte aérea para mudas não micorrizadas e inoculadas com *R. solani* em solo fumigado.

A análise de variância mostrou que a *Rhizoctonia solani* reduziu significativamente o índice de sobrevivência das mudas de cafeeiro, nas duas dosagens testadas.

No segundo ensaio verificou-se maior desenvolvimento das mudas micorrizadas, que superaram as não micorrizadas mesmo na presença do patógeno.

7. SUMMARY

The influence of vesicular arbuscular mycorrhizae the fungus *Gigaspora margarita* Becker & Hall on the *Rhizoctoniose* (*Rhizoctonia solani* Kuhn) in coffee seedlings.

This work was carried out in order to observe the results in association vesicular arbuscular mycorrhizae formed by *Gigaspora margarita* Becker & Hall in seedling of coffee inoculate with *Rhizoctonia solani* Kuhn in fumigated substrate and not fumigated substrate with distinct dosages of superfosphate simples.

Two effects tests were made with distinct dosages of superphosphate simples, the first one was made with 1 kg/m³ and another one with 4 kg/m³.

The seedlings of coffee developed in masonry germination with grit by substrate until the probation of "match". Later uniformed and transplanted to plastic recipients concurrent by inoculation mycorrhized fungi was realized the inoculation, of *R. solani* 60 days after the transplantig when more than 80% of plants haw already showed the first couple of leaves.

The avaluation was realized six months after the transplanting of the seedling. Height, freschweigh, dry weigh, of roots and air part, percentage of root colonization and reaction of host by *R. solani* was considered.

By the results observaded in the first effect test, the seedling. Althoug of the colonized by a meduim rate 32,22% didnot show statistic different in no one caracteristics studied however lowers heights, dry weight on fresch of root and air plant of the plants no mycorrhized and inoculed with *R. solani* in fumigated substrate.

The analyses showed the *Rhizoctonia solani* reduced meaningfully the index of survival of the seedling of coffee in all the testes.

By resultes observated in the second effect test showed bigger development of the seedling mycorrhized that overcome the not mycorrhized in presence of patogen.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ABBOTT, L.K. & ROBSON, A.A. Selection of efficient V.A. mycorrhizal fungi. In: NORTH AMERICAN CONFERENCE ON MYCORRHIZAE, 6, Bend, 1984. Proceedings... Corvallis, Forest Research Laboratory, 1985. p.88-90.
2. ALLEN, M.F. & BOOSALIS, G.M. Effects of two species of VA mycorrhizal fungi on drought tolerance of winter wheat. *The New Phytologist*, London, 93(1):67-76, Jan. 1983.
3. ABRAHÃO, J. Moléstias do cafeeiro. In: INSTITUTO BRASILEIRO DE POTASSA. *Cultura e adubação do cafeeiro*. São Paulo, 1963. p.135-41.
4. BAATH, E. & HAYMAN, D.S. Plant growth responses to vesicular-arbuscular mycorrhiza XVI. Interations with *Verticillium* with on tomato plants. *The New Phytologist*, London, 95:419-26, 1983.

5. BAGYARAJ, J. Biological interations with VA micorrhizal fungi. In: POWELL, C.L.C. & BAGYARAJ, D.J.; ed. VA mycorrhiza. Boca Raton; CRC Press, 1984. Cap.7, p.131-53.
6. BALTRUSCHAT, H. & SCHONBECK, F. The influence of endotrophic mycorrhiza on the infestation of tabacco by *Thielaviopsis basicola*. *Phytopathology Zeitschrift*, Berlin, 84:172-88, 1975.
7. BAREA, J.M.; AZCON-AGUILAR, C.; ROLDAN-FAYNARDO, B. Avances recientes en el estudio de la micorrizas VA; Formation, funcionamiento y efectos en nutricion vegetal. *Anales de Edafologia y Agrobiologia*, Madri, 18:659-77, 1984.
8. BOENER, R.E.J. Role of mycorrhizal fungus origin in growth and nutrient uptake by *Geranium robertianm*. *American Journal of Botanic*, Columbus, 77(4):483-89, Apr. 1990.
9. BORDIN, C.A. Estudo do efeito de fungicidas no controle de Rhizoctoniose em mudas de cafeeiro. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISA CAFEIEIRA, 15, Maringá, 1989. *Anais...* Maringá, IBC, 1989. p.100-101.

10. CALDEIRA, S.F.; CHAVES, G.M. & ZAMBOLIM, L. Associação de micorriza vesicular-arbuscular em café, limão rosa e capim-gordura. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, 18(3):223-28, mar. 1983.
11. CARDOSO, E.J.B.N. Ocorrência de micorriza em café. *Summa Phthopathologica*, Piracicaba, 4(2/4):136-7, abr./dez. 1978.
12. CARON, M.; FORTIN, J.A.; RICHARD, C. Effect of phosphorus concentration and *Glomus intraradices* on *Fusarium crowa* and root rot of tomatoes. *Phytopathology*, Lancaster, 76:942-6, Setp. 1986.
13. _____; _____; _____. Influence of substrate on the interation of *Glomus intraradices* and *Fusarium oxysporum* f sp *radicis lycopersici* on tomatoes. *Plant and Soil*, The Hague, 87:233-9, 1985.
14. CARVALHO, Y. Doenças do cafeeiro. In: MIC/IBC/GERCA. *Curso de capacitação de técnicos para campanha de erradicação da ferrugem do cafeeiro*. Viçosa, UFV-CEE, 1970. v.2, p.5-16.
15. CASSIOLATO, A.M.R. & MELO, J.S. de. Interaction Between *Rhizoctonia solani* and vesicular arbuscular micorrryzal fungi in tomato. *Summa Phytopathologica*, Piracicaba, 17:195-201, jul./dez. 1991.

16. COLLOZZI-FILHO, A. & SIQUEIRA, J.O. Efeitos da *Gigaspora margarita* e adubação fosfatada no crescimento e nutrição. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, Campinas, 10(3):199-205, set./dez. 1986.
17. _____; SOUZA, P. de; OLIVEIRA, E. & CARVALHO, M.M. Desenvolvimento de mudas de cafeeiro Catuaí micorrizadas. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, 10(2):335, jun. 1985.
18. COOPER, K.M. Physiology of mycorrhizal associations. In: POWELL, C.L. & BAGYARAJ, D.J., eds. *VA mycorrhizal*. Boca Raton, CRC Press, 1984. p.155-86.
19. DAVIS, R.M.; MENGE, J.A. & ERWIN, D.C. Influence of *Glomus fasciculatum* and soil phosphorus on *Verticillium* with cotton. *Phytopathology*, Lancaster, 69:453-6, Nov. 1979.
20. DEHNE, H.W. Interaction between vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi and plant pathogens. *Phytopathology*, Lancaster, 72(8):115-9, 1982.
21. FELDMANN, F.; JUNQUEIRA, N.T.V. & LIEBEREI, R. Utilization of VA - micorrhiza as a factor in integrate plant protection. *Agriculture Ecosystems Environ*, Amsterdam, 29:131-35, 1989.

22. FERNANDES, A.B. & SIQUEIRA, J.O. Micorrizas vesicular-arbuscular em cafeeiros da Região Sul do Estado de Minas Gerais. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, 24(12):1489-98, dez. 1989.
23. GALLI, F. & CARVALHO, P.C.T. de. Doenças do cafeeiro - *Coffea arabica* L. In: GALLI, F. *Manual de fitopatologia*. 2.ed. São Paulo, Agronômica Ceres, 1980. v.2., cap.11, p.128-40.
24. GARCIA-GARRIDO, J.M. & OCAMPO, J.A. Effect of VA mycorrhizal infection of tomato on damage caused by *Pseudomonas syringae*. *Soil Biology and Biochemistry*, Oxford, 21(1): 165-7, 1989.
25. GERDEDEMANN, J.W. & NICOLSON, T.H. Spores of mycorrhizal *Endogone species* extracted from soil by wet sieving and decanting. *Transactions of British Mycological Society*, London, 46:235-44, 1963.
26. GIOVANNETTI, M. Le micorrize come agenti di lotta biologica control i patogeni delle piante agrarie. *Informe Fitopatológico*, Bologna, 10:17-20, 1990.

27. GIOVANNETTI, M & MOSSE, B. An evaluation of techniques for measuring vesicular-arbuscular mycorrhizal infection in roots. *The New Phytologist*, London, 84:489-500, 1980.
28. GRAHAM, J.H. Phyphthora foot rot development on mycorrhizal and phosphorus - fertilized, nonmycorrhizal sweet orange seedlings. *Plant Disease*, St. Paul, 72:611-4, 1988.
29. _____ & MENGE, J.A. Influence of vesicular-arbuscular mycorrhizae and soil phosphorus on take-all disease of wheat. *Phytopatology*, Lancaster, 72:95-82, 1982.
30. HEIRICH, W.O. & ABRAHÃO, J. *Pragas e doenças do cafeeiro*. 2.ed. São Paulo, Instituto Biológico, 1966. 44p.
31. HUNTER, A.H. *Laboratory analyses of vegetal tissues samples*. Raleigh, NCSU - International Soil Fertility Evaluation and Improvement Program, 1975. 5p.
32. INSTITUTO BRASILEIRO DO CAFÉ. *Cultura do café no Brasil; Manual de recomendações*. Rio de Janeiro, 1986. 215p.

33. KOBAYASKI, N. Biological control of soilborne diseases with VAM fungi and charcoal compost. In: KOMADA, H.; KIRITANI, K. & BAYPETERS, J., ed. The biological control of plant diseases. TSUKUDA, 1990. p.17-21. In: REVIEW OF PLANT PATHOLOGY, Wallingford, 71(12):910, 1992. (Abst. 7499).
34. KOIDE, R.T. Nutrient supply, nutrient demand and plant response to mycorrhizal infection. *New Phytology*, Oxford, 117(3):365-86, Mar. 1991.
35. KRISHNA, K.R. & BAGYARAS, O.S. Interaction between *Glomus fasciculatum* and *Sclerotium rolfsii* in peanut. *Canadian Journal of Botany*, Ottawa, 61:2349-51, 1983.
36. KUNDU, P.K. & NANDI, B. Control of *Rhizoctonia* disease of cauliflower by competitive inhibition of the pathogen using organic amendments in soil. *Plant and Soil*, The Hague, 83:357-62, 1985.
37. JASPER, D.A.; ROBSON, A.D.; ABBOTT, L.K. Phosphorus and the formation of vesicular-arbuscular mycorrhizas. *Soil Biology and Biochemistry*, Oxford, 11:501-5, 1979.

38. LANA, M.M.; ZAMBOLIM, L.; VALE, F.X.R. do & SANTOS, S.M. Biocontrole de *Meloidogyne exigua* em *Coffea arabica* com fungos micorrizicos. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, 14(2):132, jul. 1989.
39. LOPES, E.S.; OLIVEIRA, E.; DIAS, R. & SCHENCK, N.C. Ocurrence and distribution of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi in coffe (*Coffea arabica* L.) plantations in central São Paulo state, Brasil. *Turrialba*, San José, 33(4):417-22, Oct./Dec. 1983.
40. LOUIS, J. & LIM, G. Differential response in growth and mycorrhizal colonization of soybean to inoculation with two isolates of *Glomus clarum* in soils of different P availability. *Plant and Soil*, The Hague; 112:37-47, 1988.
41. MANSK, Z. Doenças do cafeeiro. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEEIRAS, 16, Espírito Santo do Pinhal, 1990. *Anais...* Espírito Santo do Pinhal, IBC, 1990. p.61-62.
42. MARCHNER, H. Mechanisms of adaptation of plants to acid soils. In: WRIGHT, R.S. et alii, eds. *Plant-soil interaction at low pH*. Netherlands, Kluwer Academic, 1991. p.683-702.

43. MELO, J.S.; COSTA, C.P.; SILVEIRA, A.P.D. Influência de micorrizas vesículo-arbusculares sobre a murcha da berinjela causada por *Verticillium albo-atrum* Reink & Berth. *Summa Phytopathologica*, Piracicaba, 11:173-9, jul./dez. 1985.
44. MORTON, J.B. & BENNY, G.L. Revised classification of arbuscular mycorrhizal fungi (Zygomycetes): A new order, Glomales, two new suborders, Glomineae and Gigasporineae, with one emendation of Glomaceae. *Mycotaxon*, London, 37:471-491, Apr./June 1990.
45. MOSSE, B. Advances in the study of vesicular-arbuscular mycorrhizae. *Annual Reviews of Phytopathology*, Palo Alto, 11:171-96, 1973.
46. NELSEN, C.E. The water relations of vesicular-arbuscular mycorrhizal systems. In: SAFIR, G.R, ed. *Ecophysiology of VA mycorrhizal plants*. Boca Raton, CRC Press, 1987. p.71-91.
47. PARMETER-JUNIOR, S.R. & WHITNEY, H.S. Taxonomy and nomenclature of the imperfect state. In:____. *Rhizoctonia solani*; biology and pathology. Berkeley, University of California, 1970. p.7-19.

48. PAULA, M.A.; SIQUEIRA, S.O.; OLIVEIRA, L.H. & OLIVEIRA, E. Efetividade simbiótica relativa em soja de populações de fungos endomicorrizicos nativos e de isolados de *Glomus macrocarpum* e *Gigaspora margarita*. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, Campinas, 12(1):25-31, jan./abr. 1988.
49. PHILLIPS, J.M. & HAYMAN, D.J. Improved produces for clearing roots and starning parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assesment of infection. *Transactions of British Mycological Society*, London, 55(1):158-61, Aug. 1970.
50. RÉGO, J.C. Influência de fungos micorrizicos vesícula-arbuscular na murcha bacteriana (*Pseudomonas solanacearum* SMITH, SMITH) e na absorção de nutrientes em tomateiro. ESALQ, Piracicaba, 1992. 93p. (Tese MS).
51. ROSS, J.P. Influence of endogane mycorrhiza on *Phytophthora* rot of soybean. *Phytopathology*, Lancaster, 62:896-7, 1972.
52. SAGGIN Jr., O.J.; SIQUEIRA, J.O.; COLOZZI-FILHO, A. & OLIVEIRA, S. A infestação do solo com fungos micorrizicos no crescimento pós transplante de mudas de cafeeiro não micorrizadas. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, Campinas, 16(1)39-46, jan./abr. 1992.

53. SANDERS, F.E. & TINKER, P.B.H. Phosphate flow into mycorrhizal roots. *Pesticidy Science*, Oxford, 4:385-95, 1973.
54. SCHENCK, N.C. & KELLAM, M.K. The influence of vesicular arbuscular mycorrhizae on disease development. Flórida, Institute of Food and Agricultural Sciences. 1978. 16p. (Thecnical Bulletin, 798).
55. SCHÖNBECK, F. Endomycorrhizica in relation to plant diseases. In: SCHIPPERS, B. & GAMS, W., ed. Soil borne plant pathogens. New York, Academic Press, 1979. p.271-80.
56. SIQUEIRA, J.O. Micorrizas: forma e função. In: REUNIÃO BRASILEIRA SOBRE MICORRIZAS, 1, Lavras, 1985. *Anais...* Lavras, ESAL/FAEPE, 1986. p.5-30.
57. SIQUEIRA, J.O. & COLOZZI-FILHO, A. Micorrizas vesículos-arbusculares em mudas de cafeeiro. II. Efeito do fósforo no estabelecimento e funcionamento da simbiose. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, Campinas. 10(3):207-11, set/dez. 1986.

58. SIQUEIRA, J.O.; COLOZZI-FILHO, A.; OLIVEIRA, E.; FERNANDEZ, A.B. & FLORENCE, M.L. Micorrizas vesicular-arbusculares em mudas de cafeeiro produzidas no sul do estado de Minas Gerais. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, 22(1): 31-8, jan. 1987.
59. _____ & FRANCO, A.A. *Biotecnologia do solo; fundamentos e perspectivas*. Brasília, MEC/ABEAS; Lavras, ESAL/FAEPE, 1988. 236p.
60. SIQUEIRA, J.O.; HUBBELL, D.H. & VALLE, R.R. Effects of phosphorus on formation of the vesicular-arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, 19(12):1465-74, dez 1984.
61. _____; SAFIR, G.R. & NAIR, M.G. VA-mycorrhizae and mycorrhiza stimulating isoflavonoide compound reduce plant herbice injury. *Plant and Soil*, The Hague, 134(2):233-42, July 1991.
62. SOUZA, C.A.S. Desenvolvimento de mudas de cafeeiro (*Coffea arabica* L.) inoculadas com *Gigaspora margarita* (Becker & Hall) em substrato com e sem matéria orgânica e diferentes doses de superfosfato simples. Lavras, ESAL, 1987. 237p. (Tese MS).

63. SOUZA, C.A.S.; OLIVEIRA, E. & CARVALHO, M.M. Desenvolvimento de mudas de cafeeiro (*Coffea arabica* L. cv. 'Catuaí') micorrizadas nas condições de viveiro comercial, em superfosfato com e sem matéria orgânica e diferentes doses de super-fosfato simples. *Ciência e Prática*, Lavras, 13(3): 269-78, set./dez. 1989.
64. STEPHENS, C.T.; POWELL, C.C.; SCHMITTHENNER, A.E. A method of evaluating post-emergence damping off pathogens of breeding plants. *Phytopathology*, St. Paul, 71:1125-8, 1981.
65. TAKA, A.H.Y.; ABDEL-KADER, K.M. The reciprocal effects of prior invasion by root-knot nematode on by endomycorrhiza on certain morphological and chemical of Egyptian clover plant. *Annals of Agricultural Science*, Cairo 1990. p.521-32. In: REVIEW OF PLANT PATHOLOGY, Wallingford, 70(7):494, 1991. (Abst. 3822)
66. TINKER, P.B. Soil chemistry of phosphorus and mycorrhizas effects on plant growth. In: SANDERS, E.E.; MOSSE, B. & TINKER, P.B., eds. *Endomycorrhizas*. London, Academic Press, 1975. p.353-72.

67. ZAMBOLIM, L. Como as plantas micorrizadas comportam-se em relação aos fitopatogenos. In: REUNIÃO BRASILEIRO SOBRE MICORRIZAS, 1, Lavras, 1985. Anais... Lavras, FAEPE, 1986. p.76-99.
68. _____ & LANA, M.M. Interação entre *G. margarita* e *Meloidogyne exigua* em cafeeiro. Revista Ceres, Viçosa, 34(195):474-87, set./out. 1987.
69. ZAMBOLIM, L.; NEVES, J.C.L.; COSTA, H. & MACABEU, A.S. Efeito de doses de fósforo no crescimento de mudas de café na presença e ausência de fungos micorrizas. In: REUNIÃO BRASILEIRA SOBRE MICORRIZAS, 1, Lavras, 1986. Anais... Lavras, FAEPE, 1986. p.200.
70. _____ & SCHENCK, N.C. Effect of *Macrophomina*, *Rhizoctonia*, *Fusarium* the micorrhizal fungus *Glomus mosseae* on nodulated and non nodulated soybeans. Fitopatologia Brasileira, Brasília, 9:129-32, fev. 1984.
71. _____ & SIQUEIRA, J.O. Importância e potencial das associações micorrizicas para a agricultura. Belo Horizonte, EPAMIG, 1985. 36p. (EPAMIG. Documentos 26).

APENDICE

TABELA 1A. Resumo da análise de variância dos dados correspondentes à percentagem de sobrevivência, taxa de colonização micorrizica, altura, peso fresco e seco de parte aérea e raiz de mudas de cafeeiro micorrizadas e não micorrizadas fertilizadas com 4 kg/m³ de superfosfato simples.

CAUSAS DA VARIAÇÃO	GL	QM e significância						
		% sobrev.	Tx. col	ALT	PFFA	PSPA	PFR	PSR
Solo	1	0.0305501	0.0019851	0.0614228	0.0008351	0.0003189	0.0000016	0.0000002
MIC	1	0.3405600	15.7906260**	0.0071008	0.0045736	0.0003737	0.0005262	0.0000018
RHIZ	1	23.1689783**	0.3032826	0.3264193**	0.0554154**	0.006144**	0.0106144**	0.0002876**
Sol x MIC	1	0.1880598	0.0019851	0.0569159	0.00003454	0.0003446	0.0000374	0.0000018
Sol x RHIZ	1	0.0305501	0.0096236	0.0689143*	0.0033037*	0.000457	0.0001887	0.0000036
MIC x RHIZ	1	0.3405600	0.3032826	0.0056750	0.0000008	0.000048	0.000027	0.0000000
SOL x MIC x RHIZ	1	0.1880598	0.0096232	0.0605484	0.0030702*	0.0004523	0.0001561	0.0000030
Bloco	3	0.524969	0.4638290	0.0569720	0.0032837	0.0001072	0.0024174	0.0000696
Residuo	21	0.1477620	0.1424023	0.0158528	0.0006398	0.0001314	0.0029174	0.0000057
CV(%)		9.98	12.55	4.62	1.05	0.49	0.61	0.10

* Significativo ao nível de 1% de probabilidade.

** Significativo ao nível de 5% de probabilidade.

TABELA 2A. Resumo da análise de variância dos dados correspondentes à percentagem de sobrevivência, taxa de colonização micorrízica, altura, peso fresco e seco de raiz, parte aérea, de mudas de cafeeiro micorrizadas e não micorrizadas, na presença e ausência de *Rhizoctonia solani* em substrato esterilizado e não esterilizado, fertilizado com 1 kg/m³ de superfosfato simples.

CAUSAS DA VARIAÇÃO	GL	QM e significância						
		% sobrev.	Tx. col	ALT	PFPA	PSPA	PFR	PSR
Solo	1	0.4379780	0.0479104	0.0597320	0.0005576	0.0002350	0.0000119	0.0000748
MIC	1	0.0205629	14.9907002**	0.2975500**	0.6708264**	0.0947154**	0.2491318**	0.0161650**
RHIZ	1	19.0121821**	1.3581508	0.9561241**	0.1845457**	0.0193944**	0.1353888**	0.0036790
Solo x MIC	1	0.0529142	0.0479104	0.0053430	0.0016369	0.0000589	0.0017582	0.0001925
Solo x RHIZ	1	0.4379780	0.0797170	0.049303	0.0002013	0.0012909	0.0000656	0.0004900
MIC x RHIZ	1	0.0205629	1.3581508	0.1751056	0.1411026	0.0143340**	0.0817855**	0.0029205**
SOLO x MIC x RHIZ	1	0.0329142	0.0797170	0.0002465	0.0009139	0.001548**	0.0033155	0.0004163
Bloco	3	0.5288362	0.0782517	0.0750916	0.0129471	0.0003409	0.0032603	0.0001771
Resíduo	21	0.2987443	0.1898853	0.0457560	0.0052568	0.0002224	0.003895	0.0001013
CV(%)		13.90	14.58	7.53	2.80	0.62	2.50	0.43

* Significativo ao nível de 1% de probabilidade.

** Significativo ao nível de 5% de probabilidade.