

**RIQUEZA DE FUNGOS MICORRÍZICOS
ARBUSCULARES NO SOLO E O
CRESCIMENTO INICIAL DE ESPÉCIES
ARBÓREAS NATIVAS**

JOSÉ GERALDO DONIZETTI DOS SANTOS

2008

JOSÉ GERALDO DONIZETTI DOS SANTOS

**RIQUEZA DE FUNGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES NO
SOLO E O CRESCIMENTO INICIAL DE ESPÉCIES ARBÓREAS
NATIVAS**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras,
como parte das exigências do Programa de Pós-
Graduação em Ciência do Solo, para a obtenção do
título de Doutor.

Orientador

Prof. PhD José Oswaldo Siqueira

**LAVRAS
MINAS GERAIS – BRASIL**

2008

JOSÉ GERALDO DONIZETTI DOS SANTOS

**RIQUEZA DE FUNGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES NO
SOLO E O CRESCIMENTO INICIAL DE ESPÉCIES ARBÓREAS
NATIVAS**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras,
como parte das exigências do Programa de Pós-
Graduação em Ciência do Solo, para a obtenção do
título de Doutor.

APROVADA em 14 de janeiro de 2008

| | |
|--|-----------------------------|
| Prof. Dr. Carlos Alberto Silva | UFLA-DCS |
| Prof. Dr. Valdemar Faquin | UFLA-DCS |
| Prof. Dr. Eustáquio Souza Dias | UFLA-DBI |
| Pesq. PhD. Francisco Adriano de Souza | EMBRAPA-Agrobiologia |

Prof. PhD José Oswaldo Siqueira
UFLA
(Orientador)

LAVRAS
MINAS GERAIS - BRASIL

**Ficha Catalográfica Preparada pela Divisão de Processos Técnicos da
Biblioteca Central da UFLA**

Santos, José Geraldo Donizetti dos.

Riqueza de fungos micorrízicos arbusculares no solo e o crescimento inicial de espécies arbóreas nativas / José Geraldo Donizetti dos Santos. -- Lavras : UFLA, 2008.

80 p. : il.

Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Lavras, 2008.

Orientador: José Oswaldo Siqueira.

Bibliografia.

1. Micorriza arbuscular. 2. Relação planta-fungo. 3. Biodiversidade funcional. 4. DGGE. 5. Simbiose fungo-raíz. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD – 631.46

A todos os meus familiares e amigos,

OFEREÇO.

A minha esposa, Valéria Cecília

Aos meus pais, Benedito Pereira e Maria Aparecida

Aos meus irmãos,

Benedito Ricardo e família,

Pedro Renato e família,

Rita de Cássia e,

em especial,

a Maria Julia (*in memoriam*)

DEDICO.

AGRADECIMENTOS

A Deus, a quem sempre recorreremos nos momentos difíceis e devemos agradecer infinitamente na vitória.

A minha família, meu alicerce.

A minha esposa, Valéria Cecília, pelo apoio incondicional durante esta jornada, compreensão nos momentos difíceis e pelo amor e respeito que conquistei, e também a seus pais e irmãos.

Aos meus queridos pais, Benedito Pereira e Maria Aparecida, pelo amor, conselhos, educação e, em especial, pelas orações de minha mãe, que muito têm valido. A presença deles na defesa me proporcionou a sensação de dever cumprido.

Aos meus irmãos, Ricardo, Pedro e Ritinha, que sempre acreditaram em mim. A eles desejo muita felicidade.

Especial agradecimento ao professor José Oswaldo Siqueira, pela orientação, ensinamentos e valiosa oportunidade.

Especial agradecimento, também, ao grande amigo e fiel colaborador Plínio Henrique, pela dedicação, entusiasmo e profissionalismo dedicados a este trabalho.

Aos grandes amigos de longa data, Alexandrino Oliveira, Anderson Resende e Cesar Elias, meus votos de sucesso. Também às suas esposas e filhos.

Aos grandes amigos, José Zilton, Paulo Avelar, Silvana Silva e Otacílio Rangel.

Aos amigos e colegas do Laboratório de Microbiologia do Solo, Adriana Lima, Cláudio Fonseca, Éderson, Rafaela, Lucélia, Jerusa e Mauricio, Gláucia, Krisle, Michele, Rogério, Ligiane, Ana Paula, Pedro, Meire Cordeiro, Amanda, Candido, Cleide, Bruno, Silvia, Bruna, Maíra, Leandro, Alice e Márcia.

À professora Fátima Maria S. Moreira e ao professor Nilton Curi.

Aos técnicos de laboratório, Marlene e, especialmente, ao Manoel Aparecido.

Aos professores Carlos Alberto, Valdemar Faquin e Eustáquio Souza, pelas valiosas sugestões e disponibilidade para compor a banca examinadora.

Aos demais professores, técnicos e colegas do DCS-UFLA.

À EMBRAPA-Agrobiologia e aos pesquisadores Dra. Norma Gouvêa Rumjank e Dr. Gustavo Ribeiro Xavier, por disponibilizarem a estrutura laboratorial para a análise molecular e, em especial, ao pesquisador Dr. Francisco Adriano de Souza, pela disponibilidade em acompanhar as análises, pela orientação na conclusão do trabalho, pelos ensinamentos e atenção.

Aos pós-graduandos e bolsistas na EMBRAPA-Agrobiologia, Wardsson Borges, Isabel Lima e Samuel Passos, pela essencial ajuda e ensinamentos nas análises moleculares e aos demais colegas da EMBRAPA-Agrobiologia.

À Universidade Federal de Lavras e ao Departamento de Ciência do Solo, pela oportunidade de realização do doutorado e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e tecnológico (CNPq), pela concessão da bolsa e financiamento deste estudo.

Ao povo brasileiro, que financiou meus estudos até o doutorado, meu voto de compromisso.

Aos amigos que, porventura, não tenha mencionado.

MUITO OBRIGADO.

SUMÁRIO

| | página |
|--|--------|
| RESUMO..... | i |
| ABSTRACT..... | iii |
| 1 INTRODUÇÃO..... | 1 |
| 2 REFERENCIAL TEÓRICO..... | 4 |
| 2.1 O crescimento de espécies vegetais em competição..... | 4 |
| 2.2 Os Fungos micorrízicos arbusculares (FMAs)..... | 6 |
| 2.3 Efeito dos FMAs no crescimento de espécies nativas..... | 7 |
| 2.4 Biologia molecular no estudo de comunidades de FMAs..... | 18 |
| 3 MATERIAL E MÉTODOS..... | 21 |
| 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO..... | 29 |
| 4.1 Crescimento das plantas..... | 29 |
| 4.2 Teor e conteúdo de nutrientes nas plantas..... | 45 |
| 4.3 Colonização micorrízica e contagem de esporos..... | 51 |
| 4.4 DGGE dos FMAs em amostras de esporos e raízes..... | 58 |
| 5 CONSIDERAÇÕES GERAIS..... | 69 |
| 6 CONCLUSÕES..... | 73 |
| 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... | 74 |

RESUMO

SANTOS, José Geraldo Donizetti. **Riqueza de fungos micorrízicos arbusculares no solo e o crescimento inicial de espécies arbóreas nativas.** 2008. 80p. Tese (Doutorado em Ciência do Solo) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG, Brasil*.

Os mecanismos que controlam e mantêm a diversidade, a produtividade primária e a estrutura das comunidades de plantas ainda não foram completamente elucidados. Tem sido sugerido que os fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) desempenham papel importante nas comunidades vegetais, mas há carência de provas experimentais comprobatórias desta função. No presente estudo avaliou-se em cinco experimentos de casa de vegetação, o papel da riqueza de FMAs no crescimento individual e conjunto da *Trema micrantha* Blume, *Schinus terebinthifolius* Raddi, *Senna macranthera* (Vell.) Irw. & Barn. e *Caesalpinia ferrea* Mart. Quatro destes experimentos foram conduzidos com estas espécies crescendo individualmente e em um quinto estas cresceram em conjunto, simulando uma comunidade vegetal. Os tratamentos foram; um controle não inoculado (NI), inoculação com uma espécie de FMA (R1), duas (R2), quatro (R4) e oito espécies (R8) e um tratamento referencial com nível alto de P do solo (AP). O crescimento das plantas foi favorecido no tratamento AP e na presença de FMAs, em relação ao NI. O aumento no crescimento esteve associado ao aumento na riqueza de espécies de FMAs no solo, sendo este mais evidente sob a condição de crescimento conjunto das plantas do que destas individualmente. Em crescimento conjunto e na ausência de FMAs a *T. micrantha* foi a espécie dominante, principalmente no tratamento AP onde representou mais de 70% da biomassa total das plantas. Já na presença de FMAs, a produção relativa de biomassa foi mais equilibrada, com ligeira dominância da *S. terebinthifolius*. Análises da densidade de esporos e de eletroforese em gel com gradiente desnaturante (DGGE) da subunidade menor do rDNA (18S), extraído de raízes e amplificado com os iniciadores NS31 e AM1, indicaram que mudanças na composição de espécies na comunidade fungica no solo alterou a comunidade de FMAs nas raízes. O *Glomus clarum* dominou a comunidade radicular em R8, onde destacou-se também *Gigaspora margarita* e *Scutellospora heterogama*. A *Gi margarita* e a *S. heterogama* dominaram a comunidade radicular em R4 e a *Gi. margarita* foi a espécie dominante, quando apenas duas espécies estavam presentes na comunidade solo. O *Glomus etunicatum* somente apresentou bandas evidentes no gel de DGGE quando era a única espécie presente no solo.

*Orientador: Prof. PhD José Oswaldo Siqueira-UFLA

A comparação do perfil eletroforético dos FMAs colonizando os diferentes hospedeiros, sugere a existência de relações preferenciais planta-fungo. Isto pode refletir na capacidade de estabelecimento e competitividade entre as espécies de FMAs estudadas. Crescendo individualmente, as plantas responderam ao aumento da riqueza de FMAs somente até R4, enquanto que, em comunidade, houve resposta até R8. Conclui-se que o benefício do aumento da riqueza de FMAs é maior para plantas crescendo em comunidades complexas e onde há mais competição.

Palavras chaves: micorriza arbuscular, relação planta-fungo, biodiversidade funcional, DGGE, simbiose fungo-raíz.

ABSTRACT

SANTOS, José Geraldo Donizetti. **Arbuscular mycorrhizal fungi richness in soil and the initial growth of native wood species**. 2008. 80p. Doctoral Thesis in Soil Science – Federal University of Lavras, Lavras, MG, Brazil*

The mechanisms that control and maintain diversity, primary productivity and plant community structure have not yet been completely elucidated. It has been suggested that the arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) play an important role on plant communities, but a few experimental comprobatory evidence has been reported. In this study it was evaluated in five experiments, under greenhouse conditions, the role of AMF richness growth of individual and mixed the native wood species: *Trema micrantha* Blume, *Schinus terebinthifolius* Raddi, *Senna macranthera* (Vell.) Irw. & Barn. and *Caesalpinia ferrea* Mart. Four of these experiments were cultivated with these plant species individually and in a fifth one with plants species growing together, simulating a natural plant community. The following treatments were used: a non-mycorrhizal control (NI), inoculation with one (R1), two (R2), four (R4) and eight AMF species (R8) and a treatment with high P level (AP). Plant growth was favored both under AP treatment and mycorrhizal presence in contrast to NI. The increase in plant growth was associated with the increase in the AMF richness in the soil and the effect of fungal richness was more evident under plant species all together than as under individual growth. *T. micrantha* was the dominant species under species mixture condition without AMF inoculation, mainly in the AP treatment, where it accounted for more than 70% of total plant biomass. However, when AMF were present, the relative biomass yield was more evenly distributed, with a small dominance of *S. terebinthifolius*. Analyses of spore density and denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE) of fungi rDNA small subunit (18S) amplified from DNA extracted of roots with primers NS31 and AM1 showed that changes in the soil fungi community altered root fungal community composition. *Glomus clarum* was the dominant species in the treatment R8, where *Gigaspora margarita* and *Scutellospora heterogama* were also prominent. *Gigaspora margarita* and *Scutellospora heterogama* were the dominant species in the treatment R4 and *Gigaspora margarita* was the dominant species when only two AMF species were present in the soil. *Glomus etunicatum* had an evident band in the DGGE gel only when it was the single species in the soil. The electrophoretic profiles of AMF colonizing the different hosts suggest the existence of preferential, plant-fungus relationship. This may reflect on the

*Adviser: Prof. PhD José Oswaldo Siqueira-UFLA

establishment capacity and competitiveness of the AMF species evaluated. In single growth conditions the increase in AMF richness improved the plant growth only up to four species in the soil, while in community conditions there was beneficial effect up to eight species. It is concluded that the mutual benefit of increasing the AMF richness is more important to plants growing in complex communities where plant competitiveness is high.

Key words: arbuscular mycorrhiza, plant-fungus relationships, functional biodiversity, DGGE, fungus-root symbiosis.

1 INTRODUÇÃO

A identificação dos mecanismos ecológicos que controlam e mantêm a diversidade de espécies, a produtividade primária e a estrutura das comunidades de plantas é assunto constantemente debatido e estudado, mas é ainda uma questão não bem compreendida. Os avanços dos estudos sobre as relações organismos-ambiente e biodiversidade indicam que os fatores de controle da diversidade e estrutura de comunidades de plantas, em ecossistemas naturais, como o clima, disponibilidade de recursos, interação planta-planta, assim como planta-herbívoro não são suficientes para o pleno entendimento do assunto.

Dessa forma, as interações entre plantas e microrganismos têm merecido especial atenção, em particular as micorrizas arbusculares, que desempenham importante papel no comportamento das comunidades vegetais. Evidências científicas apontam para este fato, pois, além de ser uma simbiose tão antiga quanto as próprias plantas terrestres, estima-se que seja a condição natural de mais de 80% destas espécies vegetais superiores.

O mecanismo principal de influência dos fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) sobre os processos dos ecossistemas deve estar relacionado ao acesso diferencial aos recursos, com efeitos sobre a composição e estrutura da comunidade de plantas, pois isto tem relação direta com a produção primária dos ecossistemas. Estudos pioneiros indicaram a influência positiva dos FMAs para o equilíbrio da estrutura e diversidade de comunidades vegetais arbóreas tropicais e de pequeno porte sob clima temperado, pois a presença destes fungos minimiza as diferenças entre as espécies quanto à habilidade em competir por nutrientes e favorecem a sobrevivência das plântulas e a capacidade competitiva das espécies subordinadas em relação à espécie dominante, porém, há indicações de efeitos contrários. O comportamento das espécies vegetais em comunidade,

quanto à presença de FMAs, tem relação com o grau de micotrofia das espécies. Além da presença de FMAs, a importância do fator espécie ou isolado fungico para o crescimento das plantas também tem sido apontada, tanto em crescimento individual (Pouyú-Rojas et al., 2006; Santos et al., 2007), quanto para as espécies vegetais em competição (van der Heijden et al., 1998a., van der Heijden et al., 2003; Scheublin et al., 2007), indicando a existência de combinações preferenciais planta-fungo.

Estes resultados sugerem que esses fungos podem proporcionar diferentes efeitos na comunidade de plantas, o que pode interferir em sua diversidade, estrutura e produção de biomassa. Também revelam a funcionalidade das comunidades de FMAs e contrariam a idéia de ausência de especificidade já atribuída por longo tempo a este grupo de organismos, pois é pequeno número de espécies de FMAs identificadas, cerca de 160, em relação aos potenciais hospedeiros, mais de 250 mil espécies. Este contexto subsidia o entendimento dos resultados positivos obtidos e a importância da diversidade de FMAs para o crescimento de plantas em comunidade (van der Heijden et al., 1998b, van der Heijden et al., 2003).

A resposta diferenciada das espécies vegetais à inoculação, a melhor exploração dos recursos como o fósforo, a adição dos efeitos benéficos individuais dos FMAs e o potencial de ocorrerem interações preferenciais entre os parceiros podem ser os mecanismos responsáveis pela interferência na diversidade, na produtividade e na estrutura da comunidade vegetal. Porém, a falta de informação sobre a identidade da comunidade de FMAs, que de fato coloniza as raízes, limita muito as conclusões e a elucidação dos mecanismos que podem explicar as relações fungo-planta e, assim, dificulta a compreensão da importância da riqueza desses fungos para a funcionalidade dos ecossistemas.

Do mesmo modo que as plantas ocorrem naturalmente em comunidades, pressupõe-se que os FMAs também formam comunidades complexas nas raízes

dos seus hospedeiros. Isso sugere a existência de fortes relações funcionais entre estes parceiros na natureza e, assim, estabelecendo-se relações entre organismos abaixo a acima da superfície do solo. Os estudos que têm avaliado a diversidade ativa de FMAs entre espécies vegetais em coexistência se limitam a observações de ocorrência no campo. Estudos em condições controladas, nas quais as relações podem ser melhor qualificadas e quantificadas, permitem simular e entender as possíveis relações entre comunidades de plantas e fungos micorrízicos.

Presume-se que o aumento da riqueza de espécies de fungos micorrízicos arbusculares no solo possa favorecer o crescimento das plantas e o estabelecimento de interações mais equilibradas fungo-planta, com benefícios para os parceiros e também favorecer o estabelecimento de espécies de FMAs mais eficientes para a colonização e o crescimento dos hospedeiros.

Este estudo foi realizado com o objetivo de avaliar a relação entre a riqueza de espécies de fungos micorrízicos arbusculares e o comportamento de espécies arbóreas nativas em fase inicial de crescimento, conjunto e individual.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 O crescimento de espécies vegetais em competição

De maneira simplificada, uma comunidade pode ser definida como sendo uma organização de seres vivos que possui populações compostas por organismos da mesma espécie (Odum, 1988; Begon et al., 1996). A interação entre cada nível e o ambiente físico, ou seja, energia e matéria, produz os sistemas funcionais característicos, compondo ecossistemas que funcionam como estruturas organizadas (Odum, 1988) onde espécies crescem em conjunto.

Diversos são os fatores que podem influenciar o crescimento conjunto de espécies vegetais quanto ao número de espécies, à abundância relativa dessas espécies (estrutura da comunidade) e à produtividade. A competição entre espécies por recursos, como água, nutrientes, luz, espaço, etc., está dentre os importantes fatores que determinam a diversidade e a estrutura de comunidades vegetais. Este tipo de interação torna-se mais intenso quando os ambientes são mais homogêneos e as necessidades das espécies mais parecidas (Odum, 1988). Segundo este autor, diferentes espécies podem coexistir num ambiente limitado, sendo necessário que as populações sejam controladas independentemente por um ou mais dos seguintes mecanismos: necessidades nutricionais diferentes (ex: leguminosas e não leguminosas), causas diferentes de mortalidade (ex: sensibilidade diferenciada ao ataque de herbívoros), sensibilidade a toxinas diferentes e sensibilidade ao mesmo fator de controle (luz, água, etc.), em épocas diferentes. Esta dinâmica de crescimento das plantas também pode ser influenciada pela variabilidade genética, com reflexo direto sobre as relações de competição intra e interespecífica, sendo a expressão do potencial individual e a variabilidade na espécie reguladores da persistência das espécies em comunidade (Whitham et al., 2003; Lankau & Strauss, 2007).

A quantidade de energia disponível é outro fator, porém, a diversidade de organismos depende de outros fatores associados a este, favorecendo ou não diferentes espécies na mesma área (Morin, 2000). Por exemplo, um nível intermediário de recursos, como a fertilidade do solo, pode evitar a especialização de determinada espécie que dominará o ambiente, reduzindo a diversidade da comunidade (Begon et al., 1996; Morin, 2000). Outro fator é a heterogeneidade do ambiente como a variação temporal e espacial dos fatores químicos, físicos e biológicos, permitindo que diferentes espécies façam uma exploração preferencial do meio, minimizando os efeitos negativos da competição interespecífica, permitindo a coexistência de espécies (Morin, 2000).

A heterogeneidade do ambiente tem relação estreita com a diversidade, como pode ser observado em estudos de diversidade em ilhas, onde as maiores ilhas apresentam maior diversidade, tanto de plantas quanto de animais, pois tendem a apresentar maior diversidade de habitats, suportando mais espécies (Begon et al., 1996).

A ação de herbívoros também pode influenciar tanto a diversidade quanto a estrutura de comunidades vegetais. Por exemplo, o pastejo seletivo sobre a espécie dominante impede que esta suprima as menos vigorosas, devido ao menor crescimento destas últimas. No entanto, a diversidade pode ser reduzida, tanto pelo superpastejo como pelo consumo preferencial das subordinadas (Begon et al., 1996). Estudando a ação de insetos herbívoros na Amazônia Peruana, entre áreas com variação de fertilidade e textura do solo, Fine et al. (2004) verificaram que a ação dos insetos herbívoros causou a especialização da vegetação, interferindo na diversidade local. Pois, as espécies adaptadas às áreas arenosas de baixa fertilidade foram impedidas de invadir as áreas argilosas de melhor fertilidade, pela incapacidade em competir com as espécies locais, devido ao alto custo metabólico demandado pelas defesas químicas contra os insetos. Em contrapartida, as espécies adaptadas às áreas

argilosas não invadiram as áreas arenosas, pois não conseguiam compensar as perdas de tecido devido ao ataque dos insetos, em solo de baixa fertilidade. Porém, na ausência de insetos, estas espécies invadiram as áreas arenosas, excluindo as espécies locais e reduzindo a diversidade do ambiente.

Outro fator importante a ser considerado com potencial de influenciar a diversidade, a estrutura e a produtividade de comunidades vegetais é a biota do solo (Wardle et al., 2004). Segundo estes autores, isso se tornou mais evidente pelo atual reconhecimento da interligação entre os ecossistemas acima e abaixo da superfície do solo. São fortes os indícios de que o ambiente edáfico tenha grande influência sobre os organismos acima da superfície do solo e no controle de processos nos ecossistemas, devido à ação de “feedbacks” entre os organismos, plantas e biota do solo (Klironomos, 2002). Portanto, as plantas podem ser indiretamente influenciadas, a exemplo de organismos que decompõem matéria orgânica no solo e liberam nutrientes, ou diretamente influenciadas por organismos intimamente associados às raízes, como herbívoros, patógenos e simbiontes (Wardle et al., 2004; Hooper et al., 2000). De acordo com estes autores, dentre os organismos ou grupos funcionais de organismos, os associados de forma mais íntima e obrigatória ao sistema radicular, como os fungos micorrízicos arbusculares (FMAs), podem ter grande influência sobre as comunidades vegetais. Porém, informações a este respeito, envolvendo os FMAs, são ainda pouco conhecidas, ao contrário da ação de outros organismos, como patógenos e insetos predadores, necessitando, portanto, de estudos.

2.2 Os fungos micorrízicos arbusculares (FMAs)

Os fungos que formam as micorrizas arbusculares são pertencentes ao filo Glomeromycota, sendo identificadas, atualmente, cerca de 160 espécies, conforme INVAM (<http://invam.caf.wvu.edu>). Estes fungos formam associação

simbiótica mutualística com as raízes da maioria das espécies de plantas superiores (Smith & Read, 1997). Os FMAs são simbiotróficos obrigatórios que só completam seu ciclo de vida em simbiose com a planta hospedeira (Siqueira et al., 1985). Deste hospedeiro, o fungo obtém carboidratos e outros fatores essenciais ao seu desenvolvimento e esporulação, enquanto a planta hospedeira recebe em troca água e nutrientes inorgânicos absorvidos do solo, além de outros benefícios como aumento no volume e longevidade de raízes e menor estresse hídrico e de pressão de patógenos (Smith & Read, 1997).

Apesar de as micorrizas arbusculares serem consideradas uma regra e não uma exceção na natureza, estimando-se que sejam encontradas em mais de 80% das espécies vegetais superiores, o grau de benefício com a simbiose varia entre e dentro das espécies dos parceiros e pode receber influência do ambiente (Koide, 1991). Esta simbiose torna-se mais importante quanto maiores forem as dificuldades ou o nível de estresse, como condições nutricionais subótimas, impostas pelo ambiente ao adequado desenvolvimento das plantas (Siqueira & Saggin-Júnior, 1995), principalmente em ambientes naturais (Smith & Read, 1997). Também a associação micorrízica permite a interconexão de plantas, beneficia outros organismos como os fixadores simbióticos de N₂, melhora a agregação do solo, dentre outros efeitos. Devido à influência diferenciada destes fungos sobre o crescimento das plantas, acredita-se que os FMAs tenham potencial para influenciar a dinâmica das comunidades vegetais, mediando relações interespecíficas como a competição (Bever et al., 2001).

2.3 Efeito dos FMAs no crescimento de espécies nativas

A maioria das espécies vegetais nativas é potencialmente formadora de MAs. Sob clima tropical esta simbiose é verificada amplamente entre plantas de hábito arbóreo e também herbáceo, sendo a condição micorrízica uma adaptação

evolutiva para contornar limitações nutricionais naturalmente comuns em solos destas regiões (Janos, 1980a).

Porém, a contribuição dos FMAs para o crescimento das plantas nativas varia entre as espécies e os grupos sucessionais, como discutido por Francis & Read (1994), com base num modelo de sucessão ecológica concebido para estudar a recomposição vegetal de áreas degradadas. Dentre os grupos sucessionais, os grupos das pioneiras e secundárias seriam os mais beneficiados pelas MAs, em relação aos grupos das rudaráceas e clímaxes. Segundo os mesmos autores, a abundância de inóculo micorrízico, a disponibilidade de nutrientes e a estabilidade da área seriam controladores desta dinâmica. Inicialmente, a área desprovida de vegetação e competidores é colonizada pelas rudaráceas, na maioria não micotróficas ou micotróficas facultativas, devido ao reduzido banco de inóculo de FMAs. Gradativamente, ocorre a seleção proporcionalmente maior de micotróficas, pois estas seriam melhores competidoras pelos escassos recursos, sendo o pico quando a área for dominada pelas perenes pioneiras e secundárias, aumentando também o banco de inóculo micorrízico. Associado à melhoria da fertilidade da área e à complexidade e à estabilidade da comunidade de plantas, diminuindo o efeito seletivo induzido pelos FMAs, o ambiente está mais equilibrado e passa a ser dominado pelas espécies clímaxes.

Estudos realizados com inúmeras espécies arbóreas nativas do Brasil, incluindo as envolvidas no presente estudo, têm verificado estreita relação entre o grupo sucessional e a micotrofia das espécies (Carneiro et al., 1998; Siqueira et al., 1998; Siqueira & Saggin-Júnior, 2001; Zangaro et al., 2002). A maior proporção de espécies que se beneficiam das MAs está dentre as pioneiras, seguidas das secundárias iniciais, as secundárias tardias e, por último, as clímaxes. Alguns fatores, indicados por estes estudos, apresentam ótima relação com este comportamento entre os grupos sucessionais. A taxa de crescimento, o

volume de raízes finas e a densidade de pêlos radiculares diminuem das pioneiras para as clímacas e a reserva das sementes aumenta no sentido das clímacas. Isso indica, de modo geral, que as espécies arbóreas com reduzida reserva na semente e que estão anatomicamente mais preparadas para explorar o solo e absorver nutrientes, são as mais beneficiadas em crescimento pelas Mas. Isso ocorre, possivelmente, pelo fato de elas explorarem naturalmente um ambiente com limitações mais severas que o explorado pelas espécies de final de sucessão, tendo nos FMAs um recurso biológico essencial para o seu crescimento em solo de baixa fertilidade.

Siqueira & Saggin-Júnior (2001), ao estudarem o efeito da inoculação com *Glomus etunicatum* e doses de P para o crescimento de 29 espécies arbóreas nativas do Brasil, verificaram que a divergência de resposta e de dependência micorrízica também ocorre entre espécies pertencentes ao mesmo grupo sucessional, o que pode ter conseqüências para o crescimento destas em competição. Isso porque, em competição e na ausência de FMAs, as espécies menos dependentes da micotrofia normalmente têm vantagem em relação as outras espécies. No entanto, evidências indicam que, na presença destes fungos no solo, as espécies mais dependentes da micotrofia são, normalmente, as mais beneficiadas (Sheublin et al., 2007).

A micotrofia, a responsividade e a dependência micorrízica das plantas são importantes fatores a serem considerados acerca da potencial importância que os FMAs têm para o crescimento vegetal, principalmente quando se pensa em coexistência de espécies e dinâmica dos ecossistemas naturais, como discutido por Bever (2002). A maioria das espécies arbóreas nativas avaliadas forma simbiose com FMAs, principalmente entre as espécies pioneiras e secundárias, conforme estudos que avaliaram a ocorrência das MAs em inúmeras arbóreas nativas, sob condição de campo e casa de vegetação, nas regiões Sudeste (Carneiro et al., 1998) e do Brasil (Zangaro et al., 2002).

É verificado também que esta simbiose é crítica para o crescimento dessas plantas em solo de baixa fertilidade. Isso foi evidenciado por estudos como o de Carneiro et al. (1996) e o de Siqueira et al. (1998), avaliando o impacto do inóculo misto de *G. etunicatum* e *Gigapora margarita* e doses de fósforo sobre o crescimento de espécies arbóreas pertencentes a diferentes grupos sucessionais. Estudos envolvendo, principalmente, espécies de crescimento rápido, pioneiras e secundárias, também obtiveram efeito positivo da inoculação sobre o crescimento das plantas em solo de baixa fertilidade (N e P), como verificado por Paron et al. (1997), para trema e fedegoso e por Pouyu-Rojas & Siqueira (2000), para outras seis espécies, além do fedegoso. Outros estudos também têm pesquisado a ocorrência e o efeito das MAs para espécies nativas do Brasil, no entanto, como se observa nos dados da Tabela 1, poucas espécies vegetais e de FMAs foram objeto de estudo de múltiplos trabalhos científicos, indicando a escassez de informação sobre este assunto.

Trabalhos pioneiros abordando o potencial impacto dos FMAs sobre comunidades vegetais foram desenvolvidos ainda na década de 1980. Estudos de Janos (1980a e 1980b) com espécies de plantas tropicais sugeriram que as micorrizas poderiam influenciar a composição e a riqueza de espécies em comunidade de plantas. Prevaleceriam as não micotróficas, as micotróficas facultativas ou as micotróficas obrigatórias, dependendo da presença ou não destes fungos. As MAs também poderiam favorecer a coexistência de espécies por minimizarem diferenças entre as espécies vegetais quanto à habilidade competitiva em capturar nutrientes do solo, como o P.

Grime et al. (1987) demonstraram esta influência dos FMAs sobre a coexistência de espécies vegetais ao simularem, em microcosmos, a dinâmica de crescimento conjunto de plantas que naturalmente co-ocorrem sob clima temperado. Na presença de FMAs, a diversidade de espécies na comunidade de

Tabela 1 Exemplo de espécies arbóreas nativas do Brasil e FMAs já estudadas. Dados compilados de vários artigos em periódicos nacionais e internacionais (Siqueira et al., 2007).

| Espécies vegetais | FMAs |
|--|--|
| <p><i>Luehea grandiflora</i>^{e/o, 7*}, <i>Cecropia pachystachya</i>^{e/o, 5}, <i>Schinus terebinthifolius</i>^{e/o, 6}, <i>Machaerium nycitans</i>^{e/o, 2}, <i>Senna macranthera</i>^{e/o, 9}, <i>Senna spectabilis</i>^{e/o, 4}, <i>Caesalpinia férrea</i>^{e/o, 4}, <i>Tabebuia serratifolia</i>^{e/o, 3}, <i>Maclura tinctoria</i>^{e/o, 3}, <i>Guazuma ulmifolia</i>^{e/o, 4}, <i>Acacia polyphylla</i>^{e, 2}, <i>Mimosa caesalpiniaefolia</i>^{e, 4}, <i>Enterolobium contortisiliquum</i>^{e/o, 5}, <i>Trema micrantha</i>^{e/o, 9}, <i>Cedrella fissilis</i>^{e/o, 5}, <i>Heliocarpus americanus</i>^{e, 2}, <i>Lithraea molleoides</i>^{e/o, 3}, <i>Poecilanthe paruiiflora</i>^{e, 1}, <i>Senna multijuga</i>^{e/o, 5}, <i>Solanum granuloso</i>^{e/o, 6}, <i>Centrolobium tomentosum</i>^{e/o, 3}, <i>Platycyamus regnellii</i>^{e, 1}, <i>Ormosia arborea</i>^{e, 2}, <i>Caesalpinia peltophoroides</i>^{e/o, 3}, <i>Macherium stipitatum</i>^{e, 1}, <i>Myroxylon peruiferum</i>^{e/o, 2}, <i>Hymenaea courbaril</i>^{e/o, 4}, <i>Dendropanax cuneatum</i>^{e/o, 2}, <i>Ceiba speciosa</i>^{e/o, 3}, <i>Tabebuia roseo-alba</i>^{e/o, 3}, <i>Croton floribundus</i>^{e, 2}, <i>Tibouchina granulosa</i>^{e/o, 2}, <i>Cordia trichotoma</i>^{e/o, 3}, <i>Leucaena leucocephala</i>^{e, 1}, <i>Myrsine umbellate</i>^{e, 1}, <i>Tabebuia impetiginosa</i>^{e/o, 2}, <i>Sapindus saponaria</i>^{e/o, 3}, <i>Aspidosperma parvifolium</i>^{e/o, 3}, <i>Copaifera langsdorffii</i>^{e/o, 4}, <i>Sesbania virgata</i>^{e, 2}, <i>Colvillea racemosa</i>^{e/o, 2}, <i>Albizia lebbek</i>^{e/o, 3}, <i>Annacardium occidentale</i>^{o, 1}, <i>Annona carssiflora</i>^{o, 1}, <i>Zylopia brasiliensis</i>^{o, 1}, <i>Aspidospema polyneuron</i>^{o, 1}, <i>Eremanthus incanus</i>^{o, 1}, <i>Tabebuia aurea</i>^{o, 1}, <i>Stanolobium stans</i>^{o, 1}, <i>Zeyheria tuberculosa</i>^{e/o, 2}, <i>Hevea brasiliensis</i>^{e, 1}, <i>Jacaranda mimosifolia</i>^{e/o, 3}, <i>Bixa orellana</i>^{o, 1}, <i>Bombacopsis glabra</i>^{o, 1}, <i>Caryocar brasiliense</i>^{o, 1}, <i>Casuarina equisetifolia</i>^{o, 1}, <i>Erythroxylum</i> sp^{o, 1}, <i>Jaannesia princeps</i>^{o, 1}, <i>Kielmeyera coriacea</i>^{o, 1}, <i>Ocotea corymbosa</i>^{o, 1}, <i>Cariniana estrellensis</i>^{e/o, 2}, <i>Cariniana legalis</i>^{o, 1}, <i>Senna qualifolia</i>^{o, 1}, <i>Delonix regia</i>^{o, 1}, <i>Tamarindus indica</i>^{o, 1}, <i>Bauhinia pulchella</i>^{o, 1}, <i>Hymenaea stignocarpa</i>^{o, 1}, <i>Sclerolobium rugosum</i>^{o, 1}, <i>Caesalpinia rugosum</i>^{o, 1}, <i>Cassia grandis</i>^{e/o, 2}, <i>Peltophorum dubium</i>^{e/o, 3}, <i>Schizolobium parahyba</i>^{e/o, 2}, <i>Piptadenia gonoacantha</i>^{o, 1}, <i>Inga affinis</i>^{o, 1}, <i>Anadenanthera peregrina</i>^{e/o, 3}, <i>Dimorphandra mollis</i>^{o, 1}, <i>Anadenanthera falcata</i>^{e/o, 2}, <i>Acosmiun dasycarpum</i>^{o, 1}, <i>Acosmium suberosum</i>^{o, 1}, <i>Ormosia sorborea</i>^{o, 1}, <i>Platycyamus regnellii</i>^{e/o, 2}, <i>Amburana cearensis</i>^{o, 1}, <i>Clitoria fairchildiana</i>^{o, 1}, <i>Platypodium elegans</i>^{o, 1}, <i>Machaerium acutofolium</i>^{o, 1},</p> | <p><i>Glomus etunicatum</i>^{e/o, 17}, <i>Glomus clarum</i>^{e, 2}, <i>Glomus macrocarpum</i>^{e, 1}, <i>Acaulospora scrobiculata</i>^{e, 6}, <i>Acaulospora longula</i>^{e, 2}, <i>Acaulospora spinosa</i>^{e, 1}, <i>Acaulospora morrowae</i>^{e, 1}, <i>Gigaspora margarita</i>^{e/o, 9}, <i>Gigaspora gigantea</i>^{e, 1}, <i>Gigaspora Albiba</i>^{e, 1}, <i>Scutellospora heterogama</i>^{e, 2}, <i>Scutellospora pellucida</i>^{e, 1}, <i>Scutellospora gregaria</i>^{e, 1}, <i>Entrophospora colombiana</i>^{e, 2}, <i>Paraglomus occultum</i>^{e, 2},</p> |

... continua

Tabela 1, Cont.

| Espécies vegetais |
|---|
| <i>Swartzia langsdorffii</i> ^{o, 1} , <i>Dipteryx alata</i> ^{o, 1} , <i>Pterodon emarginatus</i> ^{o, 1} , <i>Tipuana tipu</i> ^{e/o, 2} , <i>Talauma ovata</i> ^{e/o, 2} , <i>Byrsonima verbascifolia</i> ^{o, 1} , <i>Miconia pepericarpa</i> ^{o, 1} , <i>Miconia hispida</i> ^{o, 1} , <i>Melia azedarach</i> ^{o, 1} , <i>Carapa guianensis</i> , <i>Carapa guianensis</i> ^{o, 1} , <i>Myrsine umbellata</i> ^{o, 1} , <i>Myrsine lancifolia</i> ^{o, 1} , <i>Eugenia tomentosa</i> ^{o, 1} , <i>Syzygium jambolanum</i> ^{e/o, 2} , <i>Callistemon lanceolatus</i> ^{o, 1} , <i>Eugenia pyriformis</i> ^{o, 1} , <i>Hovenia dulcis</i> ^{e/o, 2} , <i>Palicourea rigida</i> ^{o, 1} , <i>Tocoyena formosa</i> ^{o, 1} , <i>Psychotria</i> sp. ^{o, 1} , <i>Amaioua guianensis</i> ^{o, 1} , <i>Vitex polyagama</i> ^{o, 1} , <i>Qualea grandiflora</i> ^{o, 1} , <i>Stenolobium stans</i> ^{e, 1} , <i>Ormosia arborea</i> ^{e, 1} , <i>Bauhinia</i> sp. ^{e/o, 3} , <i>Araucaria angustifolia</i> ^{e, 3} , <i>Aegiphila sellowiana</i> ^{e, 1} , <i>Cecropia glaziovii</i> ^{e, 1} , <i>Cestrum intermedium</i> ^{e, 1} , <i>Citharexylum myrianthum</i> ^{e, 1} , <i>Croton urucurana</i> ^{e, 1} , <i>Mimosa scabrella</i> ^{e, 1} , <i>Piptocarpha axillaris</i> ^{e, 1} , <i>Solanum argenteum</i> ^{e, 1} , <i>Tabernaemontana australis</i> ^{e, 1} , <i>Xylosma ciliatifolium</i> ^{e, 1} , <i>Xylosma pseudosalzmannii</i> ^{e, 1} , <i>Albizia hassleri</i> ^{e, 1} , <i>Anadenanthera colubrina</i> ^{e, 2} , <i>Anadenanthera macrocarpa</i> ^{e, 1} , <i>Bastardiopsis densiflora</i> ^{e, 1} , <i>Bauhinia forcata</i> ^{e, 1} , <i>Casearia sylvestris</i> ^{e, 2} , <i>Colubrina glandulosa</i> ^{e, 1} , <i>Eugenia uniflora</i> ^{e, 1} , <i>Lafoensia pacari</i> ^{e, 1} , <i>Lonchocarpus campestris</i> ^{e, 1} , <i>Luehea candicans</i> ^{e, 1} , <i>Luehea divaricata</i> ^{e, 1} , <i>Parapiptadenia rigida</i> ^{e, 1} , <i>Poecilanthe parviflora</i> ^{e, 1} , <i>Pseudobombax grandiflorum</i> ^{e, 1} , <i>Sebastiania commersoniana</i> ^{e, 1} , <i>Tabebuia chrysotricha</i> ^{e, 1} , <i>Astronium graveolens</i> ^{e, 1} , <i>Bougainvillea spectabilis</i> ^{e, 1} , <i>Campomanesia xanthocarpa</i> ^{e, 1} , <i>Chorisia speciosa</i> ^{e, 1} , <i>Cordia ecalyculata</i> ^{e, 1} , <i>Ficus guaranítica</i> ^{e, 1} , <i>Genipa americana</i> ^{e, 1} , <i>Inga sessilis</i> ^{e, 1} , <i>Inga striata</i> ^{e, 1} , <i>Jacaranda puberula</i> ^{e, 1} , <i>Jacaratia spinosa</i> ^{e, 1} , <i>Lonchocarpus muehlbergianus</i> ^{e, 1} , <i>Lonchocarpus muehlbergianus</i> ^{e, 1} , <i>Machaerium minutiflorum</i> ^{e, 1} , <i>Machaerium stipitatum</i> ^{e, 1} , <i>Ocotea puberula</i> ^{e, 1} , <i>Prunus sellowii</i> ^{e, 1} , <i>Pterogyne nitens</i> ^{e, 1} , <i>Ruprechtia laxiflora</i> ^{e, 1} , <i>Strichinus brasiliensis</i> ^{e, 1} , <i>Syagrus romanzoffiana</i> ^{e, 1} , <i>Vitex montevidensis</i> ^{e, 1} , <i>Actinostemon concolor</i> ^{e, 1} , <i>Aspidosperma polyneuron</i> ^{e, 1} , <i>Euterpe edulis</i> ^{e, 1} , <i>Guarea kunthiana</i> ^{e, 1} , <i>Holocalyx balansae</i> ^{e, 1} , <i>Ocotea indecora</i> ^{e, 1} , <i>Plinia rivularis</i> ^{e, 1} , <i>Sorocea bonplandii</i> ^{e, 1} , <i>Trichilia casaretti</i> ^{e, 1} , <i>Trichilia clausenii</i> ^{e, 1} , <i>Trichilia elegans</i> ^{e, 1} , <i>Mimosa bimucronata</i> ^{e, 1} , <i>Parapiptadenia rigida</i> ^{e, 1} , <i>Ilex paraguariensis</i> ^{e, 1} , <i>Didymopanax angustissimum</i> ^{e, 1} , <i>Cassia</i> sp. ^{e, 1} , <i>Sloanea guianensis</i> ^{e, 1} , <i>Hieronyma alchorneoides</i> ^{e, 1} , <i>Nectandra rígida</i> ^{e, 1} , <i>Nectandra rígida</i> ^{e, 1} , <i>Calathea</i> sp. ^{e, 1} , <i>Leandra dasytricha</i> ^{e, 1} , <i>Cabralea canjerana</i> ^{e, 1} , <i>Inga marginata</i> ^{e, 1} , <i>Mimosa scabrella</i> ^{e, 1} , <i>Brosimum lactescens</i> ^{e, 1} , <i>Rapanea ferruginea</i> ^{e, 1} , <i>Acca sellowiana</i> ^{e, 1} , <i>Campomanesia</i> sp. ^{e, 1} , <i>Eugenia</i> sp. ^{e, 1} , <i>Gomidesia spectabilis</i> ^{e, 1} , <i>Psidium guajava</i> ^{e, 1} , <i>Psidium</i> sp. ^{e, 1} , <i>Piper</i> sp. ^{e, 1} , <i>Coccoloba warmingii</i> ^{e, 1} , <i>Matayba guianensis</i> ^{e, 1} , <i>Anemia phyllitidis</i> ^{e, 1} , <i>Hancornia speciosa</i> ^{e, 1} , <i>Myracrodrum urundeuva</i> ^{e, 1} , <i>Schinopsis brasiliensis</i> ^{e, 1} . |

* e= efeito, o= ocorrência das MAs, n°= número de artigos que estudaram esta espécie.

plantas foi maior, pois aumentou a sobrevivência das plântulas e a espécies subordinadas. A realocação de fotoassimilados (C-marcado), da espécie dominante micotrófica-facultativa, para as subordinadas MA-obrigatórias, via rede micelial comum, foi o principal fator responsável por estes resultados. Flores-Aylas et al. (2003), ao estudarem o efeito do *Glomus etunicatum* e de níveis de P no solo sobre o crescimento inicial conjunto da aroeira, trema, gravitinga, fedegoso, mutamba e cássia verugosa, verificam que as espécies micotróficas menos competitivas, na ausência de FMAs, foram as que mais se beneficiaram da presença destes, com reflexo no aumento de biomassa e melhor equilíbrio na produção relativa de biomassa entre as espécies.

Tanto a inoculação quanto o nível de P no solo interferiram no comportamento das plantas em competição e o efeito foi muito específico e dependente das espécies vegetais envolvidas. De modo geral, verifica-se que as espécies pioneiras são as que mais se beneficiam da micorrização e do aumento do teor de P no solo (Flores-Aylas et al., 2003). Efeitos contrários a estes, atribuídos à presença de FMAs, para o crescimento de espécies vegetais em competição, também têm sido observados (Hartinett & Wilson, 1999; O'Connor et al., 2002). Nestes casos, a supressão dos FMAs aumentou a diversidade de espécies e o equilíbrio da comunidade de plantas, pois as espécies subordinadas (micotróficas facultativas) foram favorecidas em detrimento às dominantes (micotróficas obrigatórias). A alteração na distribuição de recursos entre vizinhos e a resposta diferencial das espécies aos FMAs foram fatores associados aos resultados, indicando que a micotrofia das espécies dominantes, em relação às subordinadas, deve ser considerada e parece ter papel preponderante sobre o comportamento de espécies de plantas em competição na presença de FMAs. O grupo dominante na comunidade de plantas (micotróficas obrigatórias x facultativas ou não micotróficas) será dependente da presença ou não de FMAs, indicando ligação entre os ambientes acima e abaixo da superfície

do solo, com reflexo na estrutura, na diversidade e na produtividade da comunidade de plantas, sendo estes importantes componentes que interferem no funcionamento dos ecossistemas naturais (Begon et al., 1996).

Além da presença de FMAs, o genótipo destes também interfere no crescimento da plantas, conforme verificado para o crescimento conjunto de espécies de pequeno porte sob clima temperado (van der Heijden et al., 1998a, van der Heijden et al., 2003; Scheublin et al., 2007) e também individualmente para arbóreas nativas do Brasil (Pouyu-Rojas et al., 2006; Santos et al., 2007). Em crescimento conjunto, a composição de espécies e a estrutura da comunidade de plantas variaram drasticamente quando também mudou a espécie de FMA presente, pois foi alterada a relação de competição entre as espécies de plantas estudadas. Respostas diferenciadas entre as espécies vegetais e também a maneira pela qual a aquisição e a distribuição de recursos, como o P e o N, variaram entre as espécies de planta, em função do genótipo micorrízico presente, explicam estes resultados (van der Heijden et al., 2003; Scheublin et al., 2007), sendo esses fatores controladores da coexistência de espécies de vegetais.

Aspectos desta relação planta-fungo, quanto à compatibilidade e ao reflexo para o crescimento de 16 espécies hospedeiras, foram estudados por Pouyu-Rojas et al. (2006). Estes autores verificaram comportamento diferenciado entre as espécies vegetais quanto à suscetibilidade à colonização e à resposta em crescimento e também dependente do tratamento micorrízico. Foram identificadas espécies vegetais de ampla compatibilidade, como açoita-cavalo, embaúba, cássia-carnaval e gravitinga, até compatíveis com um número restrito de FMAs, como o cedro, aroeira, marica e tamboril.

No mesmo sentido, alguns fungos apresentaram eficiência ampla para o crescimento das espécies vegetais estudadas (ex. *Glomus clarum*, *Glomus etunicatum* e *Gigaspora margarita*), enquanto outros foram ineficientes para a

maioria das espécies de plantas e também incapazes de colonizar algumas delas (ex. *Gigaspora gigantea* e *Acaulospora scrobiculata*). Os resultados indicam a existência de seletividade e compatibilidade simbiótica diferenciada, havendo combinações preferenciais na formação das MAs e resposta variável dependente do genótipo micorrízico envolvido na relação fungo-planta. Isso contribui para entender por que a presença e o genótipo micorrízico interferem no crescimento de espécies vegetais em coexistência e, ainda, indicam que, em comunidade, esses fungos podem atuar de maneira distinta e específica ao hospedeiro mais compatível.

Esta é uma das possíveis explicações para o efeito positivo do aumento da diversidade de espécies de FMAs no solo sobre o crescimento de plantas em comunidade, estudado por van der Heijden et al. (1998b). O aumento da diversidade de espécies de FMAs aumentou a produção de biomassa e a diversidade de espécies e alterou a estrutura da comunidade de plantas, principalmente por favorecer as espécies subordinadas micotróficas. A biomassa das dominantes não micotróficas pouco foi alterada. A melhor exploração dos recursos do solo também foi um dos mecanismos atribuídos ao aumento da diversidade de FMAs, pois houve aumento na quantidade de micélio externo e, conseqüentemente, aumento da extração de fósforo do solo, acumulando-o na biomassa vegetal.

A adição dos benefícios individuais dos FMAs e o potencial de ocorrerem interações específicas planta-fungo também podem ser responsáveis pelo efeito positivo da diversidade desses fungos sobre o crescimento das plantas em comunidade (van der Heijden et al., 1998b). Também, o aumento da diversidade de FMAs, na comunidade presente no solo, pode aumentar as chances de estabelecimento de uma espécie de fungo mais eficiente para o crescimento das plantas. No entanto, a dificuldade para identificar os FMAs que

colonizam de fato as raízes é um fator que limita o entendimento do controle dessas relações.

A micotrofia das espécies vegetais e a compatibilidade diferenciada entre hospedeiros, indicando que combinações preferenciais entre comunidades de plantas e FMAs podem ser estabelecidas, são fatores chaves que podem permitir a coexistência de espécies, passando a idéia de exploração diferencial do ambiente pelos indivíduos em comunidade (Morin, 2000). A alteração das comunidades de espécies de FMAs no solo, principalmente quanto à diversidade e à composição da comunidade (Bever et al., 1996; Bever, 2002; Johnson et al., 1992 e 2003) e a heterogeneidade encontrada entre comunidades de FMAs em raízes de espécies naturalmente em coexistência (Vandenkoorhuyse et al., 2002, Vandenkoorhuyse et al., 2003; Scheublin et al., 2004) revelam a forte pressão de seleção e pareamento específico ou combinações preferenciais planta-fungo nas MAs.

Distintas composições de esporos na comunidade fungica foram induzidas sob diferentes hospedeiros, que naturalmente co-ocorrem (Bever, 2002). Verificou-se também que a taxa de crescimento da população de esporos de cada espécie depende do hospedeiro associado e da composição de espécies na comunidade fungica, atuando também o fator competição entre espécies de FMAs.

Combinações preferenciais planta-fungo podem ser direcionadas por uma seletividade funcional por parte dos hospedeiros. Isso pode ser evidenciado em estudos como o de Helgason et al. (2002) e o de Pouyu-Rojas et al. (2006), que avaliaram a seletividade e a diversidade funcional de espécies de FMAs. Helgason et al. (2002), estudando espécies de FMAs encontradas naturalmente juntas em solo sob vegetação de pradaria, verificaram que a espécie de FMA, que testada separadamente colonizou amplamente os hospedeiros estudados e aumentou o P acumulado na parte aérea das plantas, foi a espécie preferencial

em inóculo misto, dominando a colonização radicular (identificação por meio de PCR seguido de seqüenciamento)

Estudando distintos grupos funcionais de plantas, leguminosas nodulíferas e gramíneas, naturalmente em coexistência, Vandenkooruyse et al. (2002) e Scheublin et al. (2004) verificaram também, por meio de técnicas moleculares, que as comunidades de FMAs nas raízes eram muito diferentes entre estes grupos, quanto à diversidade e à abundância relativa das espécies. Parte da diversidade da comunidade de FMAs era comum entre os grupos, porém, algumas espécies eram mais abundantes em determinado grupo que em outro. No entanto, algumas espécies de FMAs somente ocorreram associadas a determinado grupo. Supostamente, diferenças de demandas nutricionais e fisiológicas específicas contribuíram para que as comunidades de FMAs fossem específicas ao grupo de plantas. Esta idéia é reforçada pela diferença existente entre a comunidade de FMAs encontrada em nódulos, em relação às demais partes das raízes das leguminosas (Scheublin et al., 2004).

A seletividade dos parceiros na formação das MAs pode ser outro forte determinante da composição da comunidade radicular de FMAs, explicando por que, mesmo em coexistência como nos estudos acima, determinadas espécies hospedaram ampla diversidade de FMAs (generalistas), enquanto em outras foram encontradas poucas espécies destes fungos (restritivas ou específicas). Pode também explicar por que determinadas espécies de fungo foram encontradas amplamente entre as espécies de planta estudadas e outras foram tão específicas quanto o hospedeiro ou parte do sistema radicular. Estes resultados concordam com os obtidos por Pouyu-Rojas et al. (2006), ao estudarem individualmente a compatibilidade simbiótica entre inúmeras combinações de espécies de planta e FMAs.

Um fato comum entre vários dos trabalhos analisados, envolvendo diversidade e estrutura de comunidades de plantas, é a associação destes fatores

com a heterogeneidade do ambiente. Tem sido muito enfatizado que quanto mais heterogêneo o ambiente, por exemplo, o solo, menor a predominância dos efeitos negativos da competição interespecífica, porque prevaleceria a exploração preferencial pelas espécies vegetais, contribuindo para um crescimento mais equilibrado entre as espécies. Portanto, o aumento da riqueza de espécies de FMAs, num ambiente limitado e homogêneo, poderia aumentar o potencial da exploração preferencial pelas espécies vegetais, devido ao potencial de ocorrerem interações específicas e resposta diferenciada das plantas à inoculação, interferindo na produtividade, na diversidade e na estrutura da comunidade de plantas. Porém, ainda não se sabe como a mistura ou riqueza de espécies de FMAs influencia o crescimento das plantas em competição.

2.4 Biologia molecular no estudo de comunidades de FMAs

A adoção da biologia molecular como ferramenta de estudo no campo da micorrizologia permitiu investigar, com mais detalhes, a interação entre os FMAs e seus hospedeiros, principalmente, com ênfase na comunidade fúngica nas raízes, tanto em relação à riqueza quanto à abundância relativa das espécies. Uma das técnicas empregadas com sucesso em estudos ecológicos de comunidades de microrganismos é a que envolve a reação em cadeia da polimerase (do inglês PCR), seguida de eletroforese em gel de poliacrilamida com gradiente desnaturante (do inglês, DGGE). O PCR-DGGE foi inicialmente desenvolvido para estudar mutações na área médica, porém, se mostrou uma excelente ferramenta para estudos relacionados à diversidade de comunidades de microrganismos no campo da ecologia (Muyzer et al., 1996; Muyzer & Smalla, 1998). O PCR-DGGE é capaz de separar fragmentos de DNA com o mesmo tamanho, porém, com seqüência de bases diferente e se baseia na mobilidade eletroforética da molécula de DNA em gel de poliacrilamida contendo um gradiente linear de desnaturação (Muyzer & Smalla, 1998).

Os FMAs ainda não podem ser multiplicados na ausência de um hospedeiro compatível, devido ao caráter de biotróficos obrigatórios, o que dificulta a identificação das espécies fúngicas que estão colonizando as raízes. Como é praticamente impossível a identificação precisa das espécies de FMAs pelas características anatômicas das estruturas fúngicas encontradas dentro das raízes, o emprego do PCR-DGGE permite o acesso rápido, sensível e pouco dispendioso, se comparado a outras técnicas moleculares, da comunidade de FMAs “*in situ*”, dispensando, ainda, o uso de culturas armadilhas (Kowalchuk et al., 2002).

A partir do final da década de 1990, com o desenvolvimento do *primer* AM1 (Helgason et al., 1998), foi possível estudar as comunidades ativas destes fungos, sendo possível separar, com eficiência, espécies de FMAs pelo caráter eletroforético específico. A região 18S é a porção do DNA micorrízico amplificada para esta análise, combinando-se um *primer* universal para eucariotos NS31 (Simon et al., 1992) com o *primer* específico para FMAs AM1. Esta região possui um nível de discriminação suficiente para a distinção de várias espécies, porém, outras regiões, incluindo regiões dentro do 18S, também podem ser utilizadas, dependendo do nível de especificidade necessário (Souza et al., 2004), pois, algumas espécies não são separadas analisando-se a mesma região.

Estudos recentes têm demonstrado a eficiência desta técnica em acessar a diversidade e a estrutura de comunidades naturais de FMAs em simbiose com *Ammophila arenaria* (Kowalchuk et al., 2002), *Pulsatilla* sp. (Öpik et al., 2003) e *Festuca pratensis* e *Achillea millefolium* (Santos et al., 2006) e também quantificar a heterogeneidade genética de FMAs pertencentes ao mesmo gênero (Souza et al., 2004). Estes estudos obtiveram sucesso detectando e identificando espécies de FMAs diretamente de amostras de raízes, assim como de solo e esporos, indicando a robustez e a versatilidade do PCR-DGGE, sendo ideal

também para estudos sob condições de campo. Porém, há algumas limitações, como erros introduzidos pelos desvios de amplificação da polimerase, na etapa de PCR, devido a reações inespecíficas. Estas reações inespecíficas são capazes de formar artefatos, denominados de quimeras ou heteroduplex (Qiu et al., 2001), os quais podem produzir perfis de bandas no gel de DGGE sem nenhuma relação com as bandas produzidas pelo DNA do organismo alvo, podendo dificultar a correta interpretação dos géis. Porém, isto se torna mais limitante na ausência de um padrão de bandas definido a partir da cultura pura dos organismos envolvidos no estudo.

Outros fatores também devem ser considerados durante a interpretação dos dados gerados pelo PCR-DGGE. Por exemplo, apenas populações com abundância relativa superior a 1%-2% são detectadas pela análise (Muyzer & Smalla, 1998), ou seja, aquelas populações raras não são identificadas, subestimando a diversidade real, indicando que os resultados refletem as espécies predominantes na comunidade. Isto pode justificar a baixa correlação entre a diversidade de FMAs determinada pelo PCR-DGGE e a determinada pela contagem de esporos no estudo de Kowalchuk et al. (2002). Neste estudo, as espécies com baixa densidade de esporos não foram detectadas pela análise molecular. No entanto, esta correlação foi boa em relação às espécies dominantes na comunidade. Mesmo com certas limitações, o PCR-DGGE tem se mostrado uma excelente alternativa para estudos mais detalhados envolvendo FMAs.

Diante das evidências de resposta diferenciada das espécies hospedeiras combinadas com diferentes espécies de FMAs e evidências de pareamento preferencial entre os parceiros nesse tipo de simbiose, a riqueza de FMAs no solo pode ter conseqüências para o crescimento de plantas. Portanto, avanços neste tema são oportunos e necessários, principalmente estudando aspectos desta simbiose com relação às comunidades de plantas e FMAs.

3 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em casa de vegetação, no Departamento de Ciência do Solo da Universidade Federal de Lavras (DCS-UFLA), por 120 dias, entre os meses de novembro de 2006 e março de 2007. Foi utilizado como substrato uma mistura de um Latossolo Vermelho distrófico (LVd) muito argiloso com areia de rio lavada e esterilizada em forno à temperatura de 800°C, na proporção de 2:1 (v/v).

O solo foi coletado na profundidade de 05-30 cm em área sob fragmento de mata nativa subcaducifólia, no campus da UFLA, tendo sido identificadas as seguintes características químicas: pH= 5,2; P= 1,2 mg dm⁻³; K= 17 mg dm⁻³; Ca= 0,3 cmol_c dm⁻³; Mg= 0,1 cmol_c dm⁻³; H + Al= 7,9 cmol_c dm⁻³; SB= 0,4 cmol_c dm⁻³; T= 8,3 cmol_c dm⁻³; MO= 4,3 dag kg⁻¹.

O solo foi tratado com brometo de metila (98 % -brometo de metila + 2% - cloropicrina), na dosagem de 393 cm³ m⁻³, para eliminar os propágulos de FMAs nativos. Depois de decorrido o período de incubação com calcário dolomítico (PRNT=100%), elevando a saturação por bases a 60% (Raij, 1981), foi adicionado superfosfato triplo moído, de modo a se obter 0,02 e 0,2 mg kg⁻¹ de P em solução, conforme indicado para essências arbóreas nativas e solos da região (Siqueira & Saggin-Júnior, 2001). Segundo Habte & Manjunath (1991), estes teores de P na solução do solo são definidos como baixos, porém, ideais para se obter elevado grau de micorrização e alto ou ótimo para o adequado crescimento da maioria das espécies vegetais na ausência de FMAs.

Após a aplicação de superfosfato triplo, os teores de P no solo subiram, passando de 1,2 mg dm⁻³ para 3,7 mg dm⁻³ (equivalente a 0,02 mg kg⁻¹ de P disponível em solução) e 16,4 mg dm⁻³ (equivalente a 0,2 mg kg⁻¹). Estes valores concordam com os obtidos por Siqueira & Saggin-Júnior (2001), utilizando o mesmo extrator de P (Mehlich 1) e tipo de solo. As doses de superfosfato triplo

para se obter estes teores de P no solo foram de 0,3 g e 2,4 g kg⁻¹ de solo seco, respectivamente.

Foram realizados cinco experimentos: um com quatro espécies vegetais em crescimento conjunto em caixas plásticas de 40 dm³, simulando uma comunidade na fase juvenil e outros quatro com estas espécies crescendo individualmente em vasos de 3 dm³. Os tratamentos em cada experimento constaram de um controle não inoculado e a inoculação com 1, 2, 4 e 8 espécies de FMAs em substrato com 0,02 mg kg⁻¹ de P em solução. Os fungos empregados na inoculação foram obtidos da coleção do Laboratório de Microbiologia da UFLA. Foi ainda empregado um sexto tratamento, tido como referência, o qual também não foi inoculado com FMAs, porém, a concentração de P na solução do solo foi de 0,2 mg kg⁻¹.

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, com cinco tratamentos de inoculação, sendo um não inoculado (NI) e quatro situações de riqueza de espécies de FMAs (Tabela 2) e um tratamento referência com nível alto de P no solo (AP), com 5 repetições. As espécies *Glomus etunicatum* e *Acaulospora scrobiculata* são originárias de agrossistema de café, *Gigaspora margarita* e *Scutellospora heterogama* de agrossistema de milho, *Gigaspora gigantea* e *Glomus clarum* de pastagem de capim-braquiária e *Scutellospora pellucida* e *Entrophospora colombiana* originários de ecossistema de cerrado nativo, mantidas em vasos de cultivo com *Brachiaria decumbens*. A combinação de espécies de FMAs, nos diversos tratamentos de inoculação, foi direcionada de modo que a heterogeneidade filogenética fosse ampla dentre as opções de FMAs disponíveis para o estudo. Estas espécies foram escolhidas de acordo com a disponibilidade de inóculo e o envolvimento em outros estudos do Laboratório de Microbiologia e Bioquímica do Solo do DCS-UFLA, com essências florestais nativas. O *Glomus etunicatum* foi escolhido para compor todos os tratamentos com FMAs, pois foi amplamente empregado em estudos

deste laboratório com várias espécies vegetais, incluindo essências florestais, sendo obtidos resultados positivos para o desenvolvendo de plantas arbóreas nativas do Brasil, seguida da *Gigaspora margarita*, conforme evidenciado na Tabela 1 e, além disso, é considerada eficiente em aumentar o crescimento das espécies vegetais envolvidas neste estudo (Pouyú-Rojas et al., 2006).

TABELA 2. Esquema dos tratamentos de inoculação com FMAs

| Tratamentos/inoculação | Número de espécies de FMAs |
|------------------------|---|
| NI | Nenhuma |
| R1 | <i>Glomus etunicatum</i> |
| R2 | <i>Glomus etunicatum</i> + <i>Gigaspora margarita</i> |
| R4 | <i>Glomus etunicatum</i> + <i>Gigaspora margarita</i> + <i>Acaulospora scrobiculata</i> + <i>Scutellospora heterogama</i> |
| R8 | <i>Glomus etunicatum</i> + <i>Gigaspora margarita</i> + <i>Acaulospora scrobiculata</i> + <i>Scutellospora heterogama</i> + <i>Gigaspora gigantea</i> + <i>Glomus clarum</i> + <i>Scutellospora pellucida</i> + <i>Entrophospora colombiana</i> |

NI= não inoculado, R= níveis de riqueza de espécies de FMAs no solo.

Para compor o inóculo utilizado no experimento, foi coletado solo inóculo dos vasos de multiplicação, contendo esporos, hifas e raízes colonizadas. Estes vasos de multiplicação foram cultivados com *Brachiaria decumbens* e tiveram a carga de esporos previamente avaliada antes da coleta do solo inóculo. Foram aplicados cerca de 7.000 esporos por caixa plástica de 40 dm³ e cerca 640 esporos por vaso de três dm³, sendo aplicados a, aproximadamente, 5 cm da superfície do solo no momento do transplante das mudas das espécies vegetais estudadas. No inóculo misto, o número total de esporos foi igualmente dividido pelo número de espécies de FMAs deste inóculo.

As espécies arbóreas estudadas foram duas pioneiras (*Trema micrantha* Blume – trema e *Schinus terebenthifolius* Raddi– aroeirinha), uma secundária

inicial (*Senna macranthera* (Vell.) Irw.& Barn.– fedegoso) e uma secundária tardia (*Caesalpineia ferrea* Mart.– pau-ferro) (Lorenzi, 2000; Mítzi et al., 2002). As sementes, fornecidas pelo Departamento de Ciências Florestais da UFLA, foram desinfestadas superficialmente com hipoclorito de sódio (1% de cloro), submetidas à quebra de dormência quando necessário, segundo Davide et al. (1995) e germinadas em bandejas com areia esterilizada.

Os vasos, previamente preparados com os diferentes tratamentos, receberam as plântulas, as quais foram padronizadas quanto à altura e ao vigor. Para o ensaio em crescimento conjunto foram transplantadas 36 plantas por vaso, sendo 9 plantas de cada espécie, distribuídas de forma aleatória nos vasos. Para os ensaios com as espécies vegetais em crescimento individual, foi transplantada uma planta por vaso. Visando equilibrar a microbiota entre os tratamentos inoculados e não inoculado, este último recebeu um filtrado do inóculo isento de propágulo micorrízicos. Após trinta dias do transplântio, as plantas receberam solução de Hoagland sem fósforo, a 50% da concentração original (Hoagland & Arnon, 1950), sendo 25 mL para o vaso de 3 dm³ e 335 mL para a caixa de 40 dm³ e cuja aplicação foi repetida em intervalos de 21 dias. O experimento também recebeu adubação potássica, via solução, na dose de 150 mg dm⁻³ solo de K₂O, dividida em duas aplicações, em intervalos de trinta dias. A irrigação dos vasos foi realizada de modo a manter a umidade do solo próximo da capacidade de campo, com base no volume total de poros.

O experimento foi avaliado aos 60, 90 e 120 dias após o transplântio, determinando-se a altura e o diâmetro do caule das plantas. Aos 120 dias, as plantas foram coletadas e separadas em parte aérea e raízes. Após cuidadosa separação e lavagem das raízes das quatro espécies, coletou-se aproximadamente 1g de raízes frescas, de cada espécie por tratamento, realizando-se a clarificação e coloração (Phillips & Haymann, 1970) e posterior avaliação da colonização micorrízica (Giovannetti & Mosse, 1980).

Após secagem do material vegetal em estufa de circulação de ar forçada a 60 °C, até peso constante, foi determinada a massa seca da parte aérea (MSPA) e raízes (MSR). A massa seca total de cada espécie em crescimento conjunto foi dividida pelo número de plantas na população (nove plantas). A MSPA foi moída para análise dos teores de macro e micronutrientes após digestão nitroperclórica (Zarosky & Baurau, 1977).

No extrato, Ca, Mg, Zn e Cu foram determinados por espectrofotometria de absorção atômica, P e S por colorimetria e K por fotometria de chama enquanto o nitrogênio foi determinado pelo método semimicro Kjeldahl (Liaio, 1981). Após a condução do experimento também foi determinada a densidade de esporos total e por espécie fungica no substrato em que as plantas cresceram, após extração dos esporos via peneiramento úmido (Gerdemann & Nicolson, 1963), seguido de centrifugação com água e solução de sacarose (500 g L⁻¹) e contagem em microscópio estereoscópio com aumento entre 20x a 40x.

Para as análises moleculares coletaram-se 3 g de raízes frescas, estas foram cuidadosamente lavadas em água de torneira para eliminar os propágulos externos dos FMAs e armazenadas em álcool etílico 70%, para posterior extração de DNA fúngico e análise da mobilidade eletroforética em GEL de Eletroforese com gradiente desnaturante (DGGE) (Muyzer & Smalla, 1998). Os ácidos nucléicos (DNA) foram extraídos utilizando-se o tampão CTAB (brometo de cetiltrimetilamônio), originalmente desenvolvido para extração de DNA vegetal (Ferreira & Grattapaglia, 1998), seguindo protocolo de análise do Laboratório de Micologia da Embrapa-Agrobiologia. Após secagem em estufa, a 60°C, para eliminar o resíduo de álcool etílico, as raízes foram maceradas em almofariz com nitrogênio líquido. Cerca de 50 mg deste macerado foi transferido para um microtubo de 2,0 mL e posteriormente adicionados 800 µL de tampão CTAB 2% e 0,1 mg de proteinase K.

Os passos seguintes até a completa extração do DNA foram: 1) agitar em vortex por 3s; 2) incubar, a 60°C, por 1 hora; 3) precipitação de proteínas com adição de 500 µL de fenol:clorofórmio:álcool isoamílico (25:24:1); 4) homogeneizar por inversão; 5) centrifugar, por 10 minutos, a 13.000g (temperatura de 4°C); 6) transferir a fase aquosa (superior) para um novo microtubo; 7) lavar com 500 µL de clorofórmio:álcool isoamílico (24:1) para retirar os resíduos de fenol; 8) centrifugar, por 10 minutos, a 13.000 g (temperatura de 4°C); 9) transferir a fase aquosa (superior) para um novo microtubo; 10) precipitar o DNA com a adição de 1 mL de isopropanol e incubar, a -20°C, durante a noite; 11) centrifugar, por 15 minutos, a 13.000 g (temperatura de 4°C); 12) descartar o isopropanol; 13) lavar o pellet com 150 µL de etanol 70%; 14) centrifugar, por 15 minutos, a 13.000 g (temperatura de 4°C); 15) descartar o etanol 70%; 16) secar o pellet ao ar e 17) ressuspender o DNA em 30 µL de tampão TE (10:1). A qualidade da extração foi verificada em gel de agarose a 1% e o DNA aliquoteado e armazenado, a -20°C, até ser utilizado.

O DNA dos FMAs estudados também foi extraído direto dos esporos destes fungos em cultura pura, com o objetivo de identificar o comportamento eletroforético característico de cada espécie, construir um padrão para as oito espécies de FMAs estudadas e compará-lo com os padrões obtidos das raízes colonizadas. Após a extração dos esporos do solo inóculo, armazenado a -80°C, utilizado no experimento, segundo metodologia de Gerdemann & Nicolson (1963), esporos de cada uma das oito espécies de FMAs foram cuidadosamente selecionados sob microscópio estereoscópio e submetidos à limpeza por ultrassonificação, por 15 segundos e armazenados, a -20°C, em água ultrapura autoclavada até o uso, segundo protocolo de análise do Laboratório de Micologia da Embrapa-CNPAB. Para esta extração de DNA foram utilizados o tampão Tris-HCl 10 mM + EDTA 1 mM (TE 10:1), pH= 8,0 e a resina Chelex

100 (20%) (Laboratórios Bio-Rad) . Cerca de 30 esporos de cada espécie foram colocados em um tubo de extração de 1,5 mL, adicionados 80 µL de tampão TE mais 40 µL da resina Chelex 100 e a maceração feita com micropistilo no próprio tubo. Os tubos foram incubados, a 95°C, por 10 minutos e, depois, centrifugados, a 10.000 g, por 2 minutos, a 4°C. O sobrenadante foi cuidadosamente transferido para novo tubo e armazenado, a -20 °C, até o uso.

De acordo com o protocolo de análise (Laboratório de Micologia/Embrapa-Agrobiologia), após a extração, o DNA bruto foi diluído na razão de 1:20 e 1 µL foi utilizado como “template” no primeiro PCR. O volume da reação foi de 15 µL, sendo o “mix” composto por 1,5 µL de tampão para PCR (10 x), 1,5 µL de DNTPs (10 x), 0,75 µL de MgCl₂ (50 mM), 0,9 µL de proteína bovina (BSA) (3 mg mL⁻¹), 0,15 µL de formamida, 0,08 µL de cada *primer* (100 µM), 0,15 µL de DNA polimerase (5U µL⁻¹) e o restante do volume completado com água para PCR. Neste primeiro PCR foram utilizados os *primers* NS1 e seu reverso NS4. O produto do primeiro PCR foi diluído na razão 1:100 e 1 µL foi utilizado como “template” no “PCR-nested” (Kowalchuk et al., 2002). O volume desta reação foi de 30 µL, sendo o “mix” composto por 3 µL de tampão para PCR (10 x), 3 µL de DNTPs (10 x), 1,2 µL de MgCl₂ (50 mM), 0,3 µL de formamida, 0,15 µL de cada “primer” (100 µM), 0,3 µL de DNA polimerase (5U µL⁻¹) e o restante do volume completado com água para PCR. No PCR-nested foram utilizados os *primers* NS31 (Simon et al., 1992) com um grampo de GC (Kowalchuk et al., 2002) e seu reverso AM1 (Helgason et al., 1998) que amplifica preferencialmente o DNA de FMA, sendo amplificada a região 18S (SSU). Tanto no primeiro PCR quanto no “PCR-nested”, a concentração final de DNTPs no “mix” foi de 200 µM, 0,5 µM de cada *primer* e 2,5 mM de Mg. Após a amplificação do DNA, cerca de 30µL do produto de “PCR-nested” de cada amostra foram aplicados no gel de poliácridamida e

iniciada a eletroforese, com 200 V, por 10 minutos, seguidos de mais 16 horas a 75V e temperatura do tampão de corrida de 60°C. O gradiente de desnaturação no gel de poliacrilamida com espessura de 1,2 mm e altura de 20cm variou de 30% a 45%, para o qual 100% de desnaturante equivale a 7M de uréia e 40% de formamida.

Após o período necessário para a corrida eletroforética, os géis foram corados com brometo de etídio e digitalizados em transluminador de luz UV com capturador de imagem, para posterior composição da base de dados do programa “Gel-compar” (BioSystematica, UK). Esse programa possibilita a padronização dos géis, permitindo a comparação entre amostras de géis diferentes, além de outros recursos.

Para auxiliar o entendimento dos dados de crescimento das plantas foi determinada a variabilidade para a população de cada espécie em crescimento conjunto. A variabilidade foi indiretamente determinada pelo cálculo da variância para a produção de MSPA dentro da população de plantas da mesma espécie. Esta variância foi calculada por meio da base estatística da planilha eletrônica Excel (Microsoft Office Excel 2003) por meio da fórmula $(var = \frac{\sum(x - x'')^2}{n-1})$, em que x = MSPA de um indivíduo na população, x'' = MSPA média da população e n = tamanho da população.

Os dados foram submetidos à análise de variância e ao teste de média (Scott-Knott, a 5% confiança) pelo programa estatístico Sisvar (Ferreira, 2000), sendo os resultados de colonização micorrízica transformados pelo arco seno $(x/100)^{1/2}$.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Crescimento das plantas

O crescimento das plantas foi influenciado pelos tratamentos, tanto sob a condição de crescimento individual quanto conjunta, das quatro espécies vegetais estudadas (Figura 1).

Destaca-se o efeito positivo da inoculação com FMAs para a resposta das plantas em crescimento, em relação ao tratamento não inoculado (NI), confirmando a necessidade da simbiose micorrízica na fase inicial de crescimento destas espécies arbóreas nativas em solo de baixa fertilidade. Resultados desta natureza também foram obtidos em estudos que avaliaram o efeito da inoculação e os níveis de fertilidade do solo sobre o crescimento da trema e fedegoso inoculados com *Glomus etunicatum* (Paron et al., 1997), para o fedegoso, aroeira e mais outras cinco espécies inoculadas com mistura de três espécies de FMAs (Pouyu-Rojas & Siqueira, 2000) e várias espécies arbóreas, pertencentes a diferentes grupos sucessionais, inoculadas com mistura de *G. etunicatum* mais *Gigaspora margarita* ou apenas *G. etunicatum* (Carneiro et al., 1996; Siqueira et al., 1998; Siqueira & Saggin-Júnior, 2001) e fungos nativos de áreas de ocorrência natural dessas espécies arbóreas (Zangaro et al. 2002).

Além do efeito positivo da inoculação para o crescimento das plantas, em solo de baixa fertilidade, também observado por Flores-Aylas et al. (2003), para seis espécies arbóreas nativas em crescimento conjunto, os resultados do presente estudo confirmam o benefício da inoculação para o crescimento mais equilibrado entre as espécies, principalmente em relação ao tratamento com teor mais elevado de P no solo, dominado pela trema, conforme verificado na Figura 1 e confirmado pelos resultados de massa seca de parte aérea apresentados mais à frente.

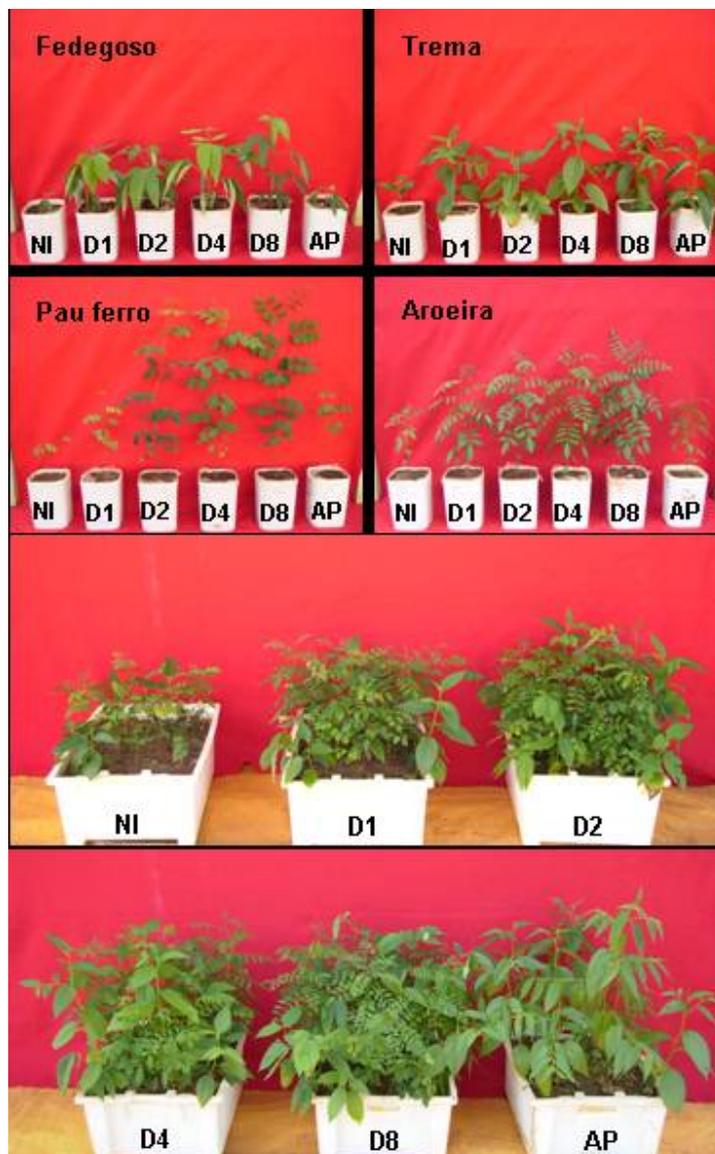


FIGURA 1 Aspecto do crescimento individual e em conjunto das quatro espécies vegetais estudadas, aos 120 dias do transplantio. NI= não inoculado. R1= *G. etunicatum*. R2= *G. etunicatum* + *Gi. margarita*. R4= *G. etunicatum* + *Gi. margarita* + *S. heterogama* + *A. scrobiculata*. R8= *G. etunicatum* + *Gi. margarita* + *S. heterogama* + *A. scrobiculata* + *G. clarum* + *Gi. gigantea* + *S. pellucida* + *E. colombiana*. AP= nível alto de P no solo.

A massa seca da parte aérea (MSPA) das quatro espécies de planta em crescimento conjunto e individual foi muito influenciada pelos tratamentos (Figura 2). A menor produção de biomassa, sob a condição de crescimento conjunto, ocorreu no tratamento não inoculado (NI) e a maior no tratamento com o maior nível de riqueza de espécies de FMAs (R8). Em todos os tratamentos com FMAs a MSPA foi maior que a observada no tratamento NI, indicando benefício da presença dos FMAs para o aumento da biomassa da comunidade de plantas. Isso também foi verificado por Grime et al. (1987), para espécies de pequeno porte e por Flores-Aylas et al. (2003), para arbóreas em fase inicial de crescimento.

A variação da riqueza de espécies de FMAs no solo induziu a um aumento coincidente entre a biomassa das plantas e o número de espécies na comunidade desses fungos, indicando a necessidade de uma comunidade mais diversa em espécies de FMAs para uma melhor performance das plantas. Estes resultados concordam com os obtidos por van der Heijden et al. (1998b), para espécies de plantas oriundas de pastagens nativas na Europa. Entre os tratamentos inoculados, aquele com uma única espécie de FMA foi inferior aos demais e o tratamento com a máxima riqueza estudada induziu à maior produção de MSPA, enquanto os tratamentos intermediários não diferiram entre si. Em relação ao tratamento com nível alto de P no solo, verificou-se que este foi superior ao NI e R1 e inferior a R8, mas proporcionou crescimento das plantas semelhante ao verificado nos tratamentos com níveis intermediários de riqueza de FMAs.

Quando as quatro espécies vegetais cresceram separadamente, verificou-se que a MSPA também variou em função do tratamento, porém, sob esta condição, o comportamento geral foi um pouco diferente do observado em crescimento conjunto. Houve efeito positivo da inoculação e também do aumento no teor de P no solo para a MSPA, em relação ao tratamento NI. Todos

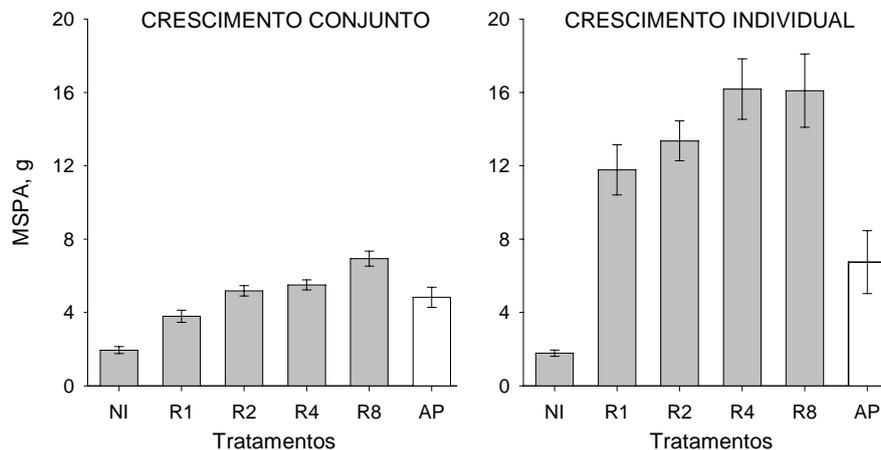


FIGURA 2 Biomassa seca da parte aérea das quatro espécies vegetais, crescidas em conjunto (a biomassa seca total por espécie foi dividida por 9, este era o número de plantas na população de cada espécie) e individualmente. NI= não inoculado, AP= nível alto de P no solo, R= níveis de riqueza espécies de FMAs no solo (R1= *G. etunicatum*. R2= *G. etunicatum* + *Gi. margarita*. R4= *G. etunicatum* + *Gi. margarita* + *S. heterogama* + *A. scrobiculata*. R8= *G. etunicatum* + *Gi. margarita* + *S. heterogama* + *A. scrobiculata* + *G. clarum* + *Gi. gigantea* + *S. pellucida* + *E. colombiana*). Barras representam o erro padrão da média.

os tratamentos com FMAs foram superiores ao tratamento com nível alto P no solo. Os tratamentos com uma e duas espécies de FMAs na comunidade não diferiram entre si e foram inferiores aos de maior riqueza de espécies. Entre estes últimos, também não houve diferença. Isso pode ser verificado na Figura 3, que permite comparar a evolução da produção de biomassa da parte aérea sob as duas condições de crescimento, em relação ao incremento relativo de riqueza de FMAs. Sob a condição de crescimento individual, a produção de biomassa tende a se estabilizar entre os tratamentos de maior riqueza de FMAs, enquanto, sob crescimento conjunto, há forte tendência de aumento linear da biomassa associada ao aumento da riqueza de espécies de FMAs no solo. Verifica-se que o

efeito do incremento na riqueza de espécies de FMAs no solo para o acúmulo de biomassa destas plantas é dependente da condição de crescimento, sendo mais evidente sob a condição de competição das plantas.

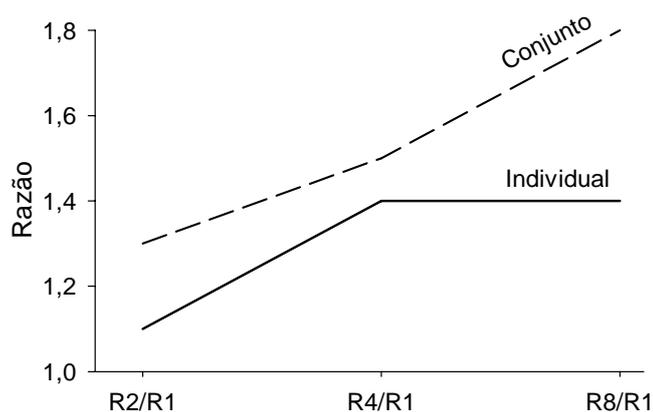


FIGURA 3 Relação de produção de biomassa em função do aumento da riqueza de FMAs em crescimento conjunto e individual. R1= *G. etunicatum*. R2= *G. etunicatum* + *Gi. margarita*. R4= *G. etunicatum* + *Gi. margarita* + *S. heterogama* + *A. scrobiculata*. R8= *G. etunicatum* + *Gi. margarita* + *S. heterogama* + *A. scrobiculata* + *G. clarum* + *Gi. gigantea* + *S. pellucida* + *E. colombiana*.

Analisando-se a produção de biomassa em separado para cada espécie vegetal, verifica-se comportamento diferenciado entre elas, em relação a cada tratamento e, também, que houve diferença entre os tratamentos para a mesma espécie (Figura 4). O crescimento das plantas em resposta à inoculação com FMAs é dependente das espécies vegetais estudadas e varia tanto entre grupos sucessionais quanto entre espécies do mesmo grupo, conforme verificado por Siqueira & Saggin-Junior (2001) e Zangaro et al. (2002), sobre crescimento individual das espécies vegetais e por Flores-Aylas et al. (2003), estudando estas espécies arbóreas nativas em crescimento conjunto. A resposta diferenciada das

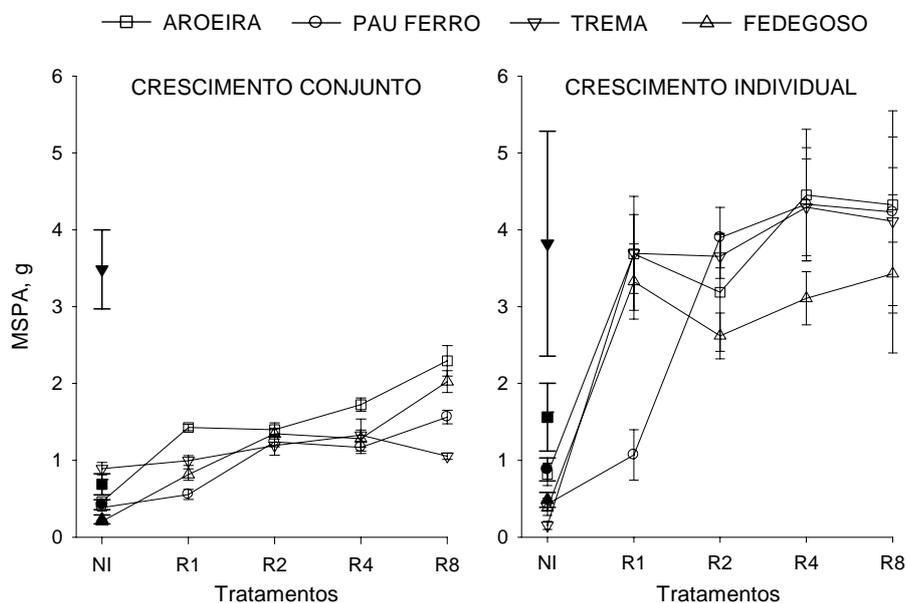


FIGURA 4 Biomassa seca da parte aérea por espécie vegetal, em crescimento conjunto (a biomassa seca total por espécie foi dividida por 9, que era o número de plantas na população de cada espécie) e individual. Barra representa o erro padrão da média. NI= não inoculado, símbolo cheio na posição NI= alto P no solo, R= níveis de riqueza espécies de FMAs no solo (R1= *G. etunicatum*. R2= *G. etunicatum* + *Gi. margarita*. R4= *G. etunicatum* + *Gi. margarita* + *S. heterogama* + *A. scrobiculata*. R8= *G. etunicatum* + *Gi. margarita* + *S. heterogama* + *A. scrobiculata* + *G. clarum* + *Gi. gigantea* + *S. pellucida* + *E. colombiana*). Barras representam o erro padrão da média.

plantas tem sido verificada também entre tratamentos de inoculação para a mesma espécie vegetal, conforme estudos de Pouyu-Rojas et al. (2006) e Santos et al. (2007), indicando a existência de compatibilidade diferenciada nas combinações planta-fungo.

Sob a condição de crescimento conjunto, apenas a trema não respondeu ao tratamento com o *G. etunicatum* como única espécie inoculada, em relação ao NI e, apesar de ter respondido à inoculação quando a comunidade fúngica era composta por mais de uma espécie de FMA, não houve a mesma tendência de incremento da biomassa associado ao aumento da riqueza de espécies de FMAs verificada para as demais espécies vegetais. A trema também foi a única espécie

em que o crescimento máximo foi obtido no tratamento com alto P no solo. Para as demais espécies, este crescimento máximo foi verificado quando inoculadas. A trema é considerada menos MA-dependente que as demais espécies, o que pode explicar sua melhor habilidade em crescer na ausência de FMAs, principalmente sob níveis mais elevados de P no solo (Paron et al., 1997; Siqueira & Saggin-Júnior, 2001, Flores-Aylas et al., 2003). Sob condição de competição, aquelas espécies mais dependentes da condição micorrízica são as mais beneficiadas na presença dos FMAs (Scheublin et al., 2007) e, conforme os resultados do presente estudo, este efeito é potencializado com o incremento da riqueza de espécies de FMAs associada.

Crescendo individualmente, o comportamento das quatro espécies vegetais apresentou tendência de resultados diferentes dos verificados em crescimento conjunto. Para aroeira, trema e fedegoso houve efeito da inoculação em relação ao não inoculado; no entanto, entre os tratamentos inoculados, não foi verificada diferença significativa. Já para o pau-ferro, no tratamento com *G. etunicatum* (R1), como única espécie da comunidade, houve um pequeno incremento de MSPA, em relação ao NI. Ao crescer associado a uma comunidade com duas ou mais espécies de FMAs, houve grande resposta em crescimento em relação a R1, indicando benefício com o incremento da riqueza de espécies de FMAs. Porém, não houve diferença entre os tratamentos com mais de uma espécie fúngica na comunidade do solo.

Assim, foi verificado que o efeito da riqueza de espécies de FMAs é mais evidente quando as espécies de planta crescem em conjunto, ou seja, condição mais próxima da encontrada na natureza. Isso fica mais claro ao analisar-se a relação de incremento médio da biomassa, por espécie de planta, entre os tratamentos com extremos de riqueza de espécies de FMAs R1 e R8 (Figura 4). Enquanto, sob crescimento conjunto, esta relação média entre as espécies indicou que a biomassa mais que dobrou de R1 para R8 ($R8/R1$ para a

trema = 1,6; aroeira = 1,7; pau-ferro = 2,7; fedegoso = 3,0), sob crescimento individual esta relação foi próxima de um (trema = 1,02; aroeira = 1,01; fedegoso = 1,09), praticamente sem aumento da biomassa, exceção feita ao pau-ferro, que cresceu pouco em R1 e, por isso, apresentou relação R8/R1 de 3,2. Outro ponto importante é que o efeito do aumento da riqueza de espécies de FMAs varia muito com a espécie vegetal estudada, ressaltando a resposta diferenciada entre as espécies à inoculação (Siqueira & Saggin-Junior, 2001) e também aspectos da compatibilidade fungo-planta (Smith et al., 2004; Pouyu-Rojas et al., 2006).

É importante salientar, também, que houve tendência de diferença entre a MSPA das espécies em crescimento conjunto, em comparação ao crescimento individual (Figura 2). Para o tratamento NI, houve ligeira vantagem para as plantas crescidas em conjunto, enquanto que, inoculadas ou com alto P no solo, esta tendência de diferença aumentou e a vantagem passou a ser das plantas crescidas individualmente. Isso pode estar ligado à menor limitação de recursos como luz, água e, principalmente, nutrientes e à ausência de competição intra e interespecífica, sob a condição de crescimento individual. Esta tendência geral de resultados também foi observada quando se analisou o comportamento da MSPA por espécie vegetal (Figura 4).

A altura das plantas foi distinta entre as espécies estudadas, quanto ao tratamento e também foi muito influenciada pela época de avaliação (Figura 5). Aos dois meses após a implantação do experimento, foi verificado pouco efeito dos tratamentos para a altura das plantas, tanto em crescimento conjunto quanto individualmente das espécies (Figura 5 a, b). Em relação ao tratamento NI, a inoculação apresentou leve tendência de efeito, como pode ser verificado para o fedegoso crescendo individualmente e também para as quatro espécies hospedeiras em crescimento conjunto.

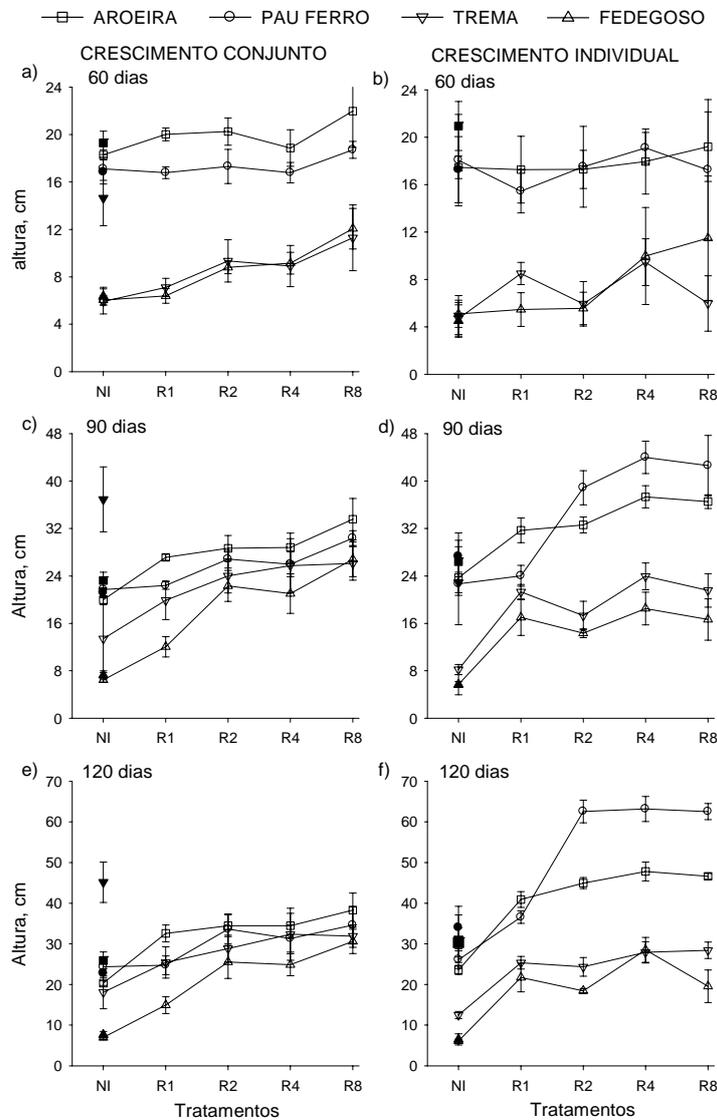


FIGURA 5 Altura das plantas aos 60, 90 e 120 dias após o transplântio, sob condição de crescimento conjunto e individual. NI= não inoculado, símbolo cheio na posição NI= nível alto de P no solo, R= níveis de riqueza de espécies de FMAs no solo (R1= *G. etunicatum*. R2= *G. etunicatum* + *Gi. margarita*. R4= *G. etunicatum* + *Gi. margarita* + *S. heterogama* + *A. scrobiculata*. R8= *G. etunicatum* + *Gi. margarita* + *S. heterogama* + *A. scrobiculata* + *G. clarum* + *Gi. gigantea* + *S. pellucida* + *E. colombiana*). Barra representa o erro padrão da média.

Em todas as situações, este efeito foi mais evidente para o tratamento com a maior riqueza de FMAs, oito espécies no total, apesar de, para o fedegoso e para a trema, em crescimento conjunto, esta tendência de incremento na altura, em relação ao NI, tenha sido verificada também para tratamentos de menor riqueza, como R2 e R4, porém, inferiores a R8. Apenas para a trema em crescimento conjunto o tratamento com nível alto de P no solo se destacou dos demais, ressaltando a maior habilidade desta espécie para crescer na ausência de FMAs e responder a P.

Aos três meses após o transplântio já era clara a variação de resultados entre os tratamentos (Figura 5 c, d). Em crescimento conjunto e individual, houve efeito positivo da presença de FMAs para a altura das quatro espécies de hospedeiros estudadas. O único hospedeiro que não respondeu a todos os tratamentos com FMAs foi o pau-ferro. Crescendo em conjunto com as outras espécies vegetais ou individualmente, o pau-ferro não respondeu ao tratamento R1, porém, nos tratamentos seguintes, verificou-se efeito positivo para a altura das plantas e ainda houve tendência de aumento desta variável associada ao aumento na quantidade de espécies de FMAs na comunidade destes fungos no solo. Esta tendência de resposta positiva ao aumento na riqueza de espécies de FMAs também foi verificada para as outras espécies de planta, principalmente sob crescimento conjunto.

A maior resposta ao tratamento com nível alto de P no solo foi verificada para a trema, principalmente, em condição de crescimento conjunto. O pau-ferro e a aroeira também responderam a este tratamento, porém, a resposta, em relação ao NI, foi pequena comparada à da trema, tendo o pau-ferro respondido a este tratamento somente crescendo individualmente. Já o fedegoso não respondeu à dose de P estudada, indicando que para que estas três espécies cresçam na ausência de FMAs, elas exigem uma quantidade externa de P no solo maior que a trema.

Na ausência de inoculação verifica-se ampla diferença de crescimento entre as espécies vegetais, como pode ser visto nos tratamentos NI e alto P, havendo variação quanto à espécie dominante em altura na comunidade artificial de plantas. Quando inoculadas, houve melhor equilíbrio entre as espécies e este equilíbrio tendeu a aumentar com o aumento de espécies na comunidade de FMAs, principalmente entre os extremos de riqueza destes fungos.

Este comportamento não apresenta boa relação quando as espécies estão em crescimento individual (Figura 5 d). Esta excelente relação entre o efeito precoce dos FMAs para o crescimento das plantas e a eficiência destes em estádios posteriores do crescimento dos hospedeiros, também verificada por Santos et al. (2007) para arbóreas nativas, ajuda a explicar o melhor resultado do tratamento R8 em relação aos demais, no final do período de condução do experimento.

De modo geral, a tendência dos resultados observados aos 120 dias foi muito parecida com a verificada aos 90 dias de implantação do experimento e, diante disso, houve apenas uma confirmação do comportamento, verificado aos três meses de crescimento (Figura 5 e, f). No entanto, aos 120 dias, houve maior tendência de a altura das plantas crescidas em conjunto ser menor que a das plantas crescidas individualmente, indicando um esgotamento mais intenso dos recursos sob cultivo conjunto. Isso sugere que as limitações para o crescimento das plantas em conjunto foram maiores que individualmente, podendo ser uma justificativa para o efeito mais evidente da riqueza de espécies de FMAs para a produção de biomassa sob a primeira condição (Figuras 2 e 3). Isto, pois, preconiza-se que a importância desta simbiose para as plantas aumenta na medida que aumentam também as limitações do ambiente para o adequado crescimento delas (Siqueira & Saggin-Júnior, 1995 e Smith & Read, 1997).

Outro parâmetro do crescimento das plantas estudado foi a relação da massa seca de raiz sobre a massa seca de parte aérea. Tanto em crescimento

conjunto quanto em crescimento individual os diversos tratamentos estudados influenciaram esta relação, para as quatro espécies hospedeiras (Figura 6).

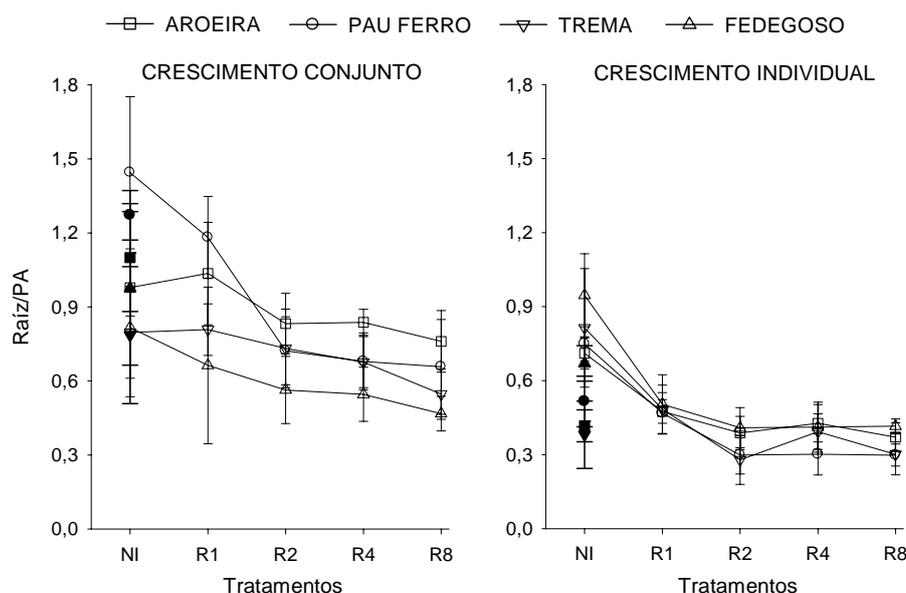


FIGURA 6 Relação da massa seca de raiz sobre massa seca de parte aérea, sob condição de crescimento conjunto e individual. NI= não inoculado, símbolo cheio na posição NI= nível alto de P no solo, R= níveis de riqueza de espécies de FMAs no solo (R1= *G. etunicatum*. R2= *G. etunicatum* + *Gi. margarita*. R4= *G. etunicatum* + *Gi. margarita* + *S. heterogama* + *A. scrobiculata*. R8= *G. etunicatum* + *Gi. margarita* + *S. heterogama* + *A. scrobiculata* + *G. clarum* + *Gi. gigantea* + *S. pellucida* + *E. colombiana*). Barra representa o erro padrão da média.

Em crescimento conjunto, o efeito da presença de FMAs foi distinto entre os hospedeiros. Para o tratamento R1, o fedegoso e a aroeira não apresentaram variação na relação Raiz/PA, em relação ao tratamento não inoculado NI, porém, para a trema e para o pau-ferro, houve tendência de queda na relação Raiz/PA. Verificou-se que o incremento na riqueza de espécies de FMAs, de uma para duas espécies de fungo no solo, reduziu a relação Raiz/PA das quatro espécies vegetais estudadas. Nos tratamentos seguintes, manteve-se

esta tendência de queda, principalmente para aroeira, fedegoso e trema. Sob a condição de crescimento individual, a interferência da inoculação sobre a relação Raiz/PA demonstrou uma tendência de queda mais forte que em comparação à condição de crescimento conjunto.

Para as quatro espécies vegetais, o tratamento contendo apenas *G. etunicatum* reduziu a relação Raiz/PA, em relação ao NI e esta tendência manteve-se no tratamento R2. Nos tratamentos seguintes, a relação Raiz/PA tendeu a se estabilizar em relação ao tratamento composto pelo *G. etunicatum* mais *G. margarita*, refletindo a maior influência da variação de riqueza de espécies de FMAs sobre os parâmetros de crescimento das plantas sob crescimento conjunto, como verificado anteriormente para a biomassa da parte aérea. É interessante que, para a maioria das situações, os maiores valores de relação Raiz/PA foram observados nas plantas do tratamento não inoculado NI.

Este efeito dos FMAs pode estar relacionado à redução das limitações no solo para o crescimento das plantas, como, por exemplo, o melhor acesso a nutrientes como o P. Isto pode ser evidenciado confrontando-se os resultados obtidos nos tratamentos com FMAs com os do tratamento com nível alto de P no solo, para o qual, na maioria das situações, também houve redução na relação Raiz/PA, em relação ao tratamento NI. Como comentado por Lovato et al. (1996), plantas micorrizadas tendem a reduzir a relação Raiz/PA, implicando numa maior eficiência no acúmulo de biomassa, pois seria investido proporcionalmente mais em parte aérea que em raízes. Do ponto de vista conservacionista, isto seria muito valioso, por exemplo, para a recuperação de áreas degradadas, favorecendo a cobertura do solo, dentre outros benefícios.

A relação de competitividade entre as quatro espécies vegetais em crescimento conjunto variou drasticamente sob influência dos tratamentos estudados (Figura 7). Na ausência de FMAs, tanto sob baixo quanto nível alto de P no solo, a comunidade de plantas foi dominada pela população de plantas da

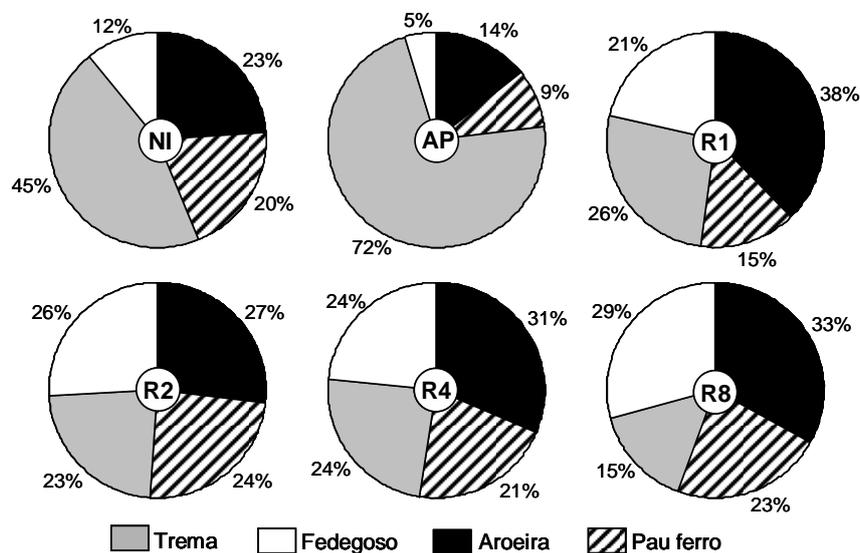


FIGURA 7 Contribuição relativa de cada espécie vegetal para biomassa total da comunidade de plantas. NI= não inoculado, AP= nível alto de P no solo, R= níveis de riqueza de espécies de FMAs no solo (R1= *G. etunicatum*. R2= *G. etunicatum* + *Gi. margarita*. R4= *G. etunicatum* + *Gi. margarita* + *S. heterogama* + *A. scrobiculata*. R8= *G. etunicatum* + *Gi. margarita* + *S. heterogama* + *A. scrobiculata* + *G. clarum* + *Gi. gigantea* + *S. pellucida* + *E. colombiana*).

trema, principalmente sob a segunda condição. Neste último tratamento, a espécie trema foi responsável por cerca de 70% da biomassa total. Enquanto a trema dominou a produção de MSPA na ausência de FMAs, quando estes estavam presentes, sua contribuição para a biomassa total diminuiu muito, sendo sua menor contribuição relativa no tratamento com o maior nível de diversidade estudada. No entanto, como verificado por Grime et al. (1987) e Flores-Aylas et al. (2003), a estrutura da comunidade de plantas, medida pela produção relativa de biomassa da parte aérea de cada espécie, torna-se mais equilibrada na presença de FMAs, confirmando que as espécies menos competitivas na ausência de FMAs (Flores-Aylas et al., 2003) e mais dependentes destes fungos (Scheublin et al., 2007) são as mais beneficiadas na presença deles. Estes

resultados contrariam os verificados por Hartnett & Wilson (1999) e O'Connor et al. (2002), tendo, nestes casos, a eliminação dos FMAs equilibrado melhor a estrutura da comunidade de plantas porque as espécies subordinadas (micotróficas facultativas) foram favorecidas em detrimento da dominante (micotrófica obrigatória).

Como já comentado, as espécies vegetais apresentam respostas e dependência micorrízica distintas entre si e também respondem diferentemente a distintas espécies de FMAs. Este é um conjunto de fatores que podem interferir nas relações de competição entre espécies vegetais e justificar a variação na estrutura e biomassa total da comunidade de plantas, em função da quantidade de espécies de FMAs presentes, como proposto por van der Heijden et al. (1998b).

Outro importante aspecto avaliado foi a variação de crescimento entre os indivíduos da mesma espécie para as plantas em crescimento conjunto. Para isto, calculou-se a variabilidade na população, em relação à produção de biomassa da parte aérea, e esta variável foi muito influenciada pelos tratamentos (Figura 8). Sob influência do tratamento com menor nível de riqueza de espécies de FMAs, R1, as plantas das quatro espécies apresentaram tendência de aumento da variabilidade em relação à NI. Porém, nos tratamentos seguintes, o comportamento foi variado entre as espécies hospedeiras. Enquanto aroeira, fedegoso e pau-ferro apresentaram forte tendência de aumento linear da variabilidade na população associada ao aumento na riqueza de espécies de FMAs, a trema apresentou comportamento inverso a este, reduzindo a variabilidade da população nos tratamentos com múltiplas espécies de FMAs na comunidade do solo, em relação ao tratamento com apenas uma espécie. Este resultado, apresentado pela trema, é resultante da redução de sua competitividade, em relação às demais espécies vegetais, associada ao aumento

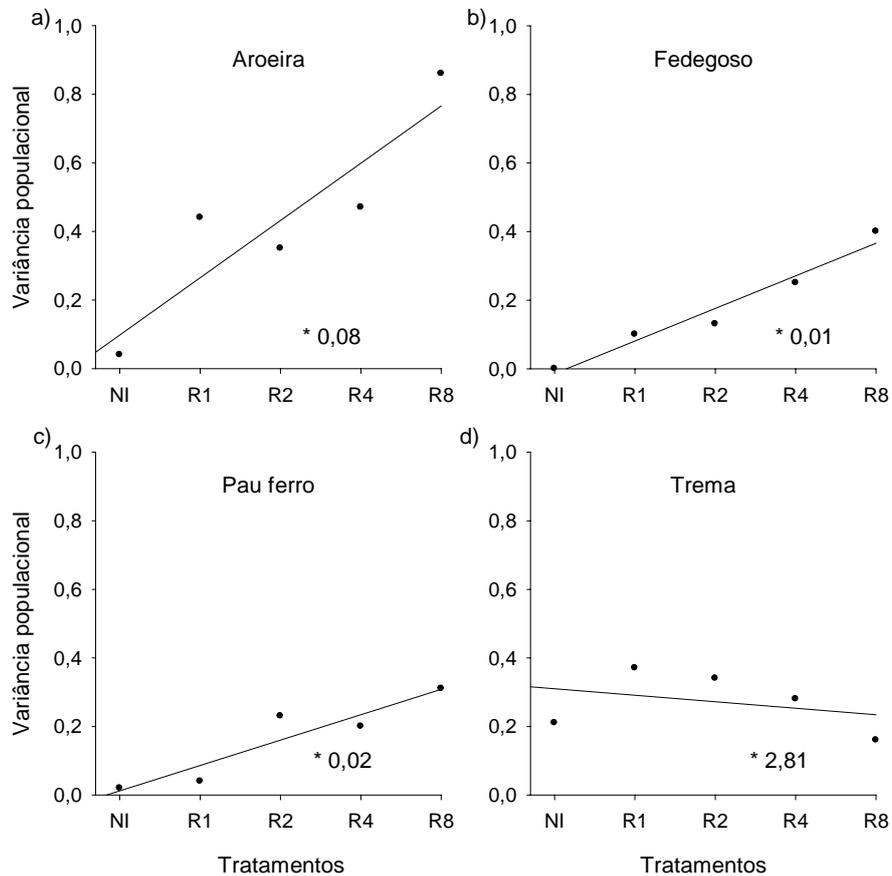


FIGURA 8 Variabilidade no crescimento conjunto da aroeira (a), fedegoso (b), pau-ferro (c) e trema (d), determinada pelo cálculo da variância populacional para a MSPA na população de cada espécie. * Tratamento com nível alto de P no solo. NI= não inoculado, R= níveis de riqueza de espécies de FMAs no solo (R1= *G. etunicatum*. R2= *G. etunicatum* + *Gi. margarita*. R4= *G. etunicatum* + *Gi. margarita* + *S. heterogama* + *A. scrobiculata*. R8= *G. etunicatum* + *Gi. margarita* + *S. heterogama* + *A. scrobiculata* + *G. clarum* + *Gi. gigantea* + *S. pellucida* + *E. colombiana*).

da riqueza de espécies destes fungos no solo, indicando que o aumento da plasticidade favorece a capacidade competitiva.

Este comportamento, geral das plantas, revela que a expressão do potencial genético de cada indivíduo, na população, é favorecida quando as

condições de crescimento se tornam mais favoráveis e específicas para cada espécie e indivíduo, havendo relação direta com a inoculação e o aumento da riqueza de espécies de FMAs. Os FMAs agem aumentando as diferenças entre os indivíduos na população (Facelli et al., 1999), no entanto, o comportamento é dependente das espécies vegetais envolvidas e da riqueza de espécies de FMAs na comunidade do solo. Isto tem reflexo para as relação de competição entre as plantas e para a persistência destas em comunidade (Whitham et al., 2003; Lankau & Strauss, 2007).

4.2 Teor e conteúdo de nutrientes nas plantas

Os teores dos nutrientes na MSPA das espécies vegetais estudadas foram ligeiramente influenciados pelos tratamentos e, em muitas das situações, não houve efeito, como mostrado na Tabela 3. Dentre os nutrientes avaliados, o nitrogênio e o enxofre foram os menos influenciados pelos tratamentos, enquanto o cálcio, o cobre e o zinco foram os que mais apresentaram situações com diferença. Apenas em condição de crescimento conjunto e para o Ca na aroeira, Cu no pau-ferro e Zn no fedegoso, não foi detectada diferença entre os tratamentos (Tabela 3).

Quando houve diferença entre os tratamentos, quanto ao teor de determinado nutriente, esta diferença esteve muito restrita à comparação de teor entre as plantas não inoculadas e as inoculadas. Entre os tratamentos inoculados, na maioria dos casos, houve pouca variação no teor dos nutrientes e, quando foi constatada alguma diferença, não foi possível estabelecer uma relação clara desta com o nível de riqueza de espécies de FMAs estudado, indicando uma fraca relação entre os teores dos nutrientes e o efeito dos tratamentos sobre o crescimento das plantas. Mesmo assim, foi possível identificar algumas situações em que a riqueza de FMAs influenciou o teor dos nutrientes, sendo os

Tabela 3 Teor de nutrientes na MSPA das quatro espécies vegetais estudadas.

| Tratamentos | Aroeira | | Fedegoso | | Pau-ferro | | Trema | |
|--------------------------------|---------|--------|----------|--------|-----------|--------|--------|--------|
| | IND | CON | IND | CON | IND | CON | IND | CON |
| Nitrogênio, g kg ⁻¹ | | | | | | | | |
| NI | 20,8 a | 17,2 a | 31,2 b | 28,1 a | 19,7 a | 16,7 a | 11,4 b | 26,2 a |
| R1 | 17,9 a | 14,8 a | 22,8 c | 21,3 b | 21,3 a | 15,1 a | 23,6 a | 21,1 a |
| R2 | 19,9 a | 14,3 a | 16,8 c | 18,2 b | 18,9 a | 17,2 a | 23,9 a | 19,6 a |
| R4 | 17,6 a | 15,9 a | 19,7 c | 17,6 b | 22,3 a | 14,8 a | 23,9 a | 20,3 a |
| R8 | 20,8 a | 14,3 a | 21,3 c | 17,9 b | 24,1 a | 16,4 a | 22,8 a | 18,2 a |
| AP | 23,8 a | 14,6 a | 28,4 a | 24,7 a | 21,8 a | 14,8 a | 22,3 a | 22,1 a |
| Fósforo, g kg ⁻¹ | | | | | | | | |
| NI | 0,82 b | 0,62 a | 0,49 d | 0,50 b | 0,98 a | 0,37 c | 1,1 c | 0,76 a |
| R1 | 0,97 b | 0,70 a | 0,70 c | 0,54 b | 0,92 a | 0,53 a | 1,3 c | 0,78 a |
| R2 | 1,35 a | 0,70 a | 0,80 b | 0,68 a | 0,90 a | 0,55 a | 1,6 b | 0,91 a |
| R4 | 1,13 a | 0,77 a | 0,88 a | 0,63 a | 0,97 a | 0,55 a | 1,8 a | 0,90 a |
| R8 | 1,08 a | 0,59 a | 0,80 b | 0,63 a | 0,87 a | 0,59 a | 1,3 c | 0,81a |
| AP | 0,88 b | 0,67 a | 0,54 d | 0,45 b | 0,60 a | 0,42 a | 1,5 b | 0,90 a |
| Potássio, g kg ⁻¹ | | | | | | | | |
| NI | 17,1 a | 16,5 a | 13,9 b | 19,6 a | 13,9 a | 13,4 a | 20,6 a | 20,9 a |
| R1 | 16,3 a | 18,3 a | 13,0 b | 17,0 b | 12,1 a | 12,5 a | 18,0 b | 17,4 a |
| R2 | 15,4 a | 20,9 a | 13,9 b | 15,2 b | 13,9 a | 13,4 a | 22,3 a | 20,9 a |
| R4 | 17,1 a | 17,4 a | 13,9 b | 14,3 b | 13,0 a | 10,7 a | 21,5 a | 20,9 a |
| R8 | 17,1 a | 19,4 a | 13,9 b | 14,3 b | 14,8 a | 12,5 a | 15,4 b | 21,9 a |
| AP | 18,8 a | 20,1 a | 17,4 a | 16,1 b | 6,9 b | 13,4 a | 16,2 b | 19,1 a |
| Cálcio, g kg ⁻¹ | | | | | | | | |
| NI | 7,80 a | 7,97 a | 14,6 b | 16,5 b | 14,7 b | 10,3 c | 18,0 b | 27,8 a |
| R1 | 7,52 a | 5,20 b | 19,5 b | 18,1 b | 17,4 b | 13,3 b | 21,6 a | 18,3 b |
| R2 | 7,52 a | 4,55 b | 21,3 b | 21,1 a | 16,7 b | 16,5 a | 20,3 a | 17,8 b |
| R4 | 6,20 a | 5,72 b | 22,3 a | 20,5 a | 20,2 a | 17,1 a | 21,2 a | 17,2 b |
| R8 | 6,02 a | 7,50 a | 19,4 a | 20,6 a | 16,9 b | 16,4 a | 14,3 b | 15,8 b |
| AP | 7,75 a | 7,50 a | 22,7 a | 21,4 a | 6,1 c | 10,5 a | 22,2 a | 31,2 a |
| Magnésio, g kg ⁻¹ | | | | | | | | |
| NI | 21,2 a | 21,6 a | 16,7 a | 17,1 a | 15,9 a | 10,9 a | 42,1 a | 43,2 a |
| R1 | 18,7 b | 19,2 b | 15,0 a | 14,5 b | 13,9 b | 8,3 b | 34,5 a | 28,6 b |
| R2 | 20,7 a | 15,9 c | 15,9 a | 17,6 b | 11,9 c | 9,2 b | 35,6 a | 35,1 b |
| R4 | 20,8 a | 15,4 c | 16,7 a | 17,7 a | 13,7 b | 9,4 b | 40,9 a | 34,2 b |
| R8 | 18,1 b | 18,6 b | 17,2 a | 19,4 a | 12,6 c | 9,9 a | 21,9 b | 32,6 b |
| AP | 18,8 b | 22,5 a | 18,4 a | 13,7 b | 8,1 d | 8,8 b | 40,8 a | 48,6 a |

...continua...

Tabela 3, Cont.

| Tratamentos | Aroeira | | Fedegoso | | Pau-ferro | | Trema | |
|-------------|-----------------------------|--------|----------|--------|-----------|--------|--------|--------|
| | IND | CON | IND | CON | IND | CON | IND | CON |
| | Enxofre, g kg ⁻¹ | | | | | | | |
| NI | 3,08 b | 0,39 a | 1,87 b | 2,40 a | 0,98 a | 0,72 a | 1,88 a | 0,25 a |
| R1 | 2,67 b | 0,62 a | 1,44 b | 3,26 a | 0,72 a | 0,63 a | 1,24 a | 0,19 a |
| R2 | 3,60 a | 0,57 a | 1,33 b | 1,33 b | 0,62 a | 0,67 a | 1,50 a | 0,20 a |
| R4 | 2,77 b | 0,91 a | 1,88 b | 0,96 b | 0,59 a | 1,08 a | 1,39 a | 0,14 a |
| R8 | 2,73 b | 0,77 a | 1,84 b | 0,74 b | 0,54 a | 0,57 a | 1,37 a | 0,07 a |
| AP | 2,73 b | 0,51 a | 2,50 a | 2,48 a | 1,14 a | 0,54 a | 1,14 a | 0,40 a |
| | Cobre, mg kg ⁻¹ | | | | | | | |
| NI | 3,1 b | 6,9 c | 6,6 b | 5,7 b | 15,4 a | 6,2 a | 4,3 c | 7,7 b |
| R1 | 6,4 a | 10,9 a | 7,6 a | 6,3 b | 13,2 b | 7,9 a | 5,3 b | 9,1 a |
| R2 | 6,7 a | 9,7 b | 8,4 a | 6,8 a | 11,7 b | 7,1 a | 5,6 b | 8,9 a |
| R4 | 7,7 a | 11,8 a | 8,6 a | 8,0 a | 13,9 a | 7,8 a | 5,7 b | 9,5 a |
| R8 | 6,9 a | 9,6 b | 8,8 a | 7,4 a | 12,1 b | 9,1 a | 7,8 a | 9,2 a |
| AP | 2,4 b | 6,4 c | 6,2 b | 5,0 b | 7,2 c | 6,6 a | 3,7 c | 6,8 b |
| | Zinco, mg kg ⁻¹ | | | | | | | |
| NI | 7,00 b | 23,3 a | 11,2 b | 14,1 a | 25,0 a | 7,9 b | 12,3 b | 14,0 b |
| R1 | 13,4 a | 24,3 a | 13,1 b | 13,4 a | 17,6 b | 18,1 a | 12,1 b | 17,7 a |
| R2 | 14,1 a | 22,2 a | 21,1 a | 12,6 a | 18,2 b | 11,5 b | 16,2 a | 18,2 a |
| R4 | 10,7 a | 24,1 a | 17,4 a | 15,8 a | 23,3 a | 18,8 a | 14,7 a | 20,9 a |
| R8 | 12,5 a | 20,4 b | 16,3 a | 12,9 a | 17,3 b | 12,9 b | 16,9 a | 16,8 a |
| AP | 4,9 b | 17,0 b | 18,6 a | 15,1 a | 13,7 b | 8,9 b | 11,0 b | 18,3 a |

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si (Scott-Knott, 5%). NI= não inoculado, AP= tratamento com nível alto de fósforo no solo, R= níveis de riqueza de espécies de FMAs no solo (R1= *G. etunicatim*, R2= *G. etunicatim* + *Gi. margarita*, R4= *G. etunicatim* + *Gi. margarita* + *S. heterogama* + *A. scrobiculata*, R8= *G. etunicatim* + *Gi. margarita* + *S. heterogama* + *A. scrobiculata* + *G. clarum* + *Gi. gigantea* + *S. pellucida* + *E. colombiana*).

resultados dependentes do nutriente analisado e da espécie de planta. Falta de consistência dos resultados para o teor de nutrientes na biomassa da parte aérea de espécies arbóreas nativas de diferentes grupos sucessionais, sob influência de micorrizas e variação na disponibilidade de nutrientes, também tem sido verificada por estudos como de Carneiro et al. (1996) e Siqueira et al. (1998). No entanto, quando foi verificado efeito dos tratamentos para o teor de nutrientes, este foi mais relacionado às espécies mais responsivas a micorriza e P

e aquelas pertencentes aos grupos de início de sucessão como a trema. Ainda, de maneira geral, foi possível identificar dois padrões de variação entre os nutrientes estudados. O fósforo, o cobre e o zinco apresentaram tendência de aumento de teor, quando as plantas foram inoculadas com FMAs, em comparação ao tratamento NI.

Para os demais nutrientes analisados, verificou-se tendência contrária à identificada para o P, Cu e Zn. Pensando na utilização destas espécies vegetais, por exemplo, em programas de revegetação de áreas degradadas, os dados de teor dos nutrientes são pouco informativos, se comparados ao acúmulo de nutrientes na biomassa total, o qual pode indicar o potencial de cada espécie em capturar nutrientes do solo, normalmente escassos nestas áreas, concentrando na parte aérea e posterior liberação para sistema via ciclagem da matéria orgânica, principalmente entre espécies de diferentes grupos sucessionais, conforme verificado por Siqueira et al. (1998).

Um aspecto interessante foi verificado para os teores de N e P; houve forte tendência dos teores de estes nutrientes serem numericamente inferiores nas plantas em crescimento conjunto, em relação às crescidas individualmente, principalmente quando inoculadas. Isso reflete a disponibilidade mais limitada destes nutrientes sob a condição de crescimento conjunto, sendo este um fator de estresse que pode justificar o menor crescimento das plantas sob esta condição e também ter contribuído para o efeito mais evidente da riqueza de FMAs para o crescimento das plantas, em relação ao crescimento individual. Condições nutricionais subótimas para o adequado crescimento das plantas são requeridas para o sucesso das MAs (Siqueira & Saggin Júnior, 1995), o que parece ter sido intensificado sob condição de competição. Foi verificado que a riqueza de espécies de FMAs na comunidade do solo tem efeito positivo sobre a absorção de nutrientes pelas plantas. Apesar de este efeito ter sido menos evidente sobre o

teor de nutrientes, ele foi claro sobre o acúmulo pelas plantas, principalmente sob crescimento conjunto.

Quanto ao acúmulo de nutrientes na MSPA das plantas, os dados da Tabela 4 mostram que os tratamentos também influenciaram esta variável para as quatro espécies vegetais, tanto em crescimento conjunto quanto individual. O conteúdo de nutrientes na MSPA foi maior nas plantas inoculadas que nas plantas do tratamento NI, refletindo os dados de crescimento, devido à estreita relação entre o acúmulo de biomassa e o acúmulo de nutrientes. Os resultados de acúmulo de nutrientes aqui verificados confirmam o benefício da inoculação e do aumento da riqueza de espécies de FMAs no solo para o aumento do acúmulo de nutrientes e crescimento das plantas em competição, como verificado por van der Heijden et al. (1998b), para uma comunidade de plantas composta por espécies herbáceas e graminóides. Os resultados também revelam que o conteúdo de nutrientes varia muito com a espécie hospedeira e a composição do inóculo micorrízico e isto tem relação com compatibilidade fungo-planta (Smith et al., 2004; Pouyu-Rojas et al., 2006). A competição por nutrientes foi mais intensa sob a condição de crescimento conjunto, pois, como verificado para os teores de alguns nutrientes, o conteúdo de todos os nutrientes avaliados também foi menor sob esta condição do que para a condição de crescimento individual, principalmente nos tratamentos inoculados.

TABELA 4 Conteúdo de nutrientes na MSPA das quatro espécies vegetais.

| Tratam. | Aroeira | | Fedegoso | | Pau-ferro | | Trema | |
|-------------------------------------|---------|--------|----------|--------|-----------|--------|---------|---------|
| | IND | CON | IND | CON | IND | CON | IND | CON |
| Nitrogênio, mg planta ⁻¹ | | | | | | | | |
| NI | 15,8 b | 7,7 d | 5,2 b | 5,8 d | 7,8 c | 6,3 c | 4,6 b | 24,7 b |
| R1 | 63,6 a | 21,2 c | 80,1 a | 17,1 c | 21,2 c | 8,2 c | 73,7 a | 22,2 b |
| R2 | 63,8 a | 19,0 c | 63,2 a | 25,0 b | 73,2 b | 20,3 b | 61,0 a | 25,2 b |
| R4 | 79,4 a | 24,5 b | 81,0 a | 22,2 b | 91,1 a | 17,2 b | 71,3 a | 29,4 b |
| R8 | 88,7 a | 34,2 a | 77,5 a | 34,3 a | 102,8 a | 25,4 a | 85,7 a | 19,2 b |
| AP | 34,7 b | 9,9 d | 17,9 b | 5,1 d | 17,8 c | 6,1 c | 84,2 a | 76,7 a |
| Fósforo, mg planta ⁻¹ | | | | | | | | |
| NI | 0,6 b | 0,3 c | 0,1 c | 0,1 d | 0,4 b | 0,1 c | 0,4 b | 0,7 b |
| R1 | 3,5 a | 1,1 b | 2,5 b | 0,4 c | 0,9 b | 0,3 c | 4,0 a | 0,8 b |
| R2 | 4,4 a | 0,9 b | 2,9 b | 0,9 b | 3,4 a | 0,6 b | 4,2 a | 1,2 b |
| R4 | 5,0 a | 1,3 a | 3,7 a | 0,8 b | 3,9 a | 0,6 b | 5,4 a | 1,3 b |
| R8 | 4,6 a | 1,4 a | 2,9 b | 1,2 a | 3,7 a | 0,9 a | 4,8 a | 0,8 b |
| AP | 1,3 b | 0,5 c | 0,2 c | 0,1 d | 0,5 b | 0,2 c | 5,7 a | 3,1 a |
| Potássio, mg planta ⁻¹ | | | | | | | | |
| NI | 13,0 c | 7,3 c | 2,3 b | 4,1 d | 5,5 b | 4,9 c | 8,3 b | 19,9 b |
| R1 | 56,8 b | 14,9 b | 49,1 a | 13,6 c | 12,4 b | 6,6 c | 56,3 a | 18,1 b |
| R2 | 49,4 b | 27,7 b | 50,2 a | 20,9 b | 53,2 a | 15,9 b | 57,1 a | 27,2 b |
| R4 | 78,4 a | 29,3 b | 57,5 a | 18,4 b | 53,1 a | 12,6 b | 64,0 a | 29,9 b |
| R8 | 72,0 a | 47,0 a | 50,6 a | 27,4 a | 66,1 a | 19,4 a | 56,6 a | 23,1 b |
| AP | 26,7 c | 14,3 c | 8,1 b | 3,4 d | 5,6 b | 5,5 c | 64,8 a | 67,1 a |
| Cálcio, mg planta ⁻¹ | | | | | | | | |
| NI | 5,9 b | 3,4 b | 2,4 b | 3,4 d | 5,8 b | 3,9 b | 7,3 c | 25,9 b |
| R1 | 26,9 a | 7,4 b | 73,2 a | 14,5 c | 17,5 b | 7,3 b | 67,2 b | 18,8 b |
| R2 | 24,6 a | 6,9 b | 77,7 a | 27,9 b | 64,2 a | 19,5 a | 51,7 b | 22,9 b |
| R4 | 27,5 a | 9,6 b | 92,6 a | 26,2 b | 73,3 a | 20,1 a | 63,4 b | 25,1 b |
| R8 | 25,3 a | 18,5 a | 70,6 a | 39,3 a | 82,3 a | 25,8 a | 51,3 b | 16,7 b |
| AP | 11,1 b | 5,2 b | 10,6 b | 4,4 d | 4,9 b | 4,3 b | 84,9 a | 108,4 a |
| Magnésio, mg planta ⁻¹ | | | | | | | | |
| NI | 16,1 c | 9,4 c | 2,8 b | 3,5 d | 6,3 b | 4,2 c | 17,0 c | 40,2 b |
| R1 | 66,8 b | 21,6 b | 55,8 a | 11,7 c | 13,9 b | 4,5 c | 107,0 b | 29,7 b |
| R2 | 67,3 b | 20,5 b | 58,1 a | 24,2 b | 45,4 a | 10,9 b | 90,8 b | 45,3 b |
| R4 | 92,9 a | 31,1 b | 69,1 a | 22,6 b | 56,3 a | 11,1 b | 121,0 a | 49,6 b |
| R8 | 76,4 b | 54,7 a | 64,6 a | 37,5 a | 54,8 a | 15,5 a | 78,9 b | 34,8 b |
| AP | 27,7 c | 13,5 c | 8,6 b | 2,8 d | 6,5 b | 3,6 c | 156,1 a | 169,1 a |

...continua...

Tabela 4, Cont.

| Tratam. | Aroeira | | Fedegoso | | Pau-ferro | | Trema | |
|----------------------------------|---------|--------|----------|--------|-----------|--------|--------|--------|
| | IND | CON | IND | CON | IND | CON | IND | CON |
| Enxofre, mg planta ⁻¹ | | | | | | | | |
| NI | 2,3 b | 0,2 c | 0,3 c | 0,5 c | 0,4 b | 0,3 a | 0,7 b | 0,2 b |
| R1 | 9,6 a | 1,1 b | 5,0 b | 2,6 a | 0,7 b | 0,4 a | 3,9 a | 0,2 b |
| R2 | 11,4 a | 0,7 b | 4,8 b | 1,8 a | 2,4 a | 0,8 a | 3,8 a | 0,2 b |
| R4 | 12,1 a | 1,5 a | 7,7 a | 1,3 b | 2,4 a | 1,3 a | 4,2 a | 0,2 b |
| R8 | 11,7 a | 1,9 a | 6,7 a | 1,4 b | 2,2 a | 0,9 a | 4,7 a | 0,1 b |
| AP | 3,9 b | 0,3 c | 1,2 c | 0,5 c | 0,9 b | 0,2 a | 4,5 a | 1,3 a |
| Cobre, µg planta ⁻¹ | | | | | | | | |
| NI | 2,4 c | 3,1 c | 1,1 b | 1,2 d | 6,1 b | 2,3 c | 1,7 c | 7,2 b |
| R1 | 22,7 b | 15,6 b | 26,9 a | 5,2 c | 13,3 b | 4,3 c | 16,6 b | 9,5 b |
| R2 | 21,2 b | 12,9 b | 30,4 a | 9,5 b | 44,4 a | 8,4 b | 14,3 b | 11,4 b |
| R4 | 34,1 a | 19,8 a | 35,7 a | 10,2 b | 56,9 a | 9,1 b | 17,2 b | 13,4 b |
| R8 | 29,2 a | 22,8 a | 31,8 a | 14,1 a | 53,1 a | 1,5 a | 28,8 a | 9,8 b |
| AP | 5,6 c | 4,4 c | 2,9 b | 1,1 d | 5,9 b | 2,7 c | 14,3 b | 23,6 a |
| Zinco, µg planta ⁻¹ | | | | | | | | |
| NI | 5,3 b | 10,1 b | 1,9 b | 2,8 d | 10,0 c | 3,0 c | 4,9 a | 13,3 b |
| R1 | 47,5 a | 34,8 a | 46,5 a | 10,8 c | 17,7 c | 9,7 b | 37,5 b | 18,6 b |
| R2 | 44,7 a | 32,1 a | 71,7 a | 17,2 b | 69,8 b | 13,8 b | 41,6 b | 23,3 b |
| R4 | 48,0 a | 40,3 a | 75,8 a | 20,0 b | 94,3 a | 21,5 a | 44,2 b | 29,4 b |
| R8 | 53,2 a | 47,5 a | 60,8 a | 24,7 a | 75,5 b | 21,2 a | 62,8 a | 17,9 b |
| AP | 7,1 b | 11,8 b | 8,7 b | 3,2 d | 11,1 c | 3,7 c | 41,0 b | 63,4 a |

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si (Scott-Knott, 5%). NI= não inoculado, AP= tratamento com nível alto de fósforo no solo, R= níveis de riqueza de espécies de FMAs no solo (R1= *G. etunicatim*, R2= *G. etunicatim* + *Gi. margarita*, R4= *G. etunicatim* + *Gi. margarita* + *S. heterogama* + *A. scrobiculata*, R8= *G. etunicatim* + *Gi. margarita* + *S. heterogama* + *A. scrobiculata* + *G. clarum* + *Gi. gigantea* + *S. pellucida* + *E. colombiana*).

4.3 Colonização micorrízica e contagem de esporos

A colonização micorrízica, avaliada aos 120 dias de condução do experimento, é apresentada na Tabela 5. Independentemente da espécie vegetal estudada e da condição de crescimento conjunto ou individual, nenhum sinal de colonização micorrízica foi detectado nas raízes das plantas dos tratamentos não inoculados. Todas as plantas inoculadas apresentaram colonização elevada com

valores superiores a 40% para a maioria dos tratamentos. Para fedegoso e trema, em crescimento conjunto, a elevação da riqueza de espécies de FMAs no solo não influenciou a colonização. Enquanto que, para pau-ferro e aroeira, verificou-se efeito distinto e inverso entre estas espécies. Enquanto o pau-ferro exibiu tendência de aumento da taxa colonização associado ao aumento da riqueza de FMAs, principalmente entre os tratamentos com níveis extremos de riqueza (R1 e R8); para a aroeira esta tendência foi contrária.

TABELA 5 Colonização micorrízica das quatro espécies vegetais estudadas.

| Plantas | Crescimento conjunto | | | | Crescimento individual | | | |
|----------------------------|----------------------|----------------|----------------|----------------|------------------------|----------------|----------------|----------------|
| | R ₁ | R ₂ | R ₄ | R ₈ | R ₁ | R ₂ | R ₄ | R ₈ |
| ----- Colonização, % ----- | | | | | | | | |
| Aroeira | 53 a | 58 a | 46 b | 38 b | 27 b | 49 a | 54 a | 50 a |
| Fedegoso | 58 a | 68 a | 66 a | 59 a | 57 b | 75 a | 44 c | 68 a |
| Pau-ferro | 22 c | 54 a | 29 b | 54 a | 13 c | 24 b | 17 c | 45 a |
| Trema | 57 a | 58 a | 54 a | 50 a | 32 c | 56 a | 45 b | 58 a |

Médias seguidas pela mesma letra na linha não deferem entre si (Scott-knott, 5%). R= níveis de riqueza de espécies de FMAs no solo (R1= *G. etunicatim*, R2= *G. etunicatim* + *Gi. margarita*, R4= *G. etunicatim* + *Gi. margarita* + *S. heterogama* + *A. scrobiculata*, R8= *G. etunicatim* + *Gi. margarita* + *S. heterogama* + *A. scrobiculata* + *G. clarum* + *Gi. gigantea* + *S. pellucida* + *E. colombiana*).

Em crescimento individual, o comportamento geral da colonização dos diferentes hospedeiros estudados foi distinto do comportamento observado sob crescimento conjunto, exceção feita para o pau-ferro que, assim como verificado sob crescimento conjunto, apresentou tendência de aumento da colonização devido ao aumento da riqueza de FMAs, principalmente quando esta comparação foi feita entre os tratamentos de extremos de riqueza de FMAs, R1 e R8. De modo geral, houve tendência de incremento da colonização micorrízica

devido o aumento da riqueza de espécies, sob a condição de crescimento individual.

Comportamento bem distinto foi verificado entre o fedegoso e o pau-ferro, enquanto o primeiro exibiu valores mais altos colonização, o pau-ferro teve tendência oposta. No entanto, em crescimento conjunto, isto não foi tão evidente. Esta tendência de menor taxa de colonização exibida pelo pau-ferro, em crescimento individual, pode ter refletido na menor quantidade de esporos verificada em relação aos demais hospedeiros, principalmente para o tratamento R1. O efeito da compatibilidade fungo-planta, estudado por Pouyu-Rojas et al. (2006) para estas e outras espécies vegetais e por Smith et al. (2004) para espécies de pequeno porte, pode explicar os resultados de colonização dependentes da composição de espécies de FMAs e espécie hospedeira. Tudo indica que, em crescimento conjunto, o efeito da compatibilidade fungo-planta é minimizado. Um exemplo disso é o comportamento verificado entre a aroeira, o fedegoso e a trema no tratamento R1 (*Glomus etunicatum*). Em crescimento conjunto, os valores de colonização foram próximos entre elas, tendência semelhante observada por Flores-Aylas et al. (2003), também inoculadas com o *G. etunicatum*. Enquanto crescendo individualmente, estes valores foram mais discrepantes, concordando com resultados obtidos por Pouyu-Rojas et al. (2006), sendo o *G. etunicatum* o FMA estudado. Isto sugere que, em crescimento conjunto, determinadas espécies de planta, como o fedegoso, podem facilitar a colonização daquelas menos suscetíveis a um tratamento micorrízico específico, como a trema e a aroeira em R1.

Estudando a interação entre espécies vegetais sobre a colonização micorrízica, Ocampo et al. (1980) verificaram que crescendo em conjunto uma espécie fortemente micorrízica ou mais específica ao tratamento aumentava a colonização de espécies igualmente ou menos micorrízicas.

A menor colonização do pau-ferro no tratamento R1 em relação aos demais refletiu em sua menor compatibilidade com o *G. etunicatum* e pode explicar sua grande resposta em crescimento a partir do tratamento R2 (*G. etunicatum* + *Gigaspora margarita*) (Figura 4). Num contexto geral, o tratamento R8 esteve dentre os de maior taxa de colonização, ao contrário do tratamento com apenas o *G. etunicatum*, indicando aumento da compatibilidade com aumento da riqueza de espécies na comunidade de FMAs associada, com benefício para o crescimento das plantas.

Os tratamentos estudados influenciaram a esporulação ao final da condução do experimento (Figura 9). Nenhum esporo de FMA foi encontrado nos tratamentos não inoculados, enquanto todos os tratamentos inoculados apresentaram esporulação que variou de pouco mais de 20 esporos até cerca de 350 esporos por 50 mL de solo. Sob condição de crescimento conjunto, a esporulação variou entre os tratamentos, sendo a esporulação média em torno de 160 esporos por 50 mL de solo. Em crescimento individual das espécies hospedeiras a esporulação média e também por tratamento variou muito com a espécie de planta estudada. Como já comentado, a compatibilidade fungo-planta e a possibilidade de combinações serem estabelecidas preferencialmente indicam que diferentes hospedeiros podem atuar de maneira distinta, alterando uma dada comunidade de FMAs (Bever et al., 1996; Bever, 2002; Johnson et al., 1992). Também, a influência de uma comunidade diversa em espécies vegetais, sobre a comunidade de FMAs, pode ser distinta da influência de cada espécie hospedeira individualmente (Johnson et al., 2003). A interdependência entre os simbiontes pode gerar uma complexa dinâmica, interferindo marcadamente na esporulação e na estrutura das comunidades destes fungos, com reflexo no crescimento das plantas, como comentado por Bever (2002).

Para a trema, foi verificada a maior esporulação média entre os tratamentos, cerca de 200 esporos por 50 mL de solo, seguida do fedegoso com

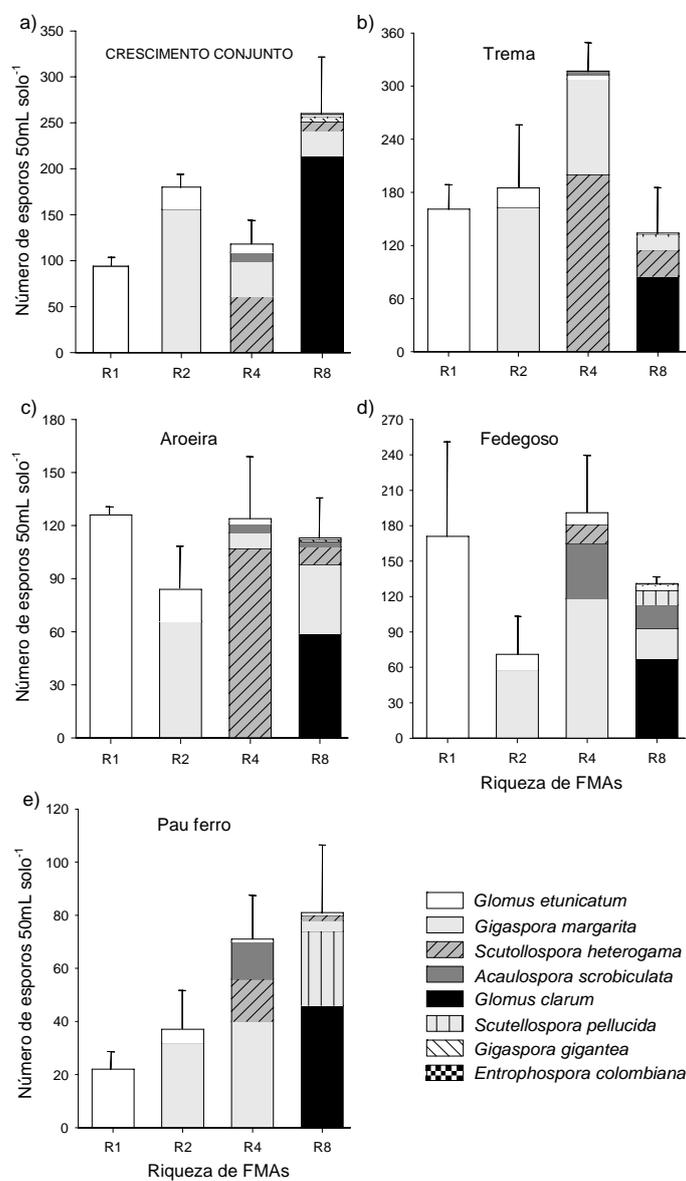


FIGURA 9 Número de esporos no solo após a condução do experimento. R= níveis de riqueza de espécies de FMAs (R1= *G. etunicatum*. R2= *G. etunicatum* + *Gi. margarita*. R4= *G. etunicatum* + *Gi. margarita* + *S. heterogama* + *A. scrobiculata*. R8= *G. etunicatum* + *Gi. margarita* + *S. heterogama* + *A. scrobiculata* + *G. clarum* + *Gi. gigantea* + *S. pellucida* + *E. colombiana*). Barra representa o erro padrão da média

140 esporos, aroeira com 110 e pau-ferro com cerca de 50 esporos por 50 mL de solo. Tanto para a comunidade de plantas quanto para as espécies individualmente, a menor esporulação foi verificada no tratamento inoculado apenas com o *G. etunicatum*, exceção feita para aroeira e fedegoso, com a menor esporulação observada no tratamento R2 (Figura 9). Sob a condição de crescimento conjunto, houve tendência de incremento da quantidade total de esporos associada ao aumento na riqueza de espécies de FMAs no solo, exceto para o tratamento R4. Mesmo assim, este foi superior ao tratamento com o *G. etunicatum* apenas. Sob crescimento individual, este comportamento foi muito dependente da espécie hospedeira. Enquanto para a trema, para a maioria dos tratamentos e, principalmente, para o pau-ferro, a esporulação aumentou associada ao aumento de espécies de FMAs no solo; para a aroeira e para o fedegoso, esta relação não ocorreu.

A esporulação relativa, entre as espécies de FMAs nos tratamentos com múltiplas espécies destes fungos, foi muito dependente da condição de crescimento das plantas (individual e conjunto), espécie hospedeira associada e da composição de espécies na comunidade fúngica. A maior abundância de esporos do *G. etunicatum* sempre foi encontrada no tratamento R1; tratamento em que era a única espécie da comunidade fúngica. Em competição com outras espécies de FMAs, o *G. etunicatum* sempre foi uma das espécies menos abundantes. De modo geral, a comunidade de FMAs, avaliada pela quantidade de esporos no solo, sempre foi dominada por uma das espécies de FMA presentes, com mais de 50% do total de esporos encontrados (Figura 9). Em R2, a espécie dominante foi a *Gi. Margarita*; em R4, a *Gi margarita* para o fedegoso e o pau-ferro e *S. heterogama* para os demais casos e, em R8, o *Glomus clarum*.

Devido ao incremento na riqueza de espécies de FMAs no solo, a espécie dominante foi substituída por uma espécie que antes não fazia parte da comunidade de FMAs. A exceção foi verificada para as comunidades de fungos

sob influência apenas do pau-ferro e do fedegoso. Nestas situações, a *Gi. margarita* dominou a esporulação nos tratamentos R2, competindo apenas com o *G. etunicatum* e, em R4, competindo com o *G. etunicatum*, *S. heterogama* e *A. scrobiculata*. Isso indica a contribuição da espécie hospedeira, ao contrário das demais situações em que a presença de uma espécie específica de FMA, mais competitiva, prevaleceu sobre o efeito do hospedeiro ou a condição de crescimento. No entanto, a espécie hospedeira e a condição de cultivo tiveram grande influência sobre a esporulação relativa entre as espécies, assim como a esporulação total anteriormente mencionada. Por exemplo, no tratamento com a máxima riqueza de espécies de FMAs, R8, o *G. clarum* dominou a esporulação em todas as situações estudadas, porém, esta dominância foi maior sob cultivo conjunto que individual e também variou entre as espécies vegetais.

As diferenças relativas de esporulação entre espécies de FMAs em comunidade devem refletir a preferência do hospedeiro quanto à espécie na colonização. Bever (2002), estudando a especificidade hospedeira sobre o crescimento de populações de FMAs e o reflexo para o crescimento da planta, demonstrou que a composição de esporos reflete diferenças específicas entre os hospedeiros sobre as espécies de FMAs associadas, interferindo no crescimento das plantas. Portanto, é possível estabelecer certa relação entre esporulação de FMAs em comunidade, taxa de colonização radicular e crescimento do hospedeiro, como verificado, por exemplo, para o pau-ferro. O crescimento desta espécie aumentou expressivamente do tratamento com apenas *G. etunicatum* (R1) para o tratamento com *G. etunicatum* mais *Gi. margarita* (R2) (Figuras 4 e 5 d, f). E, como cerca de 80% dos esporos no tratamento R2 pertenciam a *G. margarita* (Figura 9 e), é provável que ela também tenha dominado a colonização radicular e tenha sido a espécie responsável pelo melhor desempenho do pau-ferro neste tratamento, pois a taxa de colonização radicular também aumentou (Tabela 5).

4.4 DGGE dos FMAs em amostras de esporos e raízes

O perfil de DGGE do material amplificado a partir dos esporos revelou que o método utilizado foi eficiente em individualizar o padrão de bandas de cada uma das oito espécies de FMAs estudadas (Figura 10). Esta análise foi realizada com amostras em duplicatas independentes e não houve divergência entre o padrão das amostras da mesma espécie fúngica, indicando precisão do método, além de boa reprodução do procedimento empregado. Verificou-se que as espécies de fungos apresentaram um padrão de bandas bem individualizado e caracterizado por uma banda mais forte, chamada aqui de banda principal, e também pela presença de pelo menos mais uma banda secundária, mais fraca. A exceção foi verificada para a *Scutellospora pellucida* com apenas uma única banda visível.

Fica bem evidente a distinção entre as oito espécies de fungos micorrízicos, principalmente pela diferença na altura de desnaturação da banda principal no gel de poliacrilamida com gradiente linear de desnaturação. Isto demonstra que a região amplificada apresenta polimorfismo entre as espécies estudadas e que esta técnica foi eficiente ao individualizar, inclusive, espécies pertencentes ao mesmo gênero, conforme constatado por Souza et al. (2004), avaliando a heterogeneidade entre espécies e isolados de gênero *Gigaspora*. A eficiência na separação entre as espécies de fungo aumenta com a análise conjunta de bandas primárias e secundárias, principalmente ao comparar espécies do mesmo gênero. A presença de bandas secundárias ou ribotipos é uma característica dos FMAs. Estes fungos apresentam polimorfismo intra-específico entre cópias do gene ribossomal (Souza et al., 2004).

A seqüência crescente de migração de DNA fúngico no gel de poliacrilamida iniciou-se com as duas espécies do gênero *Glomus* e, no outro extremo, observaram-se a *Scutellospora pellucida* e as duas *Gigaspora* spp.

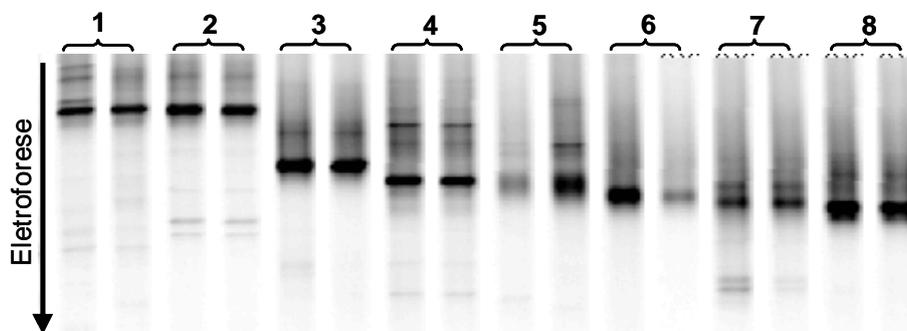


FIGURA 10 Perfil de DGGE amplificado das oito espécies de FMAs estudadas, direto dos esporos em cultura pura, com tempo de corrida de 16 h a 75V e gradiente desnaturante de 30% a 45%. Todas as amostras foram amplificadas com duplicatas independentes. 1= *Glomus clarum*, 2= *Glomus etunicatum*, 3= *Acaulospora scrobiculata*, 4= *Entrophospora colombiana*, 5= *Scutellospora heterogama*, 6= *Scutellospora pellucida*, 7= *Gigaspora margarita* e 8= *Gigaspora gigantea*.

Com altura de migração intermediária estava a *Acaulospora scrobiculata*, seguida da *Entrophospora colombiana* e *Scutellospora heterogama*. É seguro afirmar que este padrão de migração no gel de DGGE, entre as espécies de FMAs estudadas com os *primers* NS31-GC e AM1 e, principalmente, entre gêneros é muito consistente, sendo coerente com padrões observados por Santos et al. (2006) entre espécies do gênero *Glomus* e *Scutellospora*, por Öpik et al. (2003) entre *Glomus*, *Scutellospora* e espécies do gênero *Acaulospora* e por Kowalchuk et al. (2002), entre espécies de *Gigaspora*, *Scutellospora*, *Entrophospora* e *Glomus*. Os padrões de bandas verificados neste último estudo, obtidos de esporos das espécies *G. clarum*, *Gi. margarita* e *E. colombiana*, são semelhantes aos encontrados no presente trabalho quanto ao padrão da banda característica de cada espécie e ao posicionamento entre elas no gel, em relação ao gradiente de desnaturação.

O DNA das espécies de FMAs que colonizaram as raízes das quatro espécies de hospedeiros estudadas também foi extraído e analisado

semelhantemente à análise realizada com o material extraído direto dos esporos destes fungos em cultura pura. O perfil de DGGE destas amostras é apresentado na Figura 11. À semelhança do empregado para as amostras de esporos, as amostras de raízes também foram analisadas em duplicata independentes, sendo também escassos os padrões de bandas divergentes entre estas duplicatas. Para todas as amostras analisadas, independentemente da combinação de hospedeiro, nível de riqueza de espécies de FMAs no solo ou condição de cultivo individual e conjunto, foi possível identificar a presença de DNA micorrízico indicando a presença da colonização e o sucesso da análise neste aspecto.

Baseado no perfil de bandas do gel de DGGE obtido das raízes das quatro espécies vegetais estudadas, observou-se mudança no padrão de bandas entre os tratamentos estudados (Figura 11). Houve variação no perfil de bandas entre os diversos níveis de riqueza de espécies de FMAs no solo, indicando relação entre a composição de espécies de FMAs na comunidade no solo e a comunidade micorrízica nas raízes do hospedeiro. Com o incremento de espécies de fungos na comunidade do solo, houve tendência de aumento do número de espécies na comunidade radicular. Também ficou evidente a formação de combinações preferenciais, seja pela substituição de uma espécie fúngica por outra ou pela mudança da espécie dominante na comunidade ativa. Isto pode ser constatado por meio da análise da presença e da ausência de bandas e pela intensidade destas bandas, com base no padrão específico de cada espécie obtido dos esporos, pois a intensidade da banda guarda estreita relação de proporcionalidade com a quantidade de DNA alvo inicial (Muyzer & Smalla., 1998; Muyzer, 1999).

A variação no padrão de bandas de cada tratamento entre a condição de crescimento individual e conjunta dos hospedeiros foi mais discreta que a variação anteriormente verificada entre os vários níveis de riqueza de espécies

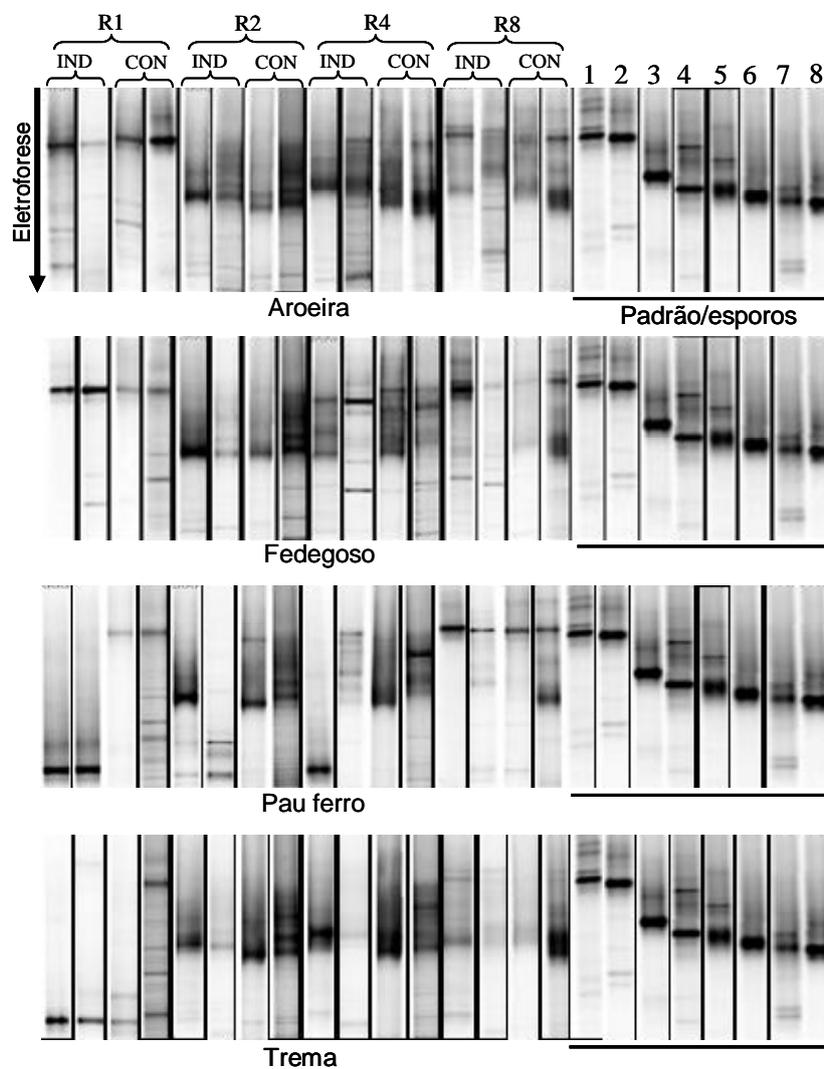


FIGURA 11 Perfil de DGGE de FMAs nas raízes dos hospedeiros, com tempo de corrida de 16 h a 75V e gradiente desnaturante de 30% a 45%. Cada tratamento foi analisado com duas amostras independentes. IND= crescimento individual, CON= crescimento conjunto. R1= *G. etunicatum*. R2= *G. etunicatum* + *Gi. margarita*. R4= *G. etunicatum* + *Gi. margarita* + *S. heterogama* + *A. scrobiculata*. R8= *G. etunicatum* + *Gi. margarita* + *S. heterogama* + *A. scrobiculata* + *G. clarum* + *Gi. gigantea* + *S. pellucida* + *E. colombiana*. 1= *G. clarum*, 2= *Gi. etunicatum*, 3= *A. scrobiculata*, 4= *E. colombiana*, 5= *S. heterogama*, 6= *S. pellucida*, 7= *G. margarita* e 8= *Gi. gigantea*.

de FMAs estudados. Ainda assim, foi possível visualizar alguma diferença no padrão de bandas entre o crescimento conjunto e individual, porém, muito restrita ao tratamento R4, com comunidade composta pelo *G. etunicatum*, *Gi. margarita*, *A. scrobiculata* e *S. heterogama*.

O padrão de bandas observado nas amostras do tratamento R1, para as amostras de raízes das quatro espécies de plantas (Figura 11), confirma a presença do *G. etunicatum* como única espécie de FMA da comunidade, em contraste com o padrão de cada uma das oito espécies de FMAs estudadas, obtido de esporos. Um aspecto peculiar foi observado para o pau-ferro e para a trema, sendo identificado um padrão de bandas diferente do padrão típico do *G. etunicatum* e também diferente de qualquer outra das espécies estudadas. No entanto, este padrão diferente de banda foi mais restrito às amostras da condição de crescimento individual, tendo, para o pau-ferro também sido encontrado nos tratamentos R2 e R4. Vale a pena salientar que nenhum esporo com características diferentes das apresentadas pela espécie *G. etunicatum* foi encontrado nos vasos do tratamento R1 conduzidos com o pau-ferro e com a trema, ao final do período experimental.

No tratamento com comunidade composta pelo *G. etunicatum* mais a *Gi. margarita*, foi possível identificar esta última com um padrão de banda forte e evidente, independente da espécie hospedeira e da condição de crescimento conjunta e individual. Ao contrário, o *G. etunicatum*, quando pôde ser identificado, apresentou um padrão de baixíssima intensidade, sendo encontrado principalmente sob crescimento conjunto das espécies hospedeiras, mesmo assim com certa dificuldade de identificação, a exemplo do pau-ferro e do fedegoso. Para a trema, não foi possível identificar com segurança a presença deste fungo em nenhuma das duas condições de crescimento (Figura 11).

Diante disso e das características analíticas do DGGE, é possível afirmar que a *Gi. margarita* colonizou os hospedeiros preferencialmente em detrimento

ao *G. etunicatum*. Mesmo quando as duas espécies foram identificadas no mesmo hospedeiro, a abundância relativa de DNA da *Gi. margarita* na colonização radicular foi superior à do *G. etunicatum*. Sob crescimento individual, o *G. etunicatum* foi encontrado, ainda assim pouco visível, apenas nas raízes da aroeira, sugerindo que, nesta situação e em competição com outro FMA, a aroeira foi o hospedeiro mais compatível. Isso pode ter contribuído para a colonização também do fedegoso e da trema quando em crescimento conjunto. Estes resultados indicam a formação de combinações preferenciais neste tipo de simbiose, tanto em relação às espécies de fungo encontradas colonizando a planta hospedeira quanto à espécie dominante na colonização radicular. Os resultados dos tratamentos seguintes, R4 e R8 com comunidades de fungos mais abundantes em espécies, confirmam estas observações.

Quando a comunidade de FMAs no solo foi composta pelo *G. etunicatum*, *G. margarita*, *A. scrobiculata* e *S. heterogama*, tratamento R4, observou-se o perfil de bandas de DGGE mais heterogêneo e diverso dentre os tratamentos de riqueza de FMAs estudados. Para as quatro espécies vegetais estudadas, foi observado que uma das espécies de FMAs dominou a comunidade ativa, exibindo um padrão de banda mais intenso que as demais espécies fungicas, exceção feita para trema em crescimento conjunto.

A espécie de FMA dominante na comunidade ativa tendeu a mudar com a espécie hospedeira avaliada e condição de crescimento. Sob crescimento individual, a *S. heterogama* dominou a comunidade ativa na aroeira e na trema, *A. scrobiculata* no fedegoso e *Gi. margarita* no pau-ferro. Enquanto, sob crescimento conjunto destes hospedeiros, a *S. heterogama* foi a espécie dominante no fedegoso e no pau-ferro, *Gi. margarita* na aroeira e *Gi. margarita* e *S. heterogama* na trema. Menos evidente, mas também verificado, foi a diferença quanto à diversidade de espécies colonizando os hospedeiros.

A trema, sob crescimento individual, foi a espécie mais restritiva, sendo possível identificar, mais facilmente, apenas *Gi. margarita* e *S. heterogama*, enquanto a aroeira, sob crescimento conjunto, foi a espécie mais generalista, sendo colonizada pelas quatro espécies de FMAs da comunidade do solo. Estes resultados revelam que, mesmo em crescimento conjunto, diferentes espécies hospedeiras podem abrigar distintas comunidade de FMAs, tanto em relação à riqueza de espécies de FMAs como à abundância relativa destas espécies e confirmam observações de campo utilizando a técnica de DGGE (Kowalchuk et al., 2002; Öpik et al., 2003; Santos et al., 2006) e outras técnicas moleculares (Helganson et al., 2002; Husband et al., 2002; Vandenkoornhuise et al., 2002; Vandenkoornhuise et al., 2003; Scheubin et al., 2004). No entanto, foi verificado também que a composição de espécies na comunidade de FMAs no solo pode ter grande influência sobre estes resultados, ou seja, quando uma das espécies se destaca com maior agressividade, colonizando indistintamente os hospedeiros, há pouca heterogeneidade nos resultados, como verificado nos tratamentos R2 e R8.

No tratamento R8, a comunidade de fungos no solo continha a máxima riqueza de espécies estudadas (*G. etunicatum*, *Gi. margarita*, *A. scrobiculata*, *S. heterogama*, *Gi. gigantea*, *S. pellucida*, *E. colombiana* e o *G. clarum*), mesmo assim, o padrão de bandas da comunidade ativa de FMAs variou pouco entre as espécies hospedeiras e condição de crescimento, em comparação ao tratamento R4. O *G. clarum* pôde ser identificado sob a condição de crescimento conjunto e individual e nas quatro espécies hospedeiras. Foi dele também o padrão de bandas mais intenso, quase que na totalidade das amostras, exceção feita para a trema em crescimento conjunto, a qual foi preferencialmente colonizada pela *Gi. margarita*. Isto pode ter contribuído para sua menor produção relativa de biomassa, em comparação às demais espécies vegetais. Apenas mais duas, das oito espécies inicialmente presentes na comunidade no solo, foram detectadas

com clareza nas raízes dos hospedeiros (Figura 11), sendo a *Gi. margarita* e a *S. heterogama*. A *Gi. margarita* não foi detectada no pau-ferro e na trema, ambos sob crescimento individual e a *S. heterogama* no fedegoso.

Verificou-se que os padrões de bandas de DGGE, quanto à abundância relativa das espécies de FMAs entre os tratamentos, foram coincidentes com os resultados observados pela contagem de esporos, principalmente quanto às espécies de FMA dominantes na comunidade fúngica. No entanto, a análise de DGGE foi menos eficiente em detectar a diversidade total de espécies de FMAs se comparada à contagem de esporos, como verificado para o tratamento de maior riqueza de FMAs. Neste caso, as espécies identificadas com poucos esporos no solo não foram visualizadas no gel de DGGE, sendo a maioria das espécies do tratamento R8 (Figura 11).

Kowalchuk et al. (2002) encontraram tendência semelhante, ao estudarem comunidades de FMAs associadas a *Ammophila arenaria*, uma espécie de pequeno porte comum em áreas costeiras na Holanda. O PCR-DGGE é capaz de detectar apenas populações de espécies com abundância relativa superior a 2%, numa comunidade diversa de microrganismos (Muyzer, 1999), indicando que aquelas espécies raras, quanto à quantidade de DNA alvo inicial, não serão detectadas na análise, o que ajuda a entender estes resultados.

O *G. clarum* mostrou-se muito competitivo e agressivo ao colonizar os hospedeiros no tratamento R8, dominando a comunidade ativa de FMAs em competição com espécies também competitivas como a *Gi. margarita* e a *S. heterogama*, conforme indicado para elas nos tratamentos R2 e R4 (Figura 11). O caráter de espécie generalista atribuído ao *G. clarum* por outro estudo do Laboratório de Microbiologia e Bioquímica do Solo da UFLA, desenvolvido por Pouyu-Rojas et al. (2006), contribui para o entendimento destes resultados. Neste estudo, esta foi a única espécie eficiente em aumentar o crescimento de todas as 16 espécies arbóreas estudadas, em relação ao tratamento não

inoculado, sendo também o tratamento mais eficiente para, pelo menos, 60% destas espécies em comparação com outras sete espécies de FMAs e mais duas comunidades nativas.

Outro aspecto interessante vem de observações de campo, acessando comunidades de FMAs nas raízes de seus hospedeiros com auxílio da biologia molecular e tem revelado que essas comunidades tendem a ser naturalmente dominadas por espécies do gênero *Glomus*. Isto tem sido observado tanto em relação à riqueza de espécies quanto à abundância relativa na colonização, como verificado para espécies arbóreas tropicais (Husband et al., 2002) e espécies de pequeno porte sob clima temperado (Kowalchuk et al., 2002; Vandenkoornhuise et al., 2002; Vandenkoornhuise et al., 2003; Öpik et al., 2003; Scheublin et al., 2004; Santos et al., 2006).

Analisando os perfis de DGGE sob um aspecto mais amplo, aumentando a quantidade de espécies de FMAs, constata-se que foi maior a diferença entre o padrão geral de bandas sob crescimento individual comparado ao crescimento conjunto (Figura 12). Além disso, o padrão de bandas entre as espécies hospedeiras foi mais heterogêneo sob crescimento individual que em conjunto; ao contrário, sob crescimento conjunto, foi possível identificar mais espécies de FMAs numa única espécie hospedeira. Também, pela variação na intensidade das bandas características de cada uma das espécies fúngicas identificadas, a contribuição relativa entre as espécies, para a colonização radicular, foi mais equilibrada sob crescimento conjunto. Isto ocorreu, principalmente, quando a comunidade de FMAs era mais rica em espécies, R4 e R8, indicando que, quando as espécies vegetais cresceram em coexistência, foi minimizado o efeito seletivo sobre as combinações específicas fungo-planta, observadas sob crescimento individual.

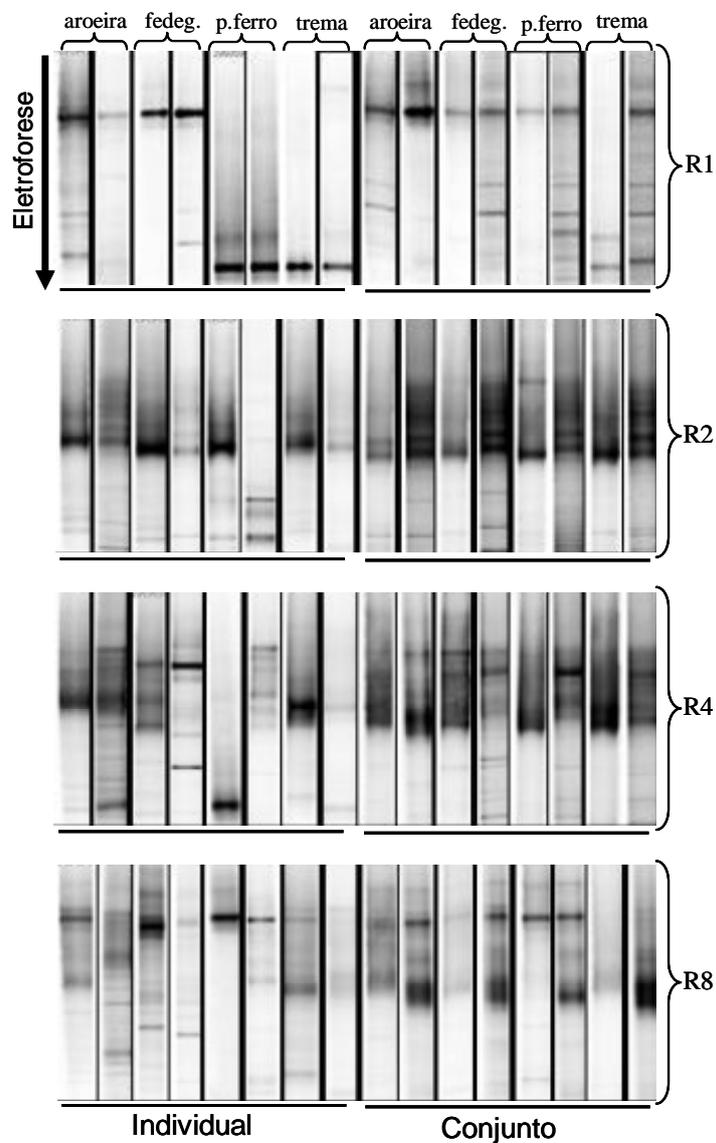


FIGURA 12 Perfil de DGGE de FMAs nas raízes da aroeira, fedegoso, pau-ferro e trema, agrupados por nível de riqueza da comunidade de fungos no solo. Tempo de corrida de 16 h a 75V e gradiente desnaturante de 30% a 45%. R1= *G. etunicatum*, R2= *G. etunicatum* + *Gi. margarita*. R4= *G. etunicatum* + *Gi. margarita* + *S. heterogama* + *A. scrobiculata*, R8= *G. etunicatum* + *Gi. margarita* + *S. heterogama* + *A. scrobiculata* + *G. clarum* + *Gi. gigantea* + *S. pellucida* + *E. colombiana*.

Os resultados gerais apresentados também sugerem que a competitividade entre as espécies de FMAs contribuiu muito para o perfil da comunidade desses fungos nas raízes das plantas. Quando a capacidade de colonizar o hospedeiro diferiu muito entre as espécies de FMAs, o perfil da comunidade ativa variou pouco entre hospedeiros e condição de crescimento, como verificado nos tratamentos R2 e R8. No entanto, quando havia mais espécies competitivas, como a *Gi. margarita* e a *A. heterogama* no tratamento R4, houve maior heterogeneidade dos resultados.

5 CONSIDERAÇÕES GERAIS

O comportamento das espécies vegetais estudadas, em relação à riqueza de espécies de FMAs no solo, demonstrou estreita relação entre a resposta das plantas em crescimento e a composição de espécies da comunidade fúngica. Verificou-se benefício do aumento da riqueza de espécies de FMAs sobre o crescimento dos hospedeiros, no entanto, este esteve relacionado à condição de crescimento das plantas. Crescendo individualmente, houve aumento inicial de biomassa associado ao aumento da riqueza de FMAs, porém, esta tendeu à estabilidade com o aumento de espécies destes fungos na comunidade do solo. Já, sob crescimento conjunto, a produção de biomassa da parte aérea total e por espécie de planta foi linear ao aumento da riqueza de FMAs. Isso indica que uma comunidade diversa de FMAs é mais importante para o crescimento de uma população de plantas e comunidade de espécies que para a planta individualmente. Este fato também foi comentado por Kernagham (2005), revelando que a condição de crescimento conjunto reflete melhor as condições que normalmente ocorrem na natureza, sendo mais indicada para acessar a relação existente entre os hospedeiros e seus simbioses.

Crescendo em conjunto, a produção relativa de biomassa entre as espécies foi mais equilibrada na presença de FMAs e também foi influenciada pela riqueza de espécies de fungos, sendo favorecidas as espécies hospedeiras menos competitivas na ausência de MAs, concordando com resultados obtidos por Flores-Aylas et al. (2003) e as mais dependentes da micotrofia, comportamento também verificado por Scheublin et al. (2007). Estes aspectos têm implicações ecológicas importantes e são confirmados por outros estudos, indicando que o crescimento das plantas em comunidades sob ambiente natural (Grime et al., 1987; Hartnett & Wilson, 1999; O'Connor et al., 2002) e plantios mistos de espécies nativas (Flores-Aylas et al., 2003) pode ser influenciado pela

presença de FMAs e pela riqueza ou diversidade de espécies das comunidades destes fungos no solo, como verificado por van der Heijden et al. (1998b) em comunidades vegetais de pequeno porte sob clima temperado.

Características individuais específicas quanto a micotrofia, nível de resposta em crescimento e grau de dependência micorrízica diferenciado entre as espécies vegetais, têm sido verificadas ao longo do desenvolvimento da pesquisa sobre MAs, o que altera as relações de competição entre espécies. Isto contribui para entender como os FMAs podem influenciar o crescimento das plantas em conjunto (van der Heijden et al., 1998b).

Este estudo também sugere que o efeito positivo do aumento da riqueza de FMAs no solo, para o crescimento das plantas em comunidade, pode ser devido ao somatório de benefícios individuais das espécies de FMAs ou, ainda, a possibilidade de formação de combinações preferenciais planta-fungo, o que tem relação com o caráter de compatibilidade entre os parceiros neste tipo de simbiose, evidenciado pelo estudo de Pouyu-Rojas et al. (2006). A alteração das relações de competição entre as espécies, nas comunidades de plantas, é um fator importante que tem reflexo para a produção de biomassa total e por espécie, alterando a estrutura da comunidade e, conseqüentemente, a dinâmica do ecossistema, devido à interferência sobre a produção primária.

Os resultados da análise de DGGE da comunidade ativa de FMAs nos diferentes hospedeiros indicam que a formação de combinações preferenciais planta-fungo pode ter sido o mecanismo principal responsável pela resposta das plantas ao aumento da riqueza de espécies de FMAs, verificada no presente estudo. Também houve tendência de aumento da riqueza de FMAs nas raízes associada ao aumento da riqueza no solo, porém, em várias das situações estudadas, apenas parte das espécies da comunidade do solo foi encontrada colonizando os hospedeiros. Além disso, dentre estas espécies nas raízes, houve diferença quanto à contribuição relativa para a colonização total. Estes

resultados foram muito dependentes da composição de espécies da comunidade fungica do solo, da espécie hospedeira e da condição de crescimento. A *G. margarita* colonizou preferencialmente os hospedeiros, em comunidade junto ao *G. etunicatum*. Quando, além destas duas espécies, a comunidade fúngica no solo foi composta também pela *A. scrobiculata* e *S. heterogama*, a comunidade nas raízes foi dominada preferencialmente pela *G. margarita* e *S. heterogama*. O *G. clarum* dominou a comunidade ativa no tratamento de maior riqueza de FMAs estudada, além disso, apenas mais duas espécies foram claramente identificadas colonizando as plantas (*G. margarita* e *S. heterogama*), em relação as oito espécies inicialmente inoculadas.

Estes resultados confirmam o estabelecimento de combinações preferenciais planta-fungo, indicam que as respostas das plantas à riqueza de FMAs é dependente da composição de espécies na comunidade fúngica, principalmente sob crescimento conjunto, e que o aumento da riqueza de FMAs contribui para o estabelecimento de espécies mais eficientes para os hospedeiros.

As espécies de FMAs, aqui estudadas, categorizadas como generalistas e com eficiência ampla para várias espécies hospedeiras, segundo Pouyu-Rojas et al. (2006), foram as dominantes da comunidade ativa em cada tratamento, quando não estava presente uma outra mais competitiva, indicando que, certamente, estas foram as espécies de FMAs que mais contribuiriam para o crescimento das plantas. Esta estratégia de avaliar a compatibilidade fungo-planta e a eficiência das combinações individualmente revela-se importante em prever quais espécies são potencialmente capazes de dominar a comunidade ativa, quando em competição, com reflexo para o crescimento das plantas em fase inicial.

Estes resultados são confirmados pelo estudo de Helgason et al. (2002), os quais observaram que a espécie *Glomus hoi*, que colonizou amplamente as espécies hospedeiras e aumentou o acúmulo de P na biomassa em combinações

individuais, foi a espécie preferencial quando em inóculo misto. Este é um aspecto importante a ser considerado, por exemplo, na escolha de espécies de plantas e FMAs, quando esta for a estratégia utilizada para a recuperação de áreas degradadas, o que poderá interferir no crescimento inicial das plantas e no sucesso do empreendimento.

6 CONCLUSÕES

- A riqueza de espécies de fungos micorrízicos arbusculares na comunidade do solo influencia o crescimento em fase inicial de espécies arbóreas nativas, especialmente em condição de coexistência das espécies de planta.
- O efeito positivo do aumento da riqueza de espécies de fungos micorrízicos arbusculares é mais dependente da composição de espécies destes fungos na comunidade do solo que do número total de espécies propriamente dita.
- A comunidade de fungos que coloniza as raízes depende da composição de espécies na comunidade fúngica do solo e relações preferenciais planta-fungo.
- O aumento da riqueza de espécies de fungos micorrízicos arbusculares favorece a produção mais equilibrada de biomassa entre as espécies de planta, beneficiando aquelas espécies mais dependentes das micorrizas arbusculares.
- A riqueza de espécies de fungos micorrízicos arbusculares influencia de modo positivo o acúmulo de nutrientes, embora existam diferenças relacionadas à espécie vegetal, à condição de crescimento e ao nutriente analisado.
- A presença de micorrizas e de comunidades mais ricas em espécies destes fungos favorece a expressão da plasticidade das espécies de plantas em comunidade.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BEGON, M.; HARPER, J.L.; TOWNSEND, C.R. **Ecology**: individuals, populations and communities. 3 ed. Oxford, Blewell Science. 1996. 1068p.

BEVER, J.D. Negative feedback within a mutualism: host-specific growth of mycorrhizal fungi reduces plant benefit. **Proceeding of the Royal Society of London**, v. 269, p. 2595-2601, 2002.

BEVER, J.D.; MORTON, J.B.; ANTONOVICS, J.; SCHULTZ, P.A. Host-dependent sporulation and species diversity of arbuscular-mycorrhizal fungi in a mown grassland. **Journal of Ecology**, v. 84, p. 71-82, 1996.

BEVER, J.D.; SCHULTZ, P.A.; MORTON, J.B. Mycorrhizal fungi: more diverse than meets the eye, and the ecological tale of why. **BioScience**, v. 51, n. 11, p. 923-931, Nov. 2001.

CARNEIRO, M.A.C.; SIQUEIRA, J.O.; DAVIDE, A.C.; GOMES, L.J.; CURTI, N. Fungo micorrízico e superfosfato no crescimento de espécies arbóreas tropicais. **Cientia Forestalis**, n. 50, p. 21-36, 1996.

CARNEIRO, M.A.C.; SIQUEIRA, J.O.; MOREIRA, F.M.S.; CARVALHO, D.; BOTELHO, S.A.; SAGGIN-JUNIOR, O.J. Micorriza arbuscular em espécies arbóreas e arbustivas nativas de ocorrência no sudeste do Brasil. **Cerne**, v. 4, p. 129-145, 1998.

DAVIDE, A. C.; FARIA, J. M. R.; BOTELHO, S. A. **Propagação de espécies florestais**. Belo Horizonte: CEMIG/UFLA/FAEPE, 1995. 40 p.

FACELLI, E.; FACELLI, J. M.; SMITH, S. E.; MCLAGHIN, M. J. Interactive effects of arbuscular mycorrhizal symbiosis, intraspecific competition and resource availability on *Trifolium subterraneum* cv. Mt. Barker. **New Phytology**, v. 141, p. 535-547, 1999.

FERREIRA, D. F. Análises estatísticas por meio do Sisvar para Windows 4. 0. In: REUNIÃO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA, 45., 2000, São Carlos. **Programas e resumos...** São Carlos, SP: UFSCAR, 2000. p. 255-258.

FERREIRA, M.E.; GRATTAPAGLIA, D. **Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética**. 3.ed. Brasília: Embrapa, 1998. 220 p.

FINE, P.V.A.; MESONES, I.; COLEY, P.D. Herbivores promote habitat specialization by trees in Amazonian forest. **Science**, v. 305, p. 663-665, July 2004.

FLORES-AYLAS, W.W.; SAGGIN-JUNIOR, O.J.; SIQUEIRA, J.O.; DAVIDE, A.C. Efeito de *Glomus etunicatum* e fósforo no crescimento inicial de espécies arbóreas em semeadura direta. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 38, n. 2, p. 257-266, fev. 2003.

FRANCIS, R.; READ, D.J. The contributions of mycorrhizal fungi to the determination of plant community structure. **Plant and Soil**, v. 159, n. 1, Feb. 1994. (International Symposium on Management of Mycorrhizas in Agriculture, Horticulture and Forestry)

GERDEMANN, J.W.; NICOLSON, T. H. Spores of mycorrhizal *Endogone* species extracted from soil wet sieving and decanting. **Transactions of British Mycological Society**, Cambridge, v. 46, n. 2, p. 235-244, Apr. 1963.

GIOVANNETTI, M.; MOSSE, B. An evaluation of techniques to measure vesicular-arbuscular mycorrhizal infection on roots. **New Phytologist**, Oxford, v. 84, n. 3, p. 489-500, 1980.

GRIME, J.P.; MACKEY, J.M.L.; HILLIER, S.H.; READ, D.J. Floristic diversity in a model system using experimental microcosms. **Nature**, v. 328, n. 30, p. 420-422, July 1987.

HABTE, M.; MANJUNATH, A. Categories of vesicular arbuscular mycorrhizal dependency of host species. **Mycorrhiza**, Berlin, v. 1, n. 1, p. 3-12, 1991.

HARTNETT, D.C.; WILSON, G.W.T. Mycorrhizae influence plant community structure and diversity in tallgrass prairie. **Ecology**, v. 80, n. 4, p. 1187-1195, 1999.

HELGASON, T.; DANIELL, T.J.; HUSBAND, R.F.; FITTER, A.H.; YOUNG, J.P.W. Ploughing up the wood-wid web? **Nature**, v.394, p. 431, 1998.

HELGASON, T.; MERRYWEATHER, J. W.; DENISON, J.; WILSON, P.; YOUNG, J. P. W.; FITTER, H. Selectivity and functional diversity in arbuscular mycorrhizas of co-occurring fungi and plants from a temperate deciduous woodland. **Journal of Ecology**, v. 90, p. 371-384, 2002.

HOAGLAND, D.R.; ARNON, D.I. **The water culture method of growing plants without soil**. Berkeley: University of California, 1950. 32 p.

HOOPER, D.U.; BIGNELL, D.E.; BROWN, V.K. et al. Interactions between aboveground and belowground biodiversity in terrestrial ecosystems: patterns, mechanisms, and feedbacks. **BioScience**, v. 50, n. 12, p. 1049-1061, Dec. 2000.

HUSBAND, R.; HERRE, E.A; YOUNG, J.B.W. Temporal variation in the arbuscular mycorrhizal communities colonising seedling in a tropical forest. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 42, p. 131-136, 2002.

JANOS, D.P. Mycorrhizae influence tropical succession. **Biotropica**, v. 12, p.56-64, 1980a.

JANOS, D.P. Vesicular arbuscular mycorrhizae affect lowland tropical rain forest plant growth. **Ecology**, v. 61, p. 151-162, 1980b.

JOHNSON, D.; VANDENKOORNHUYSE, P.J.; LEAKE, J.R. et al. Plant communities affect arbuscular mycorrhizal fungal diversity and community composition in grassland microcosms. **New Phytologist**, v. 161, p. 503-505, 2003.

JOHNSON, N.; TILMAN, D.; WEDIN, D. Plant and soil controls on mycorrhizal fungal communities. **Ecology**, v. 73, p. 2034-2042, 1992.

KERNAGHAN, G. Mycorrhizal diversity: cause and effect? **Pedologia**, v. 49, p. 511-520, 2005.

KLIRONOMOS, J.N. Feedback with soil biota contributes to plant rarity and invasiveness in communities. **Nature**, v. 417, n. 2, p. 67-70, May 2002.

KOIDE, R.T. Nutrient supply, nutrient demand and plant response to mycorrhizal infection. **The New Phytologist**, Oxford, v. 117, n. 3, p. 365-386, Mar. 1991.

KOWALCHUK, G.A.; SOUZA, F.A. de; van VEEN, J.A. Community analysis of arbuscular mycorrhizal fungi associated with *Ammophila arenaria* in Dutch coastal sand dunes. **Molecular Ecology**, v.11, p. 571-581, 2002.

LANKAU, R.A.; STRAUSS, S.Y. Mutual feedbacks maintain both genetic and species diversity in a plant community. **Science**, v. 317, p. 1561-1563, 2007.

LIAIO, C.F.H. Devarda's alloy method for total nitrogen determination. **S. S. S. American Journal**, Madison, v. 45, n. 5, p. 852-855, Sept./Oct. 1981.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. 3.ed. Plantarum, Nova Odessa, SP: 2000. v.1.

LOVATO, P. E.; TROUVETOT, A.; GIANINAZZI-PEARSON, V.; PEARSON, S. Micorrização de plantas micropropagadas. In: SIQUEIRA, J.O. (Ed.). **Avanços em fundamentos e aplicação de micorrizas**. Lavras, MG: UFLA, 1996. p.175-201.

MÍTZI, B.; LACA-BUENDÍA, J. P.; MACEDO, J.F. **Árvores nativas e exóticas de Minas Gerais**. Belo Horizonte: EPAMIG, 2002. p. 528.

MORIN, P.J.. Biodiversity's ups and downs. **Nature**, v. 406, p. 463-464, Aug. 2000.

MUYZER, G. DGGE/TGGE a method for identifying genes from natural ecosystems. **Current Opinion in Microbiology**, v. 2, p. 317-322, 1999.

MUYZER, G.; HOTTENTRÄGER, S.; TESKE, A.; WAWER, C. Denaturing gradient gel electrophoresis of PCR-amplified 16S rDNA – A new molecular approach to analyse the genetic diversity of mixed microbial communities. **Molecular Microbial Ecology Manual**. Kluwer Academic Publishers, Netherlands. v.3.4.4, p. 1-23, 1996.

MUYZER, G.; SMALLA, K. Application of denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE) and temperature gradient gel electrophoresis (TGGE) in microbial ecology. **Antonie van Leeuwenhoek**, v. 73, p. 127-141, 1998.

O'CONNOR, P.J.; SMITH, S.E.; SMITH, F.A. Arbuscular mycorrhizas influence plant diversity and community structure in a semiarid herbland. **New Phytologist**, v. 154, p. 209-218, 2002.

OCAMPO, J.A.; MARTIN, J.; HAYMAN, D.S. Influence of plant interactions on vesicular-arbuscular mycorrhizal infections. I. Host and non-host plants grown together. **New Phytologist**, v. 84, p. 27-35, 1980.

ODUM, E.P. **Ecologia**. Rio de Janeiro, RJ: Guanabara, 1988. 434 p.
ÖPIK, M.; MOORA, M.; LIIRA, J.; KOLJALG, U.; ZOBEL, M.; SEN, R. Divergent arbuscular mycorrhizal fungal communities colonize roots of *Pulsatilla* ssp. in boreal Scots pine forest and grassland soils. **New Phytologist**, v. 160, p. 581-593, 2003.

PARON, M.E.; SIQUEIRA, J.O.; CURI, N. Fungo micorrízico, fósforo e nitrogênio no crescimento inicial da trema e do fedegoso. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 21, p. 567-574, 1997.

PHILLIPS, J.M.; HAYMAN, D.S. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. **Transactions of the British Mycological Society**, London, v. 55, n. 1, p. 158-161, Aug. 1970.

POUYÚ-ROJAS, E.; SIQUEIRA, J.O. Micorriza arbuscular e fertilização do solo no desenvolvimento pós-transplante de mudas de sete espécies florestais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 35, n. 1, p. 103-114, jan. 2000.

POUYÚ-ROJAS, E.; SIQUEIRA, J.O.; SANTOS, J.G.D. Compatibilidade simbiótica de fungos micorrízicos arbusculares com mudas de espécies arbóreas tropicais. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, MG, v. 30, p. 413-424, 2006.

QIU, X.; WU, L.; HUANG, H.; McDONEL, P.E.; PALUMBO, A.V.; TIEDJE, J.M.; ZHOV, J. Evaluation of PCR-Generated Chimeras, Mutantions, and Heteroduplexes with 16S rRNA Gene-Based Cloning. **Applied Environmental Microbiology**, v. 67, n 2, p 880-887, 2001.

RAIJ, B. van. **Avaliação da fertilidade do solo**. Piracicaba: POTAFOS, 1981. 142 p.

SANTOS, J.C.; FINLAY, R.D.; TEHLER, A. Molecular analysis of arbuscular mycorrhizal fungi colonising a semi-natural grassland along a fertilisation gradient. **New Phytologist**, v. 172, p. 159-168, 2006.

SANTOS, J.G.D.; SIQUEIRA, J.O.; MOREIRA, F.M.S. Eficiência de fungos micorrízicos arbusculares, de áreas de mineração de bauxita, no crescimento de arbóreas nativas. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, 2007. No prelo.

SCHEUBLIN, T.R.; RIDGWAY, K.P.; YOUNG, J.P.W.; van der HEIJDEN, M.G.A.. Nonlegumes, legumes, and root nodules harbor different arbuscular mycorrhizal fungal communities. **Applied and Enviromental Microbiology**, v. 70, p. 6240-6246, Oct. 2004.

SCHEUBLIN, T. R.; van LOGTESTIJN, R. S. P.; van der HEIJDEN, M. Presence and identity of arbuscular mycorrhizal fungi influence competitive interactions between plant species. **Journal of Ecology**, v. 95, p. 631-638, 2007.

SIMON, L.; LALONDE, M.; BRUNS, T.D. Specific amplification of 18S fungal ribosomal genes from vesicular arbuscular mycorrhizal fungi communities. **Applied Environmental Microbiology**, v. 58, p. 291-295, 1992.

SIQUEIRA, J.O.; CARNEIRO, M.A.C.; CURI, N.; ROSADO, S.C.S.; DAVIDE, A.C. Mycorrhizal colonization and mycotrophic growth of native woody species as related to successional groups in Southeastern Brazil. **Forest Ecology and Management**, Amsterdam, v. 107, n.1/3, p. 241-252, Aug. 1998.

SIQUEIRA, J.O.; SAGGIN-JÚNIOR, O.J. The importance of mycorrhizae association in natural low-fertility soils. In: MACHADO, A.T.; SILVA, A.F. (Ed.). **International symposium on environmental stress: maize in perspective**. México: EMBRAPA/CNPMS/CIMMYT/UNDP, 1995. p. 240-280.

SIQUEIRA, J.O.; SAGGIN-JÚNIOR, O.J. Dependency on arbuscular mycorrhizal fungi and responsiveness of Brazilian native woody species. **Mycorrhiza**, New York, v. 11, n. 5, p. 245-255, Oct. 2001.

SIQUEIRA, J. O.; SOARES, C.R.F.S.; SANTOS, J. G. D.; SCHNEIDER, J.; CARNEIRO, M.A.C. Micorrizas e a degradação do solo: caracterização, efeitos e ação recuperadora. In: SOCIEDADE BRASILEIRA DE CIÊNCIAS DO SOLO. **Tópicos em ciência do solo**. Viçosa, MG, 2007. v. 5. p. 219-306.

SIQUEIRA, J.O.; SYLVIA, D.M.; GIBSON, J.; HUBBELL, D.H. Spores, germination, and germ tubes of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. **Canadian Journal of Microbiology**, Ottawa, v. 31, n. 11, p. 965-972, Nov. 1985.

SMITH, S.; SMITH, F. A.; JAKOBSEN, I. Functional diversity in arbuscular mycorrhizal symbiose: the contribution of the mycorrhizal P uptake pathway is not correlated with mycorrhizal responses in growth or total P uptake. **New Phytology**, v. 162, p. 511-524, 2004.

SMITH, S.E.; READ, D.J. **Mycorrhizal symbiosis**. 2.ed. New York: Academic, 1997. 604 p.

SOUZA, F.A. de; KOWALCHUK, G.A.; LEEFLANG, P.; van VEEN, J.A.; SMIT, E. PCR-Denaturing gradient gel electrophoresis profiling of inter – and intraspecies 18S rRNA gene sequence heterogeneity is an accurate and sensitive method to assess species diversity of arbuscular mycorrhizal fungi of the genus *Gigaspora*. **Applied and Environmental Microbiology**, p. 1413- 1424, 2004.

van der HEIJDEN, M.G.A.; BOLLER, T.; WIEMKEN, A.; SANDERS, I.R. Different arbuscular mycorrhizal fungal species are potential determinants of plant community structure. **Ecology**, v. 79, n. 6, p. 2082-2091, Sept. 1998a.

van der HEIJDEN, M.G.A.; KLIRONOMOS, J.N.; URSIC, M. et al. Mycorrhizal fungal diversity determines plant biodiversity, ecosystem variability and productivity. **Nature**, v. 396, n. 5, p. 69-72, Nov. 1998b.

van der HEIJDEN, M.G.A.; WIEMKEN, A.; SANDERS, I.R. Different arbuscular mycorrhizal fungi alter coexistence and resource distribution between co-occurring plants. **New Phytologist**, v. 157, 569-578, 2003.

VANDENKOORNHUYSE, P.; HUSBAND, R.; DANIELL, T.J. et al. Arbuscular mycorrhizal community composition associated with two plant species in a grassland ecosystem. **Molecular Ecology**, v. 11, p. 1555-1564, 2002.

VANDENKOORNHUYSE, P.; RIDGWAY, K.P.; WATSON, I.J. et al. Co-existing grass species have distinctive arbuscular mycorrhizal communities. **Molecular Ecology**, v. 12, p. 3085-3095, 2003.

ZANGARO, V.; NISIZAKI, S.M.A.; DOMINGOS, J.C.B.; NAKANO, E.M. Micorriza arbuscular em espécies arbóreas nativas da bacia do rio Tibagi, Paraná. **Cerne**, Lavras, v. 8, n. 1, p. 77-87, 2002.

ZAROSKY, R.J.; BURAU, R.G. A rapid nitric perchloric acid digestion method for multi element tissue analysis. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, New York, v. 8, n. 5, p. 425-436, 1977.

WARDLE, D.A.; BARDGETT, R.D.; KLIRONOMOS, J.N. et al. Ecological linkages between aboveground and belowground biota. **Science**, v. 304, June, p. 509-513, 2004.

WHITHAM, T.G.; YOUNG, P.W.; MARTINSEN, G.D.; GEHRING, C.A. et al. Community and ecosystem genetics: a consequence of the extended phenotype. **Ecology**, v. 84, p. 559-573, 2003.