

## AVALIAÇÃO DA TOLERÂNCIA AO ALUMÍNIO EM PLÂNTULAS DE SOJA E SUA UTILIZAÇÃO

Michio Makita<sup>1</sup>; Carlos Roberto Spehar<sup>2</sup>

**RESUMO** - Estudou-se um método prático de avaliar a reação da soja ao alumínio, nos estágios iniciais do seu desenvolvimento. Os danos causados pelo alumínio aparecem, inicialmente, na forma de distúrbios da divisão celular e redução no alongamento das raízes. As plântulas foram cultivadas sob hidroponia, com base nas informações que têm sido obtidas desde o final da década de 1970. Sementes previamente germinadas foram transferidas para solução hidropônica com 100 ppm de Ca e o pH ajustado para 4,0, à qual adicionaram-se com os níveis de 1,5 - 3,0 ppm de alumínio. O período de tempo requerido para o experimento foi de apenas quatro dias. O alongamento radicular foi avaliado por dois métodos, quais sejam, medição direta e coloração pela hematoxilina. Utilizou-se a classificação descrita por Spehar (1989) que define os níveis de altamente resistente (AR), resistente (R), moderadamente resistente (MR) e susceptível (S). Na coloração das raízes as cultivares mostraram reações diferentes das obtidas nas medições radiculares utilizadas nas comparações. O seu alongamento é altamente influenciado pelas condições ambientais e técnica de manuseio, por isso buscou-se reduzir estes efeitos pelo aumento do número de indivíduos por repetição. Avaliaram-se 23 genótipos adaptados ao cerrado, os quais foram classificados em um grupo amplo entre altamente resistente a susceptível. Das cultivares comerciais, 'Doko', 'Cristalina', 'Tropical' e 'Savana', apresentaram resistência superior à cultivar padrão 'IAC-9'.

Termos para indexação: reação, *Glycine max*, danos, alongamento, raízes, cultivares medição direta, hematoxilina.

<sup>1</sup> Agrônomo, Consultor da EMBRAPA/JICA.

<sup>2</sup> Eng. - Agr., Ph.D., EMBRAPA/Centro de Pesquisa Agropecuária dos Cerrados (CPAC), Caixa Postal 08223, CEP 73301-970 Planaltina, DF.

## EVALUATION OF ALUMINIUM TOLERANCE IN SOYBEAN SEEDLINGS AND ITS UTILIZATION

**ABSTRACT** - A practical method to assess the reaction of soybeans to aluminium in the initial stages of plant development was studied. The damage caused by aluminium first appears as disturbance in cell division which results in reduced root elongation. The seedlings of soybeans were cultivated in hydroponics, based on the information that has been accumulated since the 1970's. Seeds previously germinated were transferred to nutrient solution containing 100 ppm Ca, pH adjusted to 4.0, and combined to the levels of 1.5 and 3.0 ppm aluminium. The time interval required for conducting the experiment was of only four days. Root elongation was evaluated by two methods: direct measurement and hematoxylin staining. The classification described by Spehar (1989) was utilized. It defines the reaction levels of highly resistant (HR), Resistant (R), moderately resistant (MR) and Susceptible (S). However, in the staining with hematoxylin the cultivars showed different reaction to that obtained in the root measurements. The root elongation is highly influenced by the environment and handling techniques. These limiting factors were overcome by increasing the number of individuals per replicate. Out of the 23 genotypes selected for the cerrado region, 'Doko', 'Cristalina', 'Tropical' and 'Savana' were superior to 'IAC-9' a standard aluminium tolerant variety.

Index terms: reaction, *Glycine max*, damage, elongation, roots, cultivars direct measurement, hematoxylin.

### 1. Introdução

Na classificação das plantas cultivadas para resistência ao alumínio, a soja pertence ao grupo médio-alto, e é superior ao trigo, e à cevada, porém inferior ao arroz (Tanaka, 1989). Em geral, assume-se como danos no crescimento das plantas causados por alumínio, os que se iniciam com distúrbios na divisão celular e no alongamento das células do tecido meristemático. Como resultado, causam deficiência na absorção de nutrientes e água para a parte aérea e terminam por reduzir produção de grãos. Para espécies da família Leguminosae como a soja é necessário considerar além das implica-

ções dos danos de alumínio sobre a planta, a sua influência no processo de fixação de nitrogênio. A instalação das bactérias nitrificantes e o processo de fixação de nitrogênio são altamente sensíveis ao alumínio (Tanaka, 1989).

O melhoramento da soja com resistência ao alumínio tem sido realizado por grande número de pesquisadores, os quais dependem do estabelecimento de metodologia para avaliação. Desde o final da década de 1970 com o objetivo de pesquisar a resistência de soja ao alumínio, nos solos ácidos do sudeste dos Estados Unidos, têm sido relatados métodos de testes em estágios iniciais, com a utilização de hidroponia. No entanto nem sempre tem havido correspondência entre este teste e o campo. Sartain et al. (1978) e Sapro et al. (1982) afirmaram que não foram verificadas relações entre os danos de alumínio às raízes sob hidroponia e os distúrbios no crescimento de plantas cultivadas no solo em casa de vegetação. Ao contrário, Hanson et al. (1979) conseguiram um coeficiente de correlação de  $R = 0.79$  entre os dados obtidos em hidroponia e os de solo em casa de vegetação, o qual foi significativo estatisticamente. Neste mesmo trabalho, foi relatada a alta herdabilidade ( $H = 0.60$ ) da resistência ao alumínio com o uso de hidroponia. Recentemente, Garland et al. (1990) relataram que o comprimento das raízes de plântulas de soja cultivada sob hidroponia e o peso seco de plantas cultivadas no solo, em casa de vegetação, apresentaram alta correlação ( $R = 0.81$ ). Esses dados apontam a possibilidade de se utilizar o método da hidroponia em programas de melhoramento de plantas por sua alta repetibilidade. Por outro lado, citam que para se aumentar a precisão do método de cultivo em vasos em casa de vegetação, é necessário elevar-se o número de indivíduos por repetição. Spehar (1989) realizou pesquisa em genética de resistência ao alumínio para a produção de soja na zona tropical do Brasil. Em seu trabalho foram investigadas as características genéticas de resistência a partir de experimentos em hidroponia com 9 cultivares, previamente selecionadas por experimento em campo. Dentre esses genótipos, houve certa correlação para os cultivos hidropônico e de campo com possibilidade de selecionar para resistência ao alumínio por aquele método. Embora a principal causa dos distúrbios de crescimento de raízes de soja na maioria dos solos de cerrado é devida à pre-

sença de alumínio (Yoshida, 1981), acredita-se que a diferença de resistência entre cultivo hidropônico e de campo é que, a hidroponia, reflete resistência à toxidez do alumínio diretamente, enquanto que no campo, estão envolvidos outros fatores como a toxidez de manganês em alguns casos e os efeitos complexos de condições ambientais. Nakamura et al. (1984), ao avaliarem a reação de cultivares de soja da Indonésia para à resistência ao alumínio em hidroponia, afirmam que, em concentrações de a 0.4 mM, a distinção é mais fácil. Fonseca et al.(1982), em base no trabalho de Polle et al.(1978), efetuaram a coloração de raízes jovens de soja com hematoxilina e fizeram a distinção entre as cultivares.

Os métodos de avaliação da resistência ao alumínio por hidroponia descritos até agora, apesar de apresentarem pontos comuns na concentração de sais na solução nutritiva, procedimentos e período de tratamento, apresentam algumas divergências, na sua maior parte. O objetivo deste trabalho consistiu em se revisar a literatura existente e obter um método prático de avaliação de resistência ao alumínio, com a sua efetiva utilização no melhoramento da soja. Suas características são baseadas na simplicidade de avaliação, no baixo custo, e na possibilidade de um grande número de testes com alta precisão.

## **2. Material e Métodos**

### **(1) Equipamentos e reagentes**

O recipiente-teste para a acomodação de sementes enraizadas consistiu em um escorredor utilizado para lavagem de material de laboratório, de 30 cm de comprimento, 24 cm de largura e 10 cm de altura, confeccionado de material plástico com fundo reticulado propício ao escoamento e um recipiente para a solução nutritiva. No fundo do escorredor foi fixada uma malha ondulada, cuja depressão foi usada para distribuir as sementes pré-germina-

das de 15 cultivares. Ao serem colocadas sobre o recipiente com 2.5l de solução hidropônica, as sementes ficaram em contato com a superfície do líquido. Para se executar a aeração por compressor, fixaram-se dois tubos de vinil, com inúmeros orifícios, no fundo do recipiente. Dois conjuntos de recipientes foram preparados, para a utilização de duas concentrações diferentes de alumínio. Utilizou-se uma incubadora Percival com iluminação fluorescente e controle de temperatura e luminosidade. A solução hidropônica foi constituída por 100 ppm de Ca na forma de  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$  e pH ajustado para 4.0 com ácido clorídrico a 0.25N. Para a preparação da solução de alumínio foi utilizado  $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot 16 \text{H}_2\text{O}$ , e para a preparação da solução de hematoxilina, foi adicionado 0.02% de  $\text{NaIO}_3$  a 0.2% de solução aquosa de hematoxilina.

Utilizou-se o delineamento experimental de blocos ao acaso com 2 repetições. Cada tratamento foi composto por dez sementes previamente germinadas.

## (2) Procedimentos

### 1º-2º dia - pré-germinação das sementes

Às 9 horas da manhã colocaram-se as sementes entre duas folhas de papel-filtro (30 x 15cm), e permitiu-se o embebimento com solução hidropônica. Em seguida estas foram enroladas de modo a formar um bastão, colocado em um becker de 500 ml em número aproximado de 8 rolos cada. Para evitar o ressecamento da parte superior, colocou-se uma tampa com papel-filtro úmido, e cobriu-se com um saco plástico. Esse conjunto foi mantido em uma incubadora a 26 °C.

### 3º dia - Transferência para a solução com alumínio

As sementes retiradas com pinça, 48 horas após, tiveram suas radículas precisamente medidas e somente as uniformes com comprimento médio em

1.5 a 2.5 cm foram colocadas nas depressões da malha dos dois recipientes teste, na ordem da medição, em número de 10 plântulas por tratamento. Os recipientes foram previamente preenchidos com solução hidropônica à qual foi adicionado alumínio nas concentrações de 1,5 ppm e de 3,0 ppm. Foram levados à incubadora, com temperatura ajustada para 28°C e regime luminoso de 12 horas. A aeração da solução nutritiva foi efetuada com compressor e, para evitar ressecamento, a parte superior foi coberta com filme plástico.

#### 4º dia - Medição e determinação

Os recipientes-teste foram retirados da incubadora, 24 horas após o início do tratamento e a parte radicular foi precisamente medida, na mesma ordem.

#### (3) Método de avaliação

A avaliação foi realizada de acordo com duas estimativas baseadas no comprimento radicular, para os tratamentos de 1,5 ppm e 3,0 ppm de concentração de alumínio: estimativa A: diferença entre o comprimento radicular antes e depois do tratamento com alumínio (mm); estimativa B: (diferença entre o comprimento radicular antes e depois do tratamento/comprimento radicular antes do tratamento) x 100 (%). Os valores obtidos foram analisados estatisticamente para comparação com a cultivar-padrão. As avaliações pela coloração com hematoxilina fizeram-se concomitantemente.

#### (4) Germoplasma

O germoplasma empregado nos testes foi composto pelas 23 cultivares apresentadas na Tabela 1. Destas, as sete primeiras correspondem a parte do material utilizado nos experimentos genéticos sob hidroponia por Spehar (1989).

**TABELA 1 - Genótipos empregados nos experimentos com alumínio.**

Cultivar	Origem	Adaptação
IAC-2	Inst. Agronômico de Campinas	Cerrado/Sudeste
IAC-5	"	"
IAC-7	"	"
IAC-8	"	"
IAC-9	"	"
UFV-1	Univ. Federal de Viçosa	"
Cristalina	FT-Sementes	"
Doko	EMBRAPA-CPAC	"
BR-15	"	"
BR-40	"	"
Eureka	FT-Semente	"
Cariri	"	"
PR-GO *	EMBRAPA-EMGOPA	"
Santa Rosa	Inst. Agronômico de Campinas	Cerrado/Sudeste Sul
Seridó	FT-Sementes	Cerrado/Sudeste
Savana	EMBRAPA-CPAC	"
Tropical	EMBRAPA-CNPS	"
BR 83-7605	"	"
BR 85-473-76 "	"	"
BR 86-582	"	"
BR 86-943	"	"
BR 86-1047	"	"
BR 86-7423	"	"

\* PR-GO = Paranagoiana

### 3. Resultados e Discussão

#### 1) Resistência ao alumínio das cultivares e linhagens adaptadas ao cerrado.

As Tabelas 2.1 e 2.2 exibem a reação ao alumínio dos 23 genótipos. Na primeira é apresentado o resultado da estimativa A e na segunda o da estimativa B. Estes resultados podem ser comparados com os obtidos por Spehar (1989) para os sete tratamentos comuns, marcados por asteriscos. O seu método de avaliação consiste em, após o cultivo por 5 dias em solução nutritiva com várias fontes de nutrientes, adicionada de diferentes níveis de alumínio, determinar o grau de resistência a partir da distribuição do com-

priminto radicular de acordo com a concentração. O autor assume que as cultivares 'Cristalina', 'IAC-9', 'IAC-7' e 'IAC-5' são resistentes (R), 'IAC-8' e 'IAC-2' são moderadamente resistentes e que 'UFV-1' é susceptível. Ao se comparar esses resultados com os do presente trabalho tem-se que as quatro cultivares resistentes (R) foram consideradas como de alta resistência, colocando-se em até quinto lugar pela estimativa A, com elevada correspondência nos dois métodos. Pela estimativa B, 'Cristalina', 'IAC-9' e 'IAC-7' foram classificadas em nível superior, e 'UFV-1' em nível inferior. Destacaram-se como moderadamente resistentes (MR) a 'IAC-8' e a 'IAC-2'. A cultivar 'UFV-1' foi classificada como susceptível nos dois experimentos. Dessa forma, os resultados desta avaliação corresponderam aos padrões relatados por Spehar(1989). Houve uma grande correlação entre as estimativas, como mostram as Figuras 1 e 2, e não houve destaque entre elas.

**TABELA 2.1 - Reação de genótipos de soja ao alumínio. Estimativa A: Diferença entre os comprimentos das raízes (mm) antes e depois do tratamento com alumínio.**

		Concentração de Alumínio (ppm)				
		1.5		3.0		
Cultivar		Média**		Cultivar	Média**	
BR 86-7423		31	A	BR86-7423	27	A
Doko		28	B	PR-GO	25	B
Seridó		24	C	Doko	25	C
PR-GO		24		IAC-9*	24	D
Cristalina *		23	D	IAC-7 *	22	E
Tropical		23		IAC-8 *	21	
BR-40		22		BR 86-1047	21	
Savana		22		Tropical	20	
IAC-9 *		22		Cristalina *	20	
BR 86-1047		22	B	E Cariri	20	
Cariri		21	F	IAC-5 *	20	
BR 85-473-76		21		Savana	19	
Santa Rosa		21		Santa Rosa	19	
IAC-5 *		21		BR-40	19	
IAC-8 *		20		Seridó	18	
BR-15		20		BR-15	18	A
BR 83-7605		20		BR 85-473-76	17	
IAC-7 *		19		BR 86-943	17	
BR 86-943		18	C	Eureka	16	B
Eureka		17	D	BR 83-7605	16	C
IAC-2 *		16		E IAC-2*	15	D
UFV-1 *		15		UFV-1*	15	
BR 86-582		15	F	BR 86-582	14	E

\* Posição relativa, em comparação com os dados de Spehar(1989)

\*\* Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si (Duncan 5%)

**TABELA 2.2 - Reação dos genótipos de soja ao alumínio. Estimativa B: (Diferença entre os comprimentos de raízes antes e depois do tratamento com alumínio/comprimento de raízes antes do tratamento com alumínio) x 100.**

Concentração de Alumínio (ppm)			
1.5		3.0	
Cultivar	Média**	Cultivar	Média**
BR86-7423	159 A	BR86-7423	136 A
BR-40	142 B	PR-GO	129 B
Doko	137 A C	Santa Rosa	126
Eureka	132 D	Eureka	121 C
Santa Rosa	126 E	Doko	119
Savana	125	IAC-7*	119
Seridó	122 B F	BR-40	112
BR83-7605	117 G	IAC-8*	112
PR-GO	117	Savana	111
Cristalina *	117	BR86-1047	110
BR85-473-76	115 C H	IAC-9*	110
BR86-1047	113 I	Cariri	102
Tropical	111 D	IAC-2*	101
IAC-7*	105	Cristalina *	101
IAC-8*	105	Tropical	98
IAC-9*	104 E	BR83-7605	95
BR-15	98 J F	BR-15	94
Cariri	97	BR86-943	93 A
IAC-2*	95	Seridó	91
IAC-5*	94 G	BR85-473-76	90
BR86-943	92	H UFV-1*	89
UFV-1*	90 I	IAC-5*	86 B
BR86-582	80 J	BR86-582	76 C

\* Posição relativa em comparação com os dados de Spehar (1989)

\*\* Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si (Duncan 5%)



A análise da resistência ao alumínio nas 23 cultivares (Tabelas 2.1, 2.2), indicou que a 'BR86-7423', mostrou-se altamente resistente (AR), e superior às 4 cultivares resistentes (R), as quais foram também superadas por 'Doko' e 'Paranagoiana'. A 'BR 86-7423' foi desenvolvida na EMBRAPA - CNPS(PR), 'Doko' na EMBRAPA - CPAC(DF) e 'Paranagoiana' na EMBRAPA- EMGOPA(GO). Por outro lado, os genótipos 'UFV-1' e 'BR86-582' foram classificadas como os mais susceptíveis. A 'UFV-1' foi desenvolvida na Universidade Federal de Viçosa e a 'BR86-582' na EMBRAPA - CNPS. As cultivares 'Doko' e 'Cristalina', de importância nos cerrados, foram classificadas como resistentes (R), com desempenho superior e igualmente importantes para os cerrados, as cultivares 'Tropical' e 'Savana' foram incluídas nesse mesmo grupo. Apesar de todas as 23 cultivares serem consideradas como adaptadas aos cerrados, a resistência ao alumínio mostrou ampla variação, o que indica a involuntariedade da seleção em experimentos de campo e a necessidade de técnicas de laboratório, sob condições controladas de estresse.

Assim, os resultados deste experimento de avaliação de resistência ao alumínio entre as cultivares, mostraram correspondência com os resultados indicados por Spehar (1989). As principais cultivares utilizadas atualmente, 'Doko', 'Cristalina', 'Tropical' e 'Savana' foram todas classificadas no grupo resistente (R) e à 'IAC-9', padrão de resistência.

## 2) Discussão do método de avaliação

Os efeitos secundários decorrentes dos distúrbios no crescimento radicular causados pelo alumínio, tais como a redução na produtividade e susceptibilidade ao veranico, com reflexo na qualidade de grãos, são danos da maior importância no cultivo da soja. No entanto, durante o processo de melhoramento, não foi feita uma seleção específica e efetiva para as cultivares com alta resistência ao alumínio, assim como no caso do trigo. As possíveis razões para tal fato são a inexistência de métodos de avaliação em larga escala no campo, como para o trigo, e a moderada-alta resistência ao alumínio, em soja não constitui sérios problemas (Tanaka, 1989). Dado a inexistência de um método adequado para a utilização no melhoramento de soja, torna-se de grande importância a avaliação de resistência baseada nos danos ao crescimento radicular, de modo fácil e em estágios iniciais pela hidroponia.

Este experimento baseou-se nos trabalhos já existentes, devido a isso, inseriu-se, uma pequena discussão para se compararem os resultados. Utili-

zou -se uma solução de 100 ppm de cálcio com pH 4,0 e suprimiram-se os demais nutrientes. A razão de não se utilizar a solução nutritiva completa deve-se ao curto período para o alongamento radicular de apenas 24 horas. Desse modo, os nutrientes contidos nos cotilédones são ainda suficientes. O íon cálcio foi adicionado para evitar a desestabilização do pH e também porque é relatado como causador de ruptura da membrana celular, estimulando a absorção de alumínio (Fonseca et al., 1981). Existem trabalhos que relatam a adição de 10 ppm de  $\text{CaCl}_2$  e  $\text{CaSO}_4$  na solução nutritiva (Sartain et al., 1978; Hanson et al., 1979; Garland et al., 1990); utilização na solução nutritiva apenas de cálcio (Sapra et al., 1982); e também sem a adição de qualquer nutriente (Nakamura et al., 1984). Foram utilizadas as concentrações de 1,5 ppm e 3,0 ppm de alumínio na forma de  $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot 16\text{H}_2\text{O}$  e um tratamento por 24 horas, porém há a necessidade de se efetuarem estudos adicionais. Há trabalhos que relatam desde casos de tratamento a concentrações baixas de 0, 0,25, 0,5 e 1,0 ppm por 48 horas (Sartain et al., 1978) até casos com 0, 2,4, 6 e 8 ppm por cinco dias (Spehar, 1989). Os pontos mais importantes nesta avaliação pelo comprimento radicular foram a utilização de sementes com vigor o mais alto possível para todos os genótipos e a padronização dos indivíduos com comprimento radicular entre 1.5 a 2.5 cm. As determinações fizeram-se pela diferença entre comprimento radicular antes e depois do tratamento para cada indivíduo. Mesmo assim, devido à grande variação entre indivíduos dentro de uma cultivar, foi necessário elevar para um número superior a 10 indivíduos. Com um número reduzido tornou-se difícil a distinção entre cultivares, para reação ao alumínio. As avaliações da coloração pela hematoxilina mostraram resultados pouco repetitivos, quando comparados com o comprimento radicular, o qual foi avaliado em somente quatro dias. O método permite à produção de sementes das plantas selecionadas para a próxima geração, o que se constitui em vantagem no melhoramento genético da soja para tolerância ao alumínio.

### Conclusões

O método de avaliação do alongamento radicular é eficiente, simples, de curta duração, de baixo custo e, principalmente, não destrutivo. Essa característica permite o avanço de geração dos indivíduos selecionados para testes de progênie e estudos genéticos sobre tolerância ao alumínio em soja.

O método de coloração pela hematoxilina apresentou baixa repetibilidade em comparação com as medições do alongamento radicular e necessita estudos adicionais para o seu aprimoramento.

## Referências Bibliográficas

- FONSECA JUNIOR, N.S.; MARIA, J.; SEDIYAMA, T.; PEREIRA, M.G.; YAMADA, M.M.; TRAGNAGO, J.L. Método de detecção visual da sensibilidade ao alumínio em soja (*Glycine max* (L.)Merrill). In: SEMINÁRIO NACIONAL DE PESQUISA DE SOJA, 2., 1981, Brasília. **Anais**. Londrina,PR.: EMBRAPA/CNPSo, 1982 v.2, p.678-685.
- GARLAND, M.L.; CAMPBELL, K.A.; CARTER, Jr. T.E. Aluminum tolerance in soybean: I. Genotypic correlation and repeatability of solution culture and greenhouse screening methods. **Crop Science** v.30, p.1049-1054, 1990.
- HANSON, W.D.; KAMPRATH, E.J. Selection for aluminum tolerance in soybean based on seedling-root growth. **Agronomy Journal**, v.71, p.581-586, 1979.
- NAKAMURA, S.; HOZYO, Y. **Simple selection for Al-tolerance in soybean based on seedling root growth in Al-solution**. In: Report on Japan-Indonesia Joint Agricultural Research Project (JICA) p.31-39, 1984.
- POLLE, E.; KONZAC, C.F.; KITTRICK, J.A. Visual detection of aluminum tolerance levels in wheat by hematoxylin staining of seedling roots. **Crop Science**, v.8, p.823-827, 1978.
- SAPRA, V.T.; MEBRAHTU, T.; MUGWIRA, L.M. Soybean germplasm and cultivar aluminium tolerance in nutrient solution and bladen clay loam soil. **Agronomy Journal**, v.74, p.687-690, 1982.
- SARTAIN, K.B.; KAMPRATH, E.J. Aluminium tolerance of soybean cultivars based on root elongation in solution culture compared with growth in acid soil. **Agronomy Journal**, v.70, p.17-20, 1978.
- SPEHAR, C.R. The genetics of aluminium tolerance in soya beans *Glycine max* (L.) Merrill. Cambridge (UK): University of Cambridge, 1989, 123p Tese Doutorado.
- TANAKA, A. Solos ácidos e seus usos agrícolas - situação e futuro nos trópicos. (S.I.): Ed. Hakuyu, 1989.
- YOSHIDA, T. **Danos de alumínio nas raízes de plantas do cerrado JICA**. In: RELATÓRIO PARCIAL DO PROJETO DE COOPERAÇÃO EM PESQUISA AGRÍCOLA NOS CERRADOS DO BRASIL, 2. JICA., 1981, p.10-18.