

COLONIZAÇÃO MICORRÍZICA E CRESCIMENTO DA SOJA COM DIFERENTES FUNGOS E APLICAÇÃO DO ISOFLAVONÓIDE FORMONONETINA¹

JOSÉ PEREIRA DA SILVA JÚNIOR² e JOSÉ OSWALDO SIQUEIRA³

RESUMO - Estudaram-se os efeitos da aplicação do isoflavonóide formononetina (7-hidroxi, 4'-metoxi isoflavona) sintética ao solo na colonização micorrízica, crescimento e teores de nutrientes da soja (*Glycine max* L. Merrill) submetida à inoculação de diferentes espécies de fungos micorrízicos arbusculares (FMAs). O estudo foi conduzido em casa de vegetação, em vasos com 1,6 kg de Latossolo Vermelho--Amarelo, fumigado, contendo 2 mg/kg de P (Mehlich I). As plantas receberam inoculação dos FMAs (*Acaulospora morrowiae* Spain & Schenck, *Gigaspora margarita* Becker & Hall, *Glomus clarum* Nicol. & Schenck, *Glomus etunicatum* Becker & Gerdemann e *Scutellospora heterogama* Nicol. & Gerdemann Walker & Sanders) e aplicação ou não ao solo, por ocasião da sementeira, de solução de formononetina contendo 5 µg/mL. Todos os fungos foram estimulados pela aplicação de formononetina, porém esse efeito foi diferenciado quanto a época e parâmetro considerado. O crescimento, a nodulação e os teores de nutrientes da soja foram favorecidos pela inoculação dos FMAs, mas não pela aplicação de formononetina. *G. etunicatum* foi a espécie mais eficiente para a soja, independentemente da presença de formononetina.

Termos para indexação: micorrizas arbusculares, metabólitos vegetais, flavonóides, bioestimulantes, *Glycine max*, simbioses radiculares.

MYCORRHIZAL COLONIZATION AND GROWTH OF SOYBEAN INFLUENCED BY DIFFERENT FUNGAL SPECIES AND APPLICATION OF THE ISOFLAVONOID FORMONONETIN

ABSTRACT - The effects of soil-applied synthetic formononetin (7-hydroxy 4'-methoxy-isoflavone) on arbuscular mycorrhizal colonization, plant growth and nutrient content of soybean (*Glycine max* L. Merrill) inoculated or not with different mycorrhizal fungi were studied. The experiment was conducted in plastic pots containing 1.6 kg of a Dusk-Yellow Latossol (Oxisol) with 2 mg/kg of P. Plants were submitted to inoculation with *Acaulospora morrowiae* Spain & Schenck, *Gigaspora margarita* Becker & Hall, *Glomus clarum* Nicol. & Schenck, *Glomus etunicatum* Becker & Gerdemann and *Scutellospora heterogama* Nicol. & Gerdemann Walker & Sanders) in the presence and absence of formononetin (5µg/mL) applied as solution form at the sowing time. Formononetin enhanced mycorrhizal formation by all fungal species. However, such effects were influenced by the growth period and parameter of colonization. Plant growth, nodulation and leaf nutrient content were stimulated by inoculation, but not by application of formononetin. *G. etunicatum* was the most effective species for soybean, independent of formononetin application.

Index terms: arbuscular mycorrhizae, plant metabolites, flavonoids, biostimulant, *Glycine max*, root symbiosis.

¹ Aceito para publicação em 29 de julho de 1997.

Extraído da dissertação de Mestrado do primeiro autor. Trabalho financiado pelo CNPq.

² Eng. Agr., M.Sc., Embrapa-Centro de Pesquisa Agroflorestal da Amazônia Ocidental (CPAA), Rodovia AM-010, Km 22, Estrada Manaus/Itacoatiana, CEP 69011-910 Manaus, AM. E-mail: siqueira@ufla.br

³ Eng. Agr., Ph.D., Prof. Titular, Dep. Ciência do Solo, Universidade Federal de Lavras (UFLA), Caixa Postal 37, CEP 37200-000 Lavras, MG. Bolsista do CNPq. E-mail: silvajunior@cr-am.rnp.br

INTRODUÇÃO

Os flavonóides são compostos fenólicos que representam importante classe de metabólitos secundários das plantas, estando envolvidos no estabelecimento e funcionamento de relações patogênicas e mutualistas, onde atuam no mecanismo de defesa contra invasores ou como sinais moleculares (Lynn & Chang, 1990; Siqueira et al., 1991a; Hungria, 1994).

As micorrizas arbusculares (MAs) são simbioses radiculares com fungos da ordem Glomales (Zigomicetos), por meio de uma seqüência de eventos regulados pelo genoma do fungo e da planta e modulados por fatores ambientais (Siqueira, 1994). Embora não seja observada especificidade nas MAs, verificam-se diferenças interespecíficas dos fungos quanto à efetividade da associação da planta hospedeira (Powell & Bagyaraj, 1984).

Diversos estudos demonstram a atividade de diversos flavonóides sobre a germinação e crescimento assimbiótico de fungos MAs (Gianinazzi-Pearson et al., 1989; Tsai & Phillips, 1991; Chabot et al., 1992; Morandi et al., 1992; Baptista & Siqueira, 1994). Entre os compostos estudados, destaca-se o isoflavonóide, formononetina, identificado como fator estimulante desses fungos em exsudados radiculares de plantas de trevo branco, deficientes em fósforo (Nair et al., 1991), cuja aplicação da substância sintética estimula a colonização micorrízica (Siqueira et al., 1991b), e patenteado como bioestimulante de solo (United States Patent Office, 1991). Entretanto, mesmo já com resultados positivos, no Brasil (Siqueira et al., 1992), pouco se conhece sobre o efeito dessa substância na colonização micorrízica por diferentes espécies de fungos MAs, objeto do presente estudo.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em vaso de plástico contendo 1,6 kg de material de Latossolo Vermelho-Amarelo, que após a calagem e incubação apresentou as seguintes características: pH em água (1:2,5) = 6,1; Ca = 3,3 mol/kg; Mg = 1,0 mol/kg; Al = 0,1 mol/kg, extraídos com KCl 1N e determinado por titulometria; P = 2 mg/kg; K = 62 mg/kg, extraídos com Mehlich I e determinados por colorimetria e fotometria de chama, respectivamente. O solo foi fumigado com Bromex (brometo de metila 98% e cloropicrina 2%) em caixa de alvenaria vedada, totalizando 393 cm³ de Bromex por m³ de solo.

O estudo constou da inoculação de cinco espécies de fungo na soja: *Acaulospora morrowiae* Spain & Schenck, *Gigaspora margarita* Becker & Hall, *Glomus clarum* Nicolson & Schenck, *Glomus etunicatum* Becker & Gerd., *Scutellospora heterogama* Nicolson & Gerd. Walker & Sanders; e duas testemunhas sem inoculação (não-inoculada-NI, e não-inoculada com dose suplementar de P-NI+P), combinadas à presença e ausência de formononetina sintética (5 µg/mL).

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, num esquema fatorial 7x2, com 8 repetições. Na testemunha sem inoculação com adição de P (NI+P) aplicaram-se 120 mg/kg de P₂O₅ na forma de superfosfato simples, o que correspondeu a 34 mg/kg de P extraível pelo Mehlich I no solo. Nos outros tratamentos foram aplicados apenas 60 mg/kg de P₂O₅, nessa mesma forma, correspondendo a 8 mg/kg de P extraível (Mehlich I) no solo. O experimento foi avaliado em duas épocas, analisadas separadamente e não consideradas como fatores experimentais.

Os fungos empregados foram obtidos de vasos de cultivo com *Brachiaria decumbens* Stapf. Para a inoculação, preparou-se uma suspensão de esporos, obtidos pela extração por peneiramento via úmida (Gerdemann & Nicolson, 1963) dos esporos de vasos de cultivo. Após a padronização da densidade de esporos aplicaram-se 150 esporos por vaso, colocando-os logo abaixo de sementes pré-germinadas, no ato da semeadura. Visando equilibrar a microbiota nos vários tratamentos adicionaram-se a todos eles 10 mL/vaso de filtrado, obtido da suspensão de 50 cm³ de substrato dos vasos de cultivo, em 15 litros de água, e tamisação em peneiras com malhas de 0,053 mm e filtragem em papel de filtro, para completa eliminação dos propágulos e fungos MAs.

A preparação e aplicação da solução de formononetina foram realizadas de acordo com Siqueira et al. (1991b). O volume da solução aplicada foi de 150 mL/vaso, fornecendo 468 µg/kg de solo de formononetina. Foi realizada a inoculação nas sementes pré-germinadas do inóculo de *Bradyrhizobium japonicum* fornecido pela Embrapa-CNPAB, Seropédica, RJ, deixando-se apenas uma planta por vaso. O experimento foi conduzido por 50 dias, mantendo-se a umidade do solo em 65% do volume total de poros (VTP). Aos 30 e 50 dias foram realizadas avaliações dos parâmetros de crescimento, número de nódulos e da micorrização, sendo a última avaliada pela percentagem de colonização; comprimento de raiz colonizada, densidade de arbúsculos, vesículas e pontos de entradas primários e secundários, conforme definidos em Wilson (1984). Para a avaliação dos parâmetros de colonização, as raízes foram clarificadas e coloridas de acordo com Kormanik McGraw (1982).

A percentagem de colonização foi estimada pelo método de placa quadriculada (Giovannetti & Mosse, 1980). Para a estimativa do comprimento de raiz colonizada, do número de arbúsculos, vesículas e pontos de entradas primários e secundários, montou-se uma lâmina por amostra, com 30 segmentos de raiz de 1 cm de comprimento, retirados ao acaso na amostra. As lâminas foram avaliadas em microscópio de luz, com aumento de 100x a 200x das estruturas fúngicas nas raízes. Os resultados médios da contagem por segmento foram expressos em número/cm de raiz.

A parte aérea das plantas foi seca em estufa de circulação forçada até peso constante, depois pesada e moída para análise dos teores de nutrientes. Os dados foram submetidos à análise de variância e testes de médias (Tukey 5%) pelo programa estatístico SANEST, conforme modelo de delineamento experimental adotado. A fim de se obter homocedasticidade, os dados de comprimento de raiz colonizada e de densidades de arbúsculos, vesículas, pontos de entradas primários, secundários e número de nódulos foram transformada em $\sqrt{(X + 0,5)}$; a percentagem de colonização transformada em $\arcsin \sqrt{(X / 100)}$; e o peso de matéria seca de raiz da soja, em $\log (X + 0,5)$.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A aplicação de formononetina exerceu efeitos significativos ($P \leq 0,05$) sobre todos os parâmetros da colonização avaliados aos 30 dias, exceto nos pontos de entrada (Fig.1). Os parâmetros de colonização diferiram entre os fungos e também nos efeitos da formononetina. Plantas com *G. clarum* e *G. etunicatum* apresentaram colonização mais elevada que as demais espécies, sendo aquelas com *G. clarum* apenas superior às demais quando na presença de formononetina. A formononetina também aumentou a percentagem de colonização nas plantas com *A. morrowiae* e *S. heterogama*. O comprimento de raiz colonizada também diferiu entre as espécies fúngicas, sendo superior nas plantas com *A. morrowiae*, *G. clarum* em 47 e 28%, respectivamente, devido à aplicação de formononetina. A densidade de arbúsculos variou marcadamente entre as espécies, observando-se efeito da aplicação de formononetina nas plantas com *A. morrowiae*, *S. heterogama* e *G. etunicatum*. Nas plantas com *G. etunicatum* esse parâmetro atingiu os maiores valores e máxima resposta à aplicação de formononetina (60% sobre o controle sem formononetina). Os pontos de entradas primários variaram pouco entre as espécies, apresentando-se maiores nas plantas com *G. clarum* e *G. etunicatum*. Vesículas foram encontradas apenas nessas duas espécies, embora menos que uma por cm de raiz, mas aumentada em 100% no *G. clarum* pela aplicação de formononetina.

Na segunda época de avaliação, observou-se elevação nos valores da maioria dos parâmetros avaliados e efeitos significativos da formononetina (Fig. 1). Apesar das diferenças significativas entre fungos e formononetina, todos os valores de colonização e comprimento de raiz colonizada foram muito altos. A densidade de arbúsculos e pontos de entradas foram superiores em todos os tratamentos fúngicos com formononetina. Os parâmetros de colonização não foram alterados pela formononetina nas plantas com *G. margarita*. Entretanto, a aplicação de formononetina estimulou a densidade de arbúsculos e pontos de entradas, indicando resposta positiva desse fungo em termos funcionais, considerando que os arbúsculos constituem o órgão de troca e regulação da simbiose.

Aumento na densidade de pontos de entradas indica que as plantas com formononetina deverão manter altos níveis de colonização e atividade simbiótica, mesmo quando o sistema radicular atingir crescimento máximo, ao contrário daquelas sem formononetina, cujo potencial de recolonização, via infecção secundária, será menor (Wilson, 1984). As vesículas, estruturas mais tardias do processo de colonização e que só ocorrem no gênero *Glomus*, variaram de 1,33 a 5,03 e não diferiram entre as duas espécies fúngicas. O estímulo da formononetina nesse parâmetro foi de 278% e 109% no *G. clarum* e *G. etunicatum*, respectivamente.

Embora tenha se verificado variações no efeito da formononetina nas espécies estudadas, as respostas diferenciadas são resultantes da velocidade e do nível final de colonização alcançado por diferentes fungos (Miranda, 1982; Pereira, 1986; Paula et al., 1988). O efeito generalizado da formononetina na colonização micorrízica da soja indica ausência de especificidade na atividade desse composto sobre esses fungos. Tal comportamento da formononetina sobre os fungos MAs difere, portanto, da ação dos flavonóides sobre o rizóbio, onde existe elevada especificidade (Siqueira et al., 1991a; Hungria, 1994).

Tanto a inoculação quanto a adição de P estimulou o crescimento e nodulação da soja (Fig. 2). Entretanto, nenhuma dessas variáveis foi influenciada significativamente ($P \leq 0,05$) pela aplicação de formononetina, apesar de esta ter estimulado a micorrização e do fato de as espécies com maior colonização serem as de maior eficiência em promover o crescimento da soja. A espécie *G. etunicatum* destacou-se como o fungo mais eficiente no crescimento da soja, com aumento da produção de matéria seca de 163% em relação à testemunha NI, seguido pelo *G. clarum*, que aumentou a produção de matéria seca em 117%. Apenas *S. heterogama* não diferiu do controle NI e nenhuma das espécies foi superior ao tratamento com adição de P.

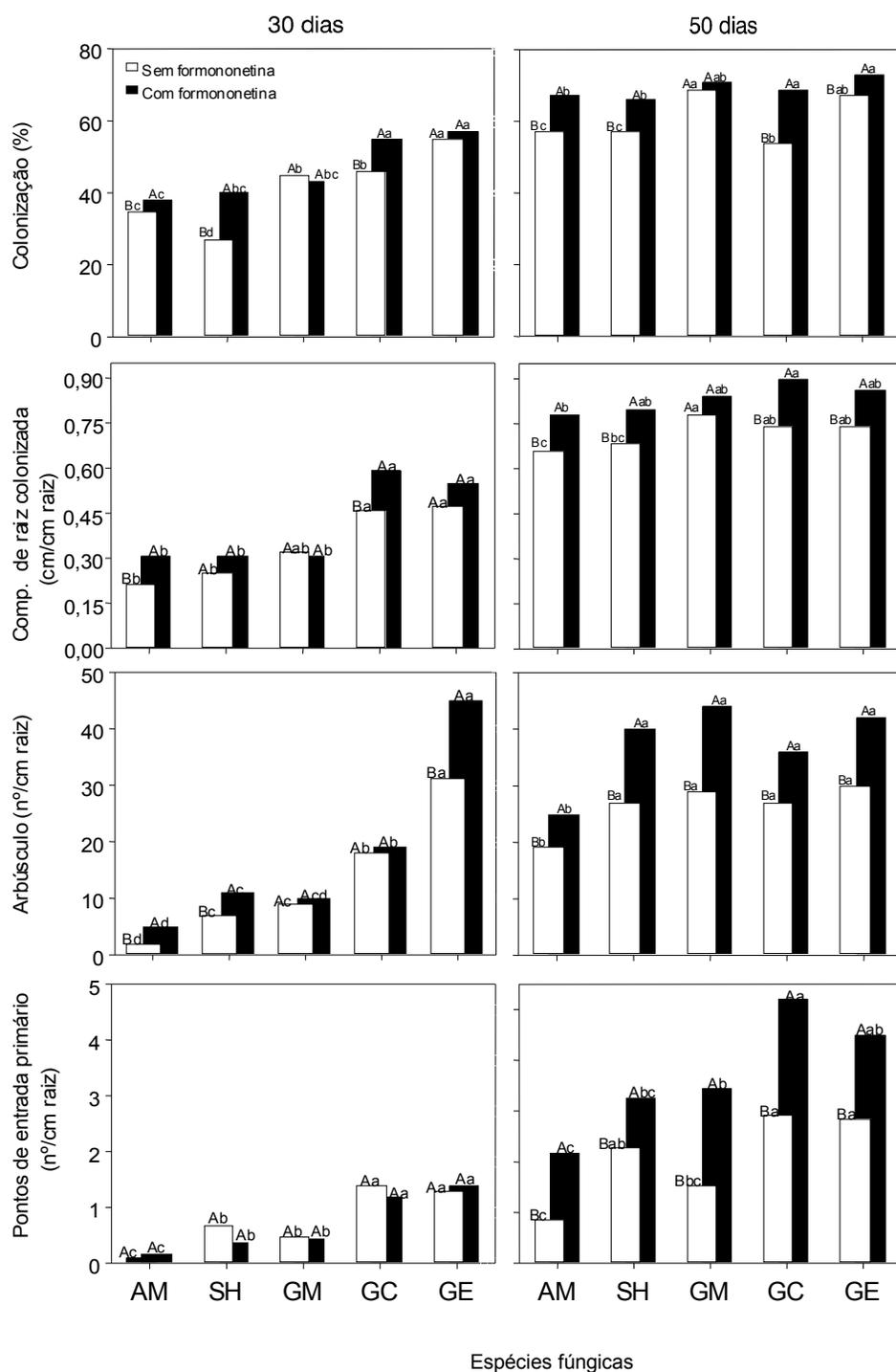


FIG. 1. Percentagem de colonização, comprimento de raiz colonizada, densidades de arbúsculos e de pontos de entradas primários em soja que recebeu inoculação de diferentes espécies de fungos micorrízicos arbusculares, na presença e ausência de formononetina (Form). Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si (Tukey, $P < 5\%$); as letras maiúsculas comparam níveis de formononetina e as minúsculas, espécies fúngicas. AM: *A. morrowiae*; SH: *S. heterogama*; GM: *G. margarita*; GC: *G. clarum*; GE: *G. etunicatum*.

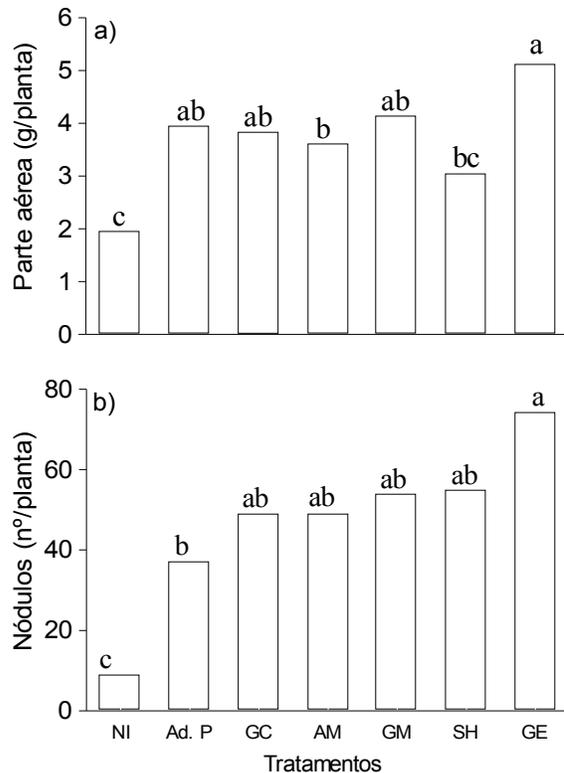


FIG. 2. Efeitos da adição de P (Ad. P) e inoculação de fungos micorrízicos (NI: não-inoculado; GC: *G. clarum*; AM: *A. morrowiae*; GM: *G. margarita*; SH: *S. heterogama* e GE: *G. etunicatum*) na produção de matéria seca da parte aérea (a) e nodulação (b) da soja aos 50 dias após a semeadura. Tratamentos seguidos de mesma letra não diferem entre si (Tukey 5%).

Os teores de nutrientes na parte aérea da soja aos 30 dias da semeadura não foram influenciados pela aplicação de formononetina ($P \leq 0,05$), com diferenças apenas entre os tratamentos de inoculação (Tabela 1). Resultados semelhantes foram obtidos nas avaliações realizadas aos 50 dias da semeadura.

Os teores de P, K, S e Zn foram aumentados pela inoculação de *G. etunicatum*; os teores de P e K correlacionaram-se positivamente com a densidade de arbúsculos ($r = 0,89$ e $r = 0,74$, respectivamente, $P < 0,001$) aos 30 dias, sem, entretanto, correlacionarem-se com a produção de matéria seca. Tal comportamento poderia refletir na produção de grãos de soja, como observado por Paula et al. (1990) ao trabalharem com esse fungo em solo semelhante. A percentagem de P nas plantas colonizadas com *G. etunicatum* foi aumentada em 130% em relação às plantas sem inoculação, e em 60% sobre aquelas adubadas com P. A quantidade de N acumulado na parte aérea da soja variou de 49 mg/planta de N na testemunha sem inoculação a 76 mg/planta de N nas colonizadas por *G. clarum*, não diferindo daquelas adubadas com P, que acumularam 65 mg/planta de N. A produção de matéria seca e a nodulação não foram influenciadas pela aplicação de formononetina, havendo apenas efeito dos tratamentos de inoculação e adição de P. O sinergismo entre micorrização e nodulação pode ter contribuído para maior eficiência do *G. etunicatum* no crescimento da soja (Fig. 2), fato este, também observado em outros estudos com a soja (Asimi et al., 1980; Paula et al., 1990). Apesar da conhecida relação sinergista entre a micorrização e a nodulação, e do efeito da formononetina na micorrização da soja, a nodulação não foi influenciada pela aplicação do isoflavonóide ao solo. Como esse composto não é um indutor de genes nod no rizóbio da soja (Hungria, 1994), ele só pode estimular a nodulação indiretamente via estímulo na micorrização da soja ou nutrição fosfática.

Verificou-se que a aplicação de formononetina aumenta a micorrização da soja em todas as espécies de fungo, sendo a magnitude desse efeito variável em função do parâmetro de colonização e época de avaliação. Porém, o efeito benéfico da formononetina não se reverteu em benefícios no crescimento, nodulação e

nutrição da soja. Como o nível de fósforo no solo era insuficiente para as plantas não micorrízicas, a ausência de resposta em produção de matéria seca, devido ao aumento da micorrização estimulado pela formononetina, deve estar relacionada ao elevado potencial de inóculo micorrízico das condições experimentais. Isso é confirmado pelos altos níveis de colonização radicular observados, mesmo na ausência de formononetina e naquelas espécies fúngicas de colonização mais lenta. A eficiência do fungo micorrízico em promover o crescimento da planta está relacionada ao nível de colonização que ele alcança o mais rapidamente no ciclo de crescimento do hospedeiro. Como se verifica aqui (Fig. 1), *G. etunicatum*, o fungo mais eficiente para soja, apresentou colonização elevada e alta densidade de arbúsculos, já aos 30 dias, quando na presença de formononetina. Tal comportamento pode ter influenciado a nodulação e a nutrição da soja, mesmo não tendo havido efeito da formononetina nesses parâmetros.

TABELA 1. Teores de nutrientes na soja aos 30 dias da semeadura, nos diversos tratamentos de inoculação na presença (+) e ausência (-) de formononetina (F). Médias de 4 repetições¹.

Inoculação	F	P	S	Zn	K
		(%)	(%)	(ppm)	(%)
<i>A. morrowiae</i>	-	0,10 aB	0,20 aBC	29 aB	0,99 aBC
	+	0,10 aBC	0,22 aB	33 aB	0,81 aC
<i>G. margarita</i>	-	0,10 aB	0,23 aABC	33 aAB	0,85 aCD
	+	0,10 aBC	0,21 aB	36 aB	0,82 aC
<i>G. clarum</i>	-	0,12 aBC	0,24 aAB	33 aAB	1,13 aABC
	+	0,11 aB	0,22 aB	29 aB	1,07 aBC
<i>G. etunicatum</i>	-	0,21 aA	0,26 aA	43 aA	1,51 aA
	+	0,22 aA	0,27 aA	49 aA	1,60 aA
<i>S. heterogama</i>	-	0,10 aBC	0,26 aA	35 aAB	1,25 aAB
	+	0,11 aB	0,29 aA	30 aB	1,03 aBC
Não inoculado	-	0,08 aC	0,19 aC	34 aAB	0,73 aD
	+	0,09 aB	0,21 aB	37 aB	0,87 aC
Não inoc. + P	-	0,12 aB	0,20 aAB	33 aAB	1,31 aAB
	+	0,13 aB	0,22 aB	30 aB	1,29 aAB

CONCLUSÕES

1. A formononetina estimula a micorrização da soja pelos fungos, sendo seu efeito diferenciado quanto à espécie e parâmetro considerados.
2. O efeito estimulante da formononetina na micorrização não resulta em benefícios para a nodulação, nutrição e crescimento da soja.
3. A espécie *G. etunicatum* é a mais eficiente, enquanto *S. heterogama*, é a menos eficiente, no estímulo a produção de matéria seca da soja.

REFERÊNCIAS

- ASIMI, S.; GIANINAZZI-PEARSON, V.; GIANINAZZI, S. Influence of increasing soil phosphorus levels on interactions between vesicular-arbuscular mycorrhizae and *Rhizobium* in soybeans. **Canadian Journal of Botany**, Ottawa, v.58, p.2200-2205, 1980.
- BAPTISTA, M.J.; SIQUEIRA, J.O. Efeito de flavonóides na germinação e no crescimento assimbiótico de fungos micorrízicos vesículo-arbusculares. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Campinas, v.6, n.2, p.127-134, 1994.

- CHABOT, S.; BEL-RHLID, R.; CHEVERNET, R.; PICHÉ, Y. Hyphal growth promotion in vitro of the VA mycorrhizal fungus, *Gigaspora margarita* Becker e Hall, by the activity of structurally specific flavonoid compounds under CO₂ enriched conditions. **New Phytologist**, Cambridge, v.122, p.461-167, 1992.
- GERDEMANN, J.W.; NICOLSON, T.H. Spores of mycorrhizal endogone species extracted from soil by mit sieving and decanting. **Transactions of the British Mycological Society**, v.46, p.235-244, 1963.
- GIANINAZZI-PEARSON, V.; BRANZANTI, B.; GIANINAZZI, S. *In vitro* enhancement of spore germination and early hyphal growth of a vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus by host root plant exudates and plant flavonoids. **Symbiosis**, v.7, p.243--255, 1989.
- GIOVANNETTI, M.; MOSSE, B. An evaluation of techniques for measure vesicular-arbuscular mycorrhizal infection in roots. **New Phytologist**, Cambridge, v.84, p.482-500, 1980.
- HUNGRIA, M. Sinais moleculares envolvidos na nodulação das leguminosas por rizóbio. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.18, n.3, p.339-364, 1994.
- KORMANIK, P.P.; MCGRAW, A.C. Quantification of vesicular mycorrhizae in plant root. In: SCHENCK, N.C. (Ed.). **Methods and principles of mycorrhizae research**. St. Paul: APS, 1982. p.37-45.
- LYNN, D.G.; CHANG, M. Phenolic signals in cohabitation: implication for plant development. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v.41, p.497-526, 1990.
- MIRANDA, J.C.C. Influência de fungos endomicorrízicos inoculados a campo, na cultura de sorgo e soja em um solo sob cerrado. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v.6, p.19-23, 1982.
- MORANDI, D.; BRANZANTI, B.; GIANINAZZI-PEARSON, V. Effect of some plant flavonoids on in vitro behaviour of an arbuscular mycorrhizal fungus. **Agronomie**, Paris, v.12, p.811-816, 1992.
- NAIR, M.G.; SAFIR, G.R.; SIQUEIRA, J.O. Isolation and identification of vesicular-arbuscular mycorrhiza--stimulatory compounds from clover (*Trifolium repens*) roots. **Applied Environmental Microbiology**, Washington, v.52, p.434-439, 1991.
- PAULA, M.A.; SIQUEIRA, J.O.; HOSHIKA, E. Crescimento, nutrição e produção de soja inoculada com populações de fungo micorrízicos vesículo-arbusculares. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v.14, p.151-156, 1990.
- PAULA, M.A.; SIQUEIRA, J.O.; OLIVEIRA, L.H.; OLIVEIRA, E. Efetividade simbiótica relativa em soja de populações de fungos endomicorrízicos nativos e de isolados de *Glomus macrocarpum* e *Gigaspora margarita*. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v.12, p.25-31, 1988.
- PEREIRA, P.B.R. **Estudo da eficiência de fungos micorrízicos vesicular-arbusculares para a soja em amostra de um latossolo**. Viçosa, MG: UFV, 1986. 73p. Tese de Mestrado.
- POWELL, C.L.; BAGYARAJ, D.J. **VA Mycorrhiza**. Boca Raton: CRC Press, 1984. 234p.
- SIQUEIRA, J.O. Micorrizas arbusculares: In: ARAÚJO, R.S.; HUNGRIA, M. (Eds.). **Microorganismos de importância agrícola**. Brasília: Embrapa-SPI, 1994. p.151-194.
- SIQUEIRA, J.O.; BROWN, D.G.; SAFIR, G.R.; NAIR, M.G. Field application of the VA mycorrhiza stimulating isoflavonoid formononetin (Rhizotropin™) on corn and soybean in Brazil. In: THE INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON MANAGEMENT OF MYCORRHIZAS, Perth, 1992. **Proceedings...** Perth: Univ. of Western Australia, 1992. p.132.
- SIQUEIRA, J.O.; NAIR, M.G.; HAMMERSCHIMIDI, R.; SAFIR, G.R. Significance of phenolic compounds in plant-soil microbial systems. **Critical Review Plant Science**, Boca Raton, v.10, n.1, p.63-121, 1991a.
- SIQUEIRA, J.O.; NAIR, M.G.; HAMMERSCHIMIDI, R. Stimulation of vesicular-arbuscular mycorrhizal formation and plant growth by flavonoid compounds. **New Phytologist**, Cambridge, v.118, p.87-93, 1991b.
- TSAI, S.M.; PHILLIPS, D.A. Flavonoids released naturally from alfafa promote development of symbiotic *Glomus* spore in vitro. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v.57, n.5, p.1485-1488, 1991.
- UNITED STATES PATENT OFFICE, SAFIR, G.R.; NAIR, M.G.; SIQUEIRA, J.O. **Methods and Compositions for stimulating vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi**. Patent number 5,002,603. March 26, 1991. 21p.
- WILSON, J.M. Comparative development of infection by three vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. **New Phytologist**, v.97, n.3, p.413-426, 1984.