



RADIOAGRONOMIA

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE TECNOLOGIA E GEOCIÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE ENERGIA NUCLEAR
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM TECNOLOGIAS
ENERGÉTICAS E NUCLEARES**



UFPE

USO E PROPRIEDADES DO SOLO: EFEITOS NAS MICORRIZAS ARBUSCULARES

DOUTORANDA: REGINA LÚCIA FÉLIX DE AGUIAR

ORIENTADOR: IGNACIO HERNAN SALCEDO

**RECIFE
PERNAMBUCO
2004**

USO E PROPRIEDADES DO SOLO: EFEITOS NAS MICORRIZAS ARBUSCULARES**REGINA LÚCIA FÉLIX DE AGUIAR**

Tese Apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Tecnologias Energéticas e Nucleares-PROTEN, do Departamento de Energia Nuclear da Universidade Federal de Pernambuco, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Tecnologias Energéticas e Nucleares na Área de Aplicação de Radioisótopos/ Fertilidade de Solos.

ORIENTADOR: PROF. DR. IGNACIO HERNAN SALCEDO

**RECIFE
PERNAMBUCO
2004**

Aguiar, Regina Lúcia Félix de
Uso e propriedades do solo : efeitos nas micorrizas arbusculares / Regina Lúcia Félix de Aguiar. – Recife : O Autor, 2004.
viii, 65 folhas : il., fig., gráf., tab.

Tese (doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco. CTG. Energia Nuclear, 2004.

Inclui bibliografia.

1. Uso do solo - Conversão. 2. Fungos micorrízicos arbusculares. 3. Fósforo – Adsorção – Matéria orgânica do solo. 4. Ecologia – Fungos micorrízicos. I. Título.

**621.039
631.4**

**CDU (2.ed.)
CDD (21.ed.)**

**UFPE
BC2005-045**

USO E PROPRIEDADES DO SOLO: EFEITOS NAS MICORRIZAS ARBUSCULARES

Regina Lúcia Félix de Aguiar

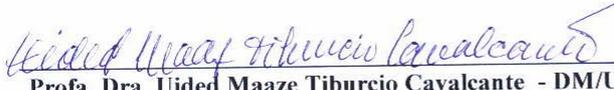
APROVADA EM: 26.11.2004

ORIENTADOR: Prof. Dr. Ignácio Hernan Salcedo

COMISSÃO EXAMINADORA:



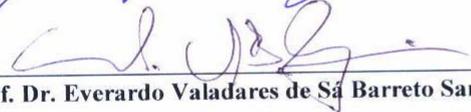
Profa. Dra. Leonor Costa Maia - DM/UFPE



Profa. Dra. Uided Maaze Tiburcio Cavalcante - DM/UFPE



Profa. Dra. Vânia da Silva Fraga - DSER/UFPB



Prof. Dr. Everardo Valadares de Sá Barreto Sampaio - DEN/UFPE



Prof. Dr. Ignácio Hernan Salcedo - DEN/UFPE

Visto e permitida a impressão



Coordenador do PROTEN/DEN/UFPE

A Claudemiro de Lima Júnior, meu esposo, e ao nosso bebê, dedico.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por ajudar a manter a força e determinação.

Ao Dr. Ignacio Hernan Salcedo, meu orientador, pelos anos de convívio e de amizade e pela orientação para a tese e para a vida.

A Claudemiro Junior pelo apoio, dedicação e paciência para molhar plantinhas muitos e muitos finais de semana.

Aos meus pais, Benedito e Maria das Graças, e aos meus irmãos, Reginaldo, Rogério, Benedito, Rosângela, Roney e Francisca pelo carinho, apoio e incentivo.

Aos Doutores Everardo Sampaio, Leonor Maia e Rômulo Menezes, participantes do Comitê de Acompanhamento, pelas críticas e sugestões.

Aos Doutores Everardo Sampaio, Leonor Maia e Uided Maaze e Vânia Fraga, pela participação na banca de defesa da tese com críticas e sugestões.

À Doutora Rosilaine Carrenho, Universidade Estadual de Maringá, pela acolhida e pela orientação na identificação dos FMA.

Aos amigos e aos familiares Iranise, Raquel, Narivânia, Claudemiro, Elizabete, Rafael, Tatiana, Márcia, Vagner, Schirley, Fábio, Myrna, Paula, Marlene, Marino, Diva, Jota, Ana, Urley, Artur, Francisca, Raimundo, Mônica, Frank, Flávia, Aurélio, Valéria e Alexandre, pela presença e carinho que tornaram esta jornada agradável.

Aos alunos e técnicos do grupo de Radioagronomia Antônio, Eduardo, Fábio, Romualdo, Sandra, Tadeu, Claudenice, Pedro, Gilberto e Clarindo pelo auxílio prestado e pela amizade.

Aos Professores do PROTEN/DEN pelos conhecimentos transmitidos.

Ao Dr. Carlos Brayner, coordenador do PROTEN, pela presença e apoio.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudo.

Ao Inter American Institute for Global Change Research - IAI e ao Conselho Nacional de Pesquisa CNPq, pelo financiamento da pesquisa.

A todos estes, meus sinceros agradecimentos.

SUMÁRIO

Lista de Figuras	vii
Lista de Tabelas	viii
Resumo	1
Abstract	3
Introdução	5
Revisão de Literatura	7
Capítulo 1 - Densidade e viabilidade de esporos de FMA e colonização de raízes em solos do semi-árido com diferentes coberturas vegetais	20
1.1. Introdução.....	21
1.2. Material e Métodos.....	21
1.3. Resultados e Discussão.....	23
1.4. Conclusões.....	27
1.5. Referências Bibliográficas.....	28
Capítulo 2 – Fungos micorrízicos arbusculares em áreas de Brejo com diferentes usos do solo	30
2.1. Introdução.....	31
2.2. Material e Métodos.....	32
2.3. Resultados e Discussão.....	35
2.4. Conclusões.....	41
2.5. Referências Bibliográficas.....	41
Capítulo 3: Absorção de fósforo por micorrizas arbusculares em solos com crescente capacidade de fixação de P	45
3.1. Introdução.....	46
3.2. Material e Métodos.....	47
3.3. Resultados e Discussão.....	50
3.4. Conclusões.....	62
3.5. Referências Bibliográficas.....	62

LISTA DE FIGURAS

Nº	Título	Pág.
1.1.	Estruturas de FMA observadas nas raízes em áreas de caatinga e cultivadas nas camadas 0-7,5 cm e 7,5-15 cm.....	26
1.2.	Relação entre as classes de colonização radicular por FMA e a quantidade de fósforo extraível na camada 0-7,5 cm (\pm erro padrão).....	27
3.1.	Vaso com compartimentos usado nos ensaios: a) vista lateral, b) vista superior.....	48
3.2.	Massa seca, conteúdo de P e atividade específica da parte aérea de braquiária, em solos com diferentes capacidades de fixação de fósforo.....	53
3.3.	Massa seca, conteúdo de P e atividade específica de raiz de braquiária com acesso restrito ao solo (malha 40 mm), em solos com diferentes capacidades de fixação de fósforo.....	54
3.4.	Massa seca da parte aérea de braquiária em vasos com malha de 1 mm ou 40 μ m, sem (s/MO) ou com adição de matéria orgânica (palha ou celulose), em solos com alta ou baixa capacidade de fixação de P.....	58
3.5.	Conteúdo de P na parte aérea de braquiária em vasos com malha de 1 mm ou 40 μ m, sem (s/MO) ou com adição de matéria orgânica (palha ou celulose), em solos com alta ou baixa capacidade de fixação de P.....	59
3.6.	Atividade específica do P na parte aérea de braquiária em vasos com malha de 1 mm ou 40 μ m, sem (s/MO) ou com adição de matéria orgânica (palha ou celulose), em solos com alta ou baixa capacidade de fixação de P.....	60
3.7.	Massa seca, conteúdo de ^{31}P e atividade específica do fósforo nas raízes de braquiária decorrente da absorção por hifas de FMA (malha 40 μ m).....	61

LISTA DE TABELAS

Nº	Título	Pág.
1.1.	Densidade média de esporos viáveis e não viáveis (número de esporos/50g de solo) nas camadas 0-7,5 cm e 7,5-15 cm em áreas de caatinga e cultivadas.....	24
1.2.	Frequência de classes de colonização radicular por FMA em áreas de caatinga e cultivadas nas camadas 0-7,5 cm e 7,5-15 cm.....	25
2.1.	Textura, temperatura, pH e fósforo do solo (0-15 cm de profundidade) das áreas com diferentes usos do solo.....	33
2.2.	Distribuição de espécies de FMA nas áreas com diferentes usos do solo.....	37
2.3.	Efeito da cobertura vegetal sobre o número e a viabilidade de esporos de FMA.....	38
2.4.	Efeito da cobertura vegetal sobre a colonização micorrízica (%) de raízes em folheto e solo.....	39
2.5.	Potencial de inóculo micorrízico do solo medido pelo número mais provável (NMP) de propágulos infectivos de FMA e pela colonização micorrízica (CM) em amostras de solo indeformadas.....	40
3.1.	Capacidade de adsorção de P (mg Kg^{-1} de solo) dos solos selecionados.....	47
3.2.	Características físicas e químicas dos solos selecionados.....	47
3.3.	Massa de solo e areia nos compartimentos externo e interno dos vasos.....	49
3.4.	Densidade e viabilidade de esporos de FMA (número de esporos/50g de solo).....	50
3.5.	Relação da massa seca, conteúdo de fósforo e atividade específica das plantas entre vasos com malha 40 μm e com 1 mm, nos solos com diferentes graus de fixação de P.....	55

RESUMO

Os fungos micorrízicos arbusculares (FMA) são componentes importantes dos ecossistemas, pois eles associam-se a plantas e incrementam a absorção de fósforo, sendo importante estudar os efeitos da conversão de áreas nativas em pastagem ou cultivo sobre os FMA em áreas de Caatinga e de Mata Atlântica de Altitude, e avaliar a capacidade de plantas micorrizadas em absorver P de solos com crescente capacidade de fixação de P ou em situação de competição com biota heterotrófica pelo P do solo. No estudo realizado em áreas nativas de caatinga convertidas em pastagem ou cultivo, com declínio na fertilidade do solo e sinais de erosão, o objetivo foi investigar o efeito da mudança no uso destas áreas sobre a qualidade e a quantidade de propágulos de FMA. Amostras de solo tinham sido retiradas de 10 locais contendo áreas de caatinga adjacentes a áreas sob cultivo ou pastagem, nas profundidades 0-7,5 e 7,5-15 cm, ao longo de transeções com quatro pontos de amostragem (10 locais \times 2 situações de uso \times 2 profundidades \times 4 pontos amostrais). A intensidade de uso e da erosão do solo foram usadas para agrupar as áreas nas categorias: Caatinga preservada (CaatP), Caatinga raleada (CaatR), Cultivada preservada (CultP) e Cultivada degradada (CultD). O solo foi analisado quanto à disponibilidade de P e a quantidade de esporos de FMA viáveis, usando cloreto de iodonitrotetrazólio (INT), e dos não viáveis. As raízes finas foram catadas, coloridas com azul de tripan e analisadas a colonização por FMA. O número de esporos viáveis e não viáveis nas áreas de estudo foi maior na profundidade 0-7,5 cm que na 7,5-15 cm. A densidade de esporos viáveis nas amostras variou de 1,4 a 6,8 esporos/50 g de solo e a de esporos não viáveis de 91 a 226 esporos/50 g de solo. A mudança intensidade do uso do solo teve pouco efeito sobre o número de esporos viáveis, enquanto o aumento da profundidade promoveu diminuição no número de esporos. A colonização das raízes por FMA nas áreas cultivadas com concentrações de P-resina $< 1 \text{ mg Kg}^{-1}$ foram menores que em áreas com teores $> 1 \text{ mg Kg}^{-1}$, na profundidade 0-7,5 cm, o que talvez indique uma concentração crítica de P no solo para viabilizar a simbiose.

Para estudar o efeito da conversão de uma área de Mata Atlântica de Altitude em pastagem (*Brachiaria decumbens* Stapf) e em reflorestamento com sabiá (*Mimosa caesalpinifolia* Benth) sobre a diversidade de espécies e os propágulos de FMA foram retiradas sete amostras de solo (pseudorepetições), da camada de 0-15 cm de profundidade, totalizando 21 amostras (3 locais com diferentes usos \times 7 pontos amostrais). Foi coletado o folheto que estava sobre a área onde seriam retiradas as amostras de solo. As raízes do solo e folheto foram preparadas para verificação de colonização por FMA. Esporos de FMA foram extraídos do solo e contados os viáveis (corados por INT), os não viáveis e os mumificados. Nas três áreas foram encontradas 28 espécies de FMA, distribuídas nos gêneros *Archaeospora* (1), *Acaulospora* (8), *Entrophospora* (1), *Glomus* (14), *Gigaspora* (1) e *Scutellospora* (3). A área de pastagem teve

maior riqueza de espécies (22 espécies), seguida pela área de sabiá (14) e pela de mata (11). *Archaeospora leptoticha*, *Glomus* sp1, *G. etunicatum*, *G. macrocarpum* e *G. microaggregatum* ocorreram em todas as áreas. Nas áreas com mata e com sabiá as espécies *Glomus invermaium* e *G. macrocarpum* tiveram maior frequência, enquanto na pastagem as espécies mais frequentes foram *Entrophospora colombiana*, *Glomus diaphanum* e *G. macrocarpum*. Na área de mata teve uma espécie de FMA com ocorrência exclusiva, na de sabiá foram duas espécies e na de pastagem foram 11 espécies. As áreas de mata nativa e de reflorestamento com sabiá apresentaram infectividade micorrízica semelhantes, e a grande proporção de raízes colonizadas pareceu ser a fonte principal de propágulos nestes locais. Na área com pastagem a grande quantidade de esporos viáveis pode ser o fator mais importante para a manutenção da infectividade micorrízica.

Foi estudado o efeito dos FMA no favorecimento da absorção de fósforo (P) por plantas em solos com capacidade crescente de fixação de P, e também na competição pelo P do solo entre plantas e a biota heterotrófica, ativada pela adição de fontes de carbono. Foram montados dois experimentos, com delineamento ao acaso, em vasos com dois compartimentos concêntricos, o compartimento interno contendo areia lavada e o externo solo marcado com o isótopo radioativo ^{32}P . O compartimento interno dos vasos continha aberturas laterais, nas quais foram coladas telas de nylon: ou com malha 40 μm , que permite a passagem de hifas e não a de raízes, ou malha com 1 mm, pela qual passam hifas e raízes. O arranjo fatorial do primeiro experimento foi de 3 solos (alta, média e baixa fixação de P) \times 2 telas (40 μm e 1 mm) \times 4 repetições. No segundo experimento o arranjo foi de 2 solos (alta e baixa fixação de P) \times 2 fontes de C (celulose e palha) \times 2 telas (40 μm e 1 mm) \times 3 repetições. No compartimento interno foram colocados esporos de FMA e plântulas de braquiária. Os experimentos tiveram duração de cinco semanas. Avaliou-se a massa seca, o conteúdo de P e a atividade específica do P nas plantas. A massa seca e o conteúdo de P e a atividade específica diminuíram com o aumento da capacidade de fixação de P pelo solo. A variação na atividade específica sugere diferentes níveis de diluição isotópica em cada solo. A contribuição dos FMA para massa seca e conteúdo de P foi maior com o aumento da fixação de P pelo solo. A adição de fontes de carbono ao solo com baixa fixação de P produziu diminuição na massa seca e no conteúdo de P nas plantas. A celulose teve efeito mais depressivo que a palha. A variação na atividade específica indicou que o P disponível para as plantas foi de distintas origens no tratamento com palha e celulose. No solo de alta fixação, a adição de celulose produziu diminuição de massa seca, conteúdo de P e atividade específica, independentemente da malha. Os maiores valores de atividade específica encontrados nas plantas com acesso livre ao solo (malha 1 mm) podem se dever à exploração mais imediata do solo que as plantas com acesso restrito (40 μm).

ABSTRACT

Arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) are important components of ecosystems, because they are associate to plants and they increase phosphorus absorption, being important for studding the effects of converting native areas in to pasture or cultivation of the AMF in areas of “Caatinga” and of Atlantic forest, and to evaluate the capacity of mycorrhizal plants in absorbing P in soils with increasing capacity of P fixation in competitive situation with heterotrophic biota for P of the soil. This study examined the conversion effect in use from areas on the quality and quantity of arbuscular mycorrhizal fungi propagules (AMF). Soil samples were collected from ten sites having cultivated areas adjacent under native vegetation at the same slope position at two depths 0-7.5 and 7.5-15 cm, on transects at four sampling points 20-30 m between each one, totalizing 160 samples (10 sites x 2 soil uses x 2 depths x 4 sampling points). Areas were separated in to four groups based on management history and soil erosion: Undisturbed Dry Forest (UDF), Disturbed Dry Forest (DDF), Preserved-Cultivated (PC) and Degraded-Cultivated (DC). The roots (<2 mm) were stained with trypan blue and percentage of AMF colonization was assessed. The AMF spores were separated from soil by wet sieving, incubated on solution tetrazolium chloride (INT) (2,3,5-thiphenyltetrazolium) and were counted the viable (reddish stained spores in INT) and unviable spores (remained unstained in INT). The soil was analyzed with relationship to the availability of P and the amount of spores of AMF viable, using iodonitrotetrazólio chloride (INT), and of the unviable. The viable and unviable spores quantity under areas was greater at depth 0-7.5 cm. The viable spores density varied from 1.4 to 6.8 spores/50 g of soil and unviable spores from 91.4 to 226 spores/50 g of soil. At the depth of 0-7.5 cm, the DDF area had greater density of viable spores than in the PC area, and not differ in the UDF and DC areas, while at a depth of 7.5-15 cm the spore density not differ among the soil uses. The unviable spores density was greater on PC, independently from depth. The P resin seems to have influence on root colonization in cultivated areas in 0-7.5 cm layer. The fine roots were collected, colored with trypan blue and analyzed the colonization for the AMF. The viable and unviable spores number in the areas was greater at the depth of 0-7.5 cm than at 7.5-15 cm. The viable spores density in the samples varied from 1.4 to 6.8 spores/50 soil g and unviable spores from 91 to 226 spores/50 soil g. The change intensity of the use of the soil had little effect on the viable spores number, while the increase in depth promoted decrease in the number of spores. The colonization to give roots for AMF in the areas cultivated with concentrations of P-resin < 1 mg kg⁻¹ at soil were smaller than in areas with P-resin > 1 mg kg⁻¹, at the depth 0-7.5 cm, what perhaps indicates a critical concentration of P in the soil for making the symbiosis possible.

To study the effect of the conversion of an area of Atlantic forest in to pasture (*Brachiaria decumbens* Stapf) and in reforestation with *Mimosa caesalpinifolia* Benth on the diversity of species and the propagules AMF, seven soil samples were removed (pseudorepetitions), from a layer of 0-15 cm in depth, totaling 21 samples (3 places with different uses x 7 sampling points). The leaf litter, that was on the area, was collected could be

taked the soil samples. The roots in the soil and leaf litter were prepared for colonization verification of AMF. AMF spores were extracted from the soil and counted, the viable (colored for INT), unviable and mummified. In the three areas 28 AMF species were found, distributed in the genera *Archaeospora* (1), *Acaulospora* (8), *Entrophospora* (1), *Glomus* (14), *Gigaspora* (1) and *Scutellospora* (3). The pasture area had larger species richness (22 species), followed by the *M. caesalpinifolia* area (14) and for the forest area (11). *Archaeospora leptoticha*, *Glomus* sp1, *G. etunicatum*, *G. macrocarpum* and *G. microaggregatum* occurred in all the areas. In the with forest and with *M. caesalpinifolia* areas the species *Glomus invermaium* and *G. macrocarpum* were more frequent, while in the pasture the most frequent species were *Entrophospora colombiana*, *Glomus diaphanum* and *G. macrocarpum*. In the forest area there was one AMF species with exclusive occurrence, in the *M. caesalpinifolia* there were two species and in the pasture there were 11 species. The areas of native forest and *M. caesalpinifolia* presented similar mycorrhizal infectivity, and the large proportion of colonized roots looked to be the main source of propagules in these places. In the area with pasture the great amount of viable spores can be the most important factor for the maintenance of the mycorrhizal infectivity.

The effect of the AMF was studied for increase the phosphorus (P) absorption for plants in soils with increasing capacity of fixation of P, and also in the competition for soil P between plants and the heterotrophic biota, activated by the addition of sources of carbon. Two experiments were mounted, with in random design, in vases with two concentric compartments, the internal compartment containing washed sand and the external soil marked with the isotope radioactive ^{32}P . The internal compartment of the vases contained lateral openings, in which nylon screens were glued: or with mesh 40 μm , that allows the hyphae passage and not the roots, or mesh with 1 mm, for the which the hyphae and roots pass. The factorial arrangement of the first experiment was of 3 soils (high, medium and low P fixation) \times 2 mesh (40 μm and 1 mm) \times 4 repetitions. In the second experiment the arrangement was of 2 soils (high and low P fixation) \times 2 sources of C (cellulose and straw) \times 2 mesh (40 μm and 1 mm) \times 3 repetitions. In the internal compartment AMF spores and *Brachiaria decumbens* seedlings were placed. The experiments had duration of five weeks. The dry mass was evaluated, the content of P and the specific activity of P in the plants. The dry mass, the P content and the specific activity decreased with the increase of the capacity of P fixation for the soil. The variation in the specific activity suggests different levels of isotopic dilution in each soil. The AMF contribution for dry mass and P content was greater with the increase of the P fixation for the soil. The carbon sources addition to the soil with low P fixation produced decrease in the dry mass and in the P content in the plants. The cellulose had a more depressive effect than straw. The variation in the specific activity indicated that P available for the plants was from different origins in the treatment with straw and cellulose. In the high fixation soil the cellulose addition produced decrease of dry mass, P content and specific activity, independently of the mesh. The largest values of specific activity found in the plants with free access to the soil (mesh 1 mm) can be due to the most immediate exploration of the soil for the plants with restricted access (40 μm).

INTRODUÇÃO

No processo de ocupação antrópica de uma região, a vegetação de áreas nativas é retirada e estas áreas são convertidas em pastagem, cultivo de plantas anuais ou perenes, ou ainda reflorestamento com espécies arbóreas de importância econômica. A mudança no uso do solo altera a situação de equilíbrio estabelecida entre os seres vivos e o ambiente onde vivem. As principais consequências deste processo são perdas em biodiversidade e declínio da fertilidade do solo, pela diminuição de nutrientes e modificações nos atributos físicos do solo (Maass, 1995). O tipo de uso do solo após o desflorestamento irá influenciar a capacidade de recuperação da área que foi perturbada (Brundrett, 1991). Pouco se conhece sobre a diversidade e a importância dos fungos micorrízicos arbusculares (FMA) nos solos do nordeste brasileiro e menos ainda as consequências das mudanças no uso do solo sobre as micorrizas arbusculares.

Os FMA são componentes importantes da comunidade microbiana do solo, pois se associam ao sistema radicular das plantas da maioria dos grupos vegetais numa simbiose denominada micorriza arbuscular (Smith & Read, 1997). Este tipo de associação é predominante em ecossistemas tropicais, onde os solos são, em geral, ácidos e pobres em nutrientes (Cuevas, 1995). Os FMA aumentam a capacidade de estabelecimento, desenvolvimento e reprodução das plantas participantes da simbiose e contribuem para a estruturação e conservação do solo.

Os benefícios recebidos pelas plantas associadas a FMA são decorrentes da melhoria no seu estado nutricional, principalmente pelo aumento da absorção de fósforo (Smith & Read, 1997). O fósforo é obtido pela planta principalmente por difusão, que geralmente é muito lenta e decrescida pela possibilidade do P ser adsorvido por argilas minerais e óxidos no solo (Bolan & Barrow, 1984). Além do processo de difusão, as plantas podem retirar fósforo do solo diretamente por interceptação radicular, ou indiretamente pelos FMA, que o absorvem do solo e o transferem para as plantas com as quais se associam, em troca de fotossintatos (Sanders & Tinker, 1973; Malavolta et al., 1997). As hifas dos FMA aumentam o volume de solo explorado e por terem menor diâmetro que as raízes, podem chegar a locais do solo inacessíveis às raízes (Tinker, 1978).

Por esses motivos, considerou-se relevante realizar um trabalho que contemplasse tanto aspectos dos efeitos da cobertura vegetal quanto da afinidade do solo por P, na relação planta-FMA. Inicialmente, há uma breve revisão sobre os temas abordados nos três capítulos seguintes, relacionados ao efeito da conversão de áreas nativas em outros usos da terra e o efeito de diferentes capacidades de fixação de fósforo pelo solo sobre as micorrizas arbusculares. No primeiro capítulo, apresenta-se estudo feito em áreas de caatinga contíguas a áreas cultivadas ou com pastagem, para avaliar o efeito da conversão de áreas de caatinga em pastagem ou cultivo, sobre a natureza e a abundância de propágulos de FMA. No segundo capítulo, o trabalho foi feito

numa região de Mata Atlântica de Altitude, sendo avaliada a influência de diferentes coberturas vegetais (mata nativa, pastagem e reflorestamento) sobre a diversidade de FMA e sobre a quantidade e viabilidade dos propágulos micorrízicos. Finalmente, no terceiro capítulo são apresentados dados sobre a capacidade de plantas micorrizadas para absorver P de solos com capacidade crescente de adsorção de P, e submetidas à competição com a microbiota heterotrófica, ativada pela adição de duas fontes de carbono, utilizando ^{32}P .

REVISÃO DE LITERATURA

Importância ecológica dos Fungos Micorrízicos Arbusculares

Comunidades funcionais de microorganismos do solo são compostas por um complexo de espécies que diferem na tolerância ambiental, requerimentos físicos e adaptações ao habitat (Perry et al., 1987). A comunidade microbiana do solo atua nos processos biogeoquímicos, fundamentais para o desenvolvimento do solo e o crescimento das plantas.

Os fungos micorrízicos arbusculares (FMA) são componentes muito importantes da comunidade microbiana do solo, pois formam associação simbiótica com o sistema radicular da maioria das plantas terrestres (Smith & Read, 1997). Participam do processo de sucessão vegetal, contribuindo para a diversificação e a estabilidade de ecossistemas naturais (van der Heidjen et al., 1998) e de áreas perturbadas no decorrer do processo de revegetação (de Souza & Silva, 1996). Nas micorrizas arbusculares, os componentes bióticos (fungo e planta) e abióticos (solo e clima) do ecossistema interagem, estabelecendo um equilíbrio dinâmico que origina e é mantido pela biodiversidade.

A associação micorrízica arbuscular é estabelecida quando os FMA colonizam o sistema radicular da planta, havendo entre os participantes integração fisiológica e ecológica (Harley, 1989), a qual têm como base provisão de carboidratos para o fungo em troca de um sistema mais efetivo na obtenção de água e nutrientes para a planta (Marschner, 1994).

Plantas colonizadas por FMA têm sua zona de depleção de nutrientes ampliada (Owusu-Bennoah & Wild, 1979; Li et al., 1991a) e podem ter aumentos na absorção de nutrientes inorgânicos, como fósforo (Sanders & Tinker, 1973; Rhodes & Gerdemann, 1978), nitrogênio (Ames et al., 1983), ferro (Caris et al., 1998), zinco, cobre, cádmio (Li et al., 1991b; Bürkert & Robson, 1994; Guo et al., 1996), enxofre (Cooper & Tinker, 1978), boro e cloro (Buwalda et al., 1983).

Taxonomia dos FMA

A denominação FMA foi atribuída aos fungos capazes de formar a simbiose Micorrízica Arbuscular (MA). A identificação dos FMA é baseada principalmente em características dos esporos, tais como cor, tamanho, forma, modo de formação e estrutura da parede celular (Morton et al., 1994). As espécies que compõem este grupo são dos gêneros *Archaeospora*, *Acaulospora*, *Entrophospora*, *Gigaspora*, *Glomus*, *Paraglomus* e *Scutellospora*, pertencentes à classe Glomeromycetes da divisão Glomeromycota (Schüßler et al., 2001).

Inicialmente, as espécies formadoras de micorrizas arbusculares estavam incluídas nos gêneros *Endogone* (que continha algumas espécies do gênero *Glomus*) e *Sclerocystis* (atualmente

incluído no gênero *Glomus*), na família Endogonaceae, ordem Mucorales, pertencente à divisão Zygomycetes (Thaxter, 1922).

Após uma revisão, Endogonaceae ficou sendo constituída pelos gêneros *Acaulospora*, *Gigaspora*, *Glomus*, *Sclerocystis*, formadores de MA, e além destes, *Endogone*, *Glaziella* e *Modicella*, todos esses considerados fungos esporocárpicos (Gerdemann & Trappe, 1974). A ordem Mucorales foi redefinida e nela foram mantidos somente fungos com hábito saprotrófico ou parasita, e com isso, a família Endogonaceae foi transferida para a ordem Endogonales (Benjamin, 1979).

Estudos posteriores resultaram na criação da ordem Glomales onde foram incluídas as espécies de fungos formadores de arbúsculos em raízes de plantas, pertencentes aos gêneros *Acaulospora*, *Entrophospora*, *Gigaspora*, *Glomus*, *Sclerocystis* e *Scutellospora* (Morton & Benny, 1990).

Estudos bioquímicos, morfológicos e moleculares sobre o grupo resultaram na criação da divisão Glomeromycota, na qual os FMA estão distribuídos nas ordens Archaeosporales, Diversiporales, Glomerales e Paraglomerales (Schüßler et al., 2001).

Os principais aspectos da morfologia e do desenvolvimento das ordens de Glomeromycota são apresentados a seguir:

Archeosporales tem representantes que formam simbiose com procariontes, *Geosiphon* (Geosiphonaceae), ou que formam micorrizas arbusculares, estes pertencentes ao gênero *Archaeospora* (Archaeosporaceae). Em *Archaeospora* os esporos são incolores, podendo haver produção de esporos glomóides ou acaulosporóides, semelhantes aos produzidos por *Glomus* e *Acaulospora*. Neste gênero pode haver ou não produção de vesículas (Schüßler et al., 2001).

Em Diversiporales há diversos modos de desenvolvimento do esporo. Em Acaulosporaceae há formação de um sáculo esporífero e os esporos são formados dentro da hifa de sustentação deste sáculo (*Entrophospora*) ou ao lado dessa hifa (*Acaulospora*). Em Gigasporaceae os esporos se desenvolvem a partir de uma hifa esporógena bulbosa. Em Diversiporaceae os esporos são formados blasticamente na extremidade de uma hifa esporógena, nela estão espécies antes incluídas em *Glomus* (Schüßler et al., 2001).

Os membros de Glomerales (*Glomus*) produzem esporos blasticamente na extremidade de uma hifa esporógena ou intercaladamente dentro destas hifas. Os esporos podem ser formados isoladamente, agrupados ou em esporocarpos. Há geralmente produção de vesículas (Schüßler et al., 2001).

Em Paraglomerales os esporos têm forma semelhante aos encontrados no gênero *Glomus* e são incolores. As espécies geralmente não formam vesículas. Esta ordem inclui uma família (Paraglomeraceae) com apenas um gênero: *Paraglomus* (Schüßler et al., 2001).

Infectividade do solo

A infectividade micorrízica de um solo é a habilidade do fungo para induzir a colonização micorrízica na planta hospedeira e está relacionada ao número de propágulos de FMA ativos (Plenchette et al., 1989). A colonização de uma planta se dá a partir de propágulos fúngicos infectivos, que são esporos, micélio e pedaços de raízes colonizadas (Morton et al., 1994). Vários métodos podem ser empregados para fazer a estimativa, como extração e contagem de esporos (Gerdemann & Nicolson, 1963; Jenkins, 1964), quantificação do micélio extra-radicular (Sylvia, 1992), uso de corante indicador de viabilidade para esporos e hifas (Walley & Germida, 1995), verificação da colonização de raízes (Koske & Gemma, 1989; Giovannetti & Mosse, 1980), ensaios com diluição do solo (Day et al., 1987) ou com amostras indeformadas (Brundrett & Abbott, 1994).

Os esporos dos FMA são propágulos produzidos pelo micélio e têm alta capacidade de sobrevivência sob condições adversas, podendo manter a viabilidade no solo durante vários anos (Morton et al., 1994).

Pedaços de raízes colonizados por estruturas de FMA são também importantes para a manutenção da infectividade do solo após perturbações (de Souza & Silva, 1996). O micélio intra-radicular se desenvolve entre as células do córtex radicular das plantas e pode produzir arbúsculos, sítio de troca de nutrientes com a planta, vesículas, para reserva de nutrientes, e esporos, a principal estrutura reprodutiva (Morton et al., 1994).

O micélio extra-radicular dos fungos micorrízicos arbusculares (FMA) é constituído por uma rede de hifas que se desenvolve a partir da raiz colonizada e pode crescer indefinidamente pelo solo, podendo se diferenciar em componentes de absorção, de crescimento ou de infecção (Morton et al., 1994). Ele absorve e transporta água e nutrientes do solo para a planta (Rhodes & Gerdemann, 1975), e pode também favorecer o transporte de nutrientes entre plantas interconectadas por hifas (Johansen & Jensen 1996; Martins & Cruz, 1996; 1998; Yao et al., 2003). O micélio extra-radicular apresenta grande capacidade infectiva em áreas preservadas, onde a malha de hifas está bem estabelecida, porém pode ter a infectividade diminuída em consequência de ações que perturbem a estrutura do solo, como revolvimentos intensivos e ciclos de umedecimento e secagem (Jasper et al., 1994).

O grau de colonização radicular é influenciado pela fenologia da planta, espécie de FMA e características do solo, porém não está relacionado à resposta de crescimento promovida pelas micorrizas (Land & Schönbeck 1991; Mohammad et al., 1998).

Efeito das propriedades do solo e de perturbações sobre as micorrizas arbusculares

Condições edáficas, como a disponibilidade de nutrientes, pH, a textura, umidade, temperatura (Sthal & Christensen, 1991), aeração, agregação, o conteúdo de matéria orgânica e a

composição da microbiota (Linderman, 1988) influenciam de forma diversa o crescimento, a distribuição e a sobrevivência dos FMA. Estes fatores podem afetar diretamente os FMA ou indiretamente prejudicar o desenvolvimento das plantas associadas a eles. Em contra partida os FMA podem contribuir para aliviar algumas situações de estresse pelas quais as plantas possam ser submetidas.

A fertilidade do solo pode afetar a densidade de esporos e distribuição dos FMA de forma indireta, influenciando diferentemente o crescimento das plantas (Day et al., 1987).

Altas temperaturas do solo diminuem a colonização micorrízica das raízes e a sobrevivência e infectividade dos propágulos de FMA (Klopatek et al., 1988).

Plantas colonizadas por FMA são mais resistentes a estresse hídrico, entretanto as espécies de FMA apresentam variações na tolerância a esta situação (Simpson & Daft, 1990).

A compactação do solo prejudica a aeração, propriedades hidráulicas e microestrutura do solo (Horn & Lebert, 1994), que são fatores que influenciam o desenvolvimento das plantas e a atividade da comunidade microbiana do solo (Whalley et al., 1995).

A acidez do solo pode reduzir a colonização radicular, e a germinação e produção de esporos das espécies de FMA com baixa tolerância, e assim afetar a absorção de nutrientes e o crescimento das plantas (Bartolome-Esteban & Schenck, 1994). Alguns isolados de FMA são eficientes em distintos solos, porém a maioria deles parece estar adaptada a valores de pH próximos ao do solo de origem (Sylvia & Williams, 1992).

Através do sistema radicular as plantas atuam na manutenção da qualidade do solo, pois parte dos fotossintatos produzidos são incorporados ao solo na forma de raízes e exudatos, servindo de fonte de energia para os seres heterotróficos. Os subprodutos liberados no metabolismo das raízes e seus exudatos associam-se à matéria mineral do solo formando agregados, que constituem a matéria orgânica do solo (Sylvia, 1994). A rede de hifas promove a agregação das partículas do solo tendo assim participação direta na estabilidade do solo (Koske et al., 1975), ou de modo indireto as hifas podem ser usadas como substrato para produção de polissacarídeos por outros microorganismos (Sylvia, 1994).

Perturbações no solo podem alterar as suas propriedades físicas, químicas e biológicas. A fertilidade do solo após o desflorestamento é diminuída pelo aumento do processo de mineralização e perda de nutrientes juntamente com o solo por erosão. Após perturbações a composição e a sobrevivência de espécies de FMA de uma comunidade pode ser alterada com prejuízo para o estabelecimento e o funcionamento da associação micorrízica no ecossistema (Abbott & Gazey, 1994).

Efeito de mudanças no uso do solo sobre as micorrizas arbusculares: conversão de florestas tropicais em áreas de pastagem e agrícolas

As micorrizas arbusculares aumentam a capacidade de estabelecimento, desenvolvimento e reprodução das plantas participantes da simbiose e contribuem para a estruturação e conservação do solo (de Souza e Silva, 1996). Este tipo de associação predomina em ecossistemas tropicais úmidos, onde os solos são, em geral, ácidos e pobres em nutrientes. De modo geral, há pouca informação sobre os FMA em solos de florestas, especialmente em florestas tropicais (Cuevas, 1995), mas sabe-se que as micorrizas são importantes para o crescimento das árvores em regiões tropicais (Janos, 1980).

A conversão de áreas de floresta em pastagem ou cultivo produz modificações no ecossistema, como diminuição da biodiversidade e das taxas de ciclagem de nutrientes, compactação do solo, erosão e acidificação (Skujins & Allen, 1986; Dhillon & Anderson, 1990), como estes são fatores que também afetam os FMA, a mudança no uso do solo terá impacto também sobre a associação micorrízica (Brundrett et al., 1996a), podendo modificar a situação de equilíbrio estabelecida e afetar a persistência e a viabilidade dos propágulos (Mason et al., 1994; Wilson et al., 1994). Alterações na quantidade e viabilidade de propágulos de FMA estão relacionadas à severidade da perturbação sofrida pelo ecossistema e podem ser contornadas ou não, conforme o uso que será feito do solo (Jasper et al., 1994; Picone, 2000). A conversão de ecossistemas preservados em áreas de pastagem ou agrícolas tanto pode aumentar (Fischer et al., 1994; Picone, 2000) como diminuir (Jasper et al., 1994) a quantidade de propágulos infectivos do solo. O tipo e a quantidade de propágulos de FMA remanescentes irá determinar a persistência do simbionte no solo (Brundrett, 1991).

Os estudos em ambientes tropicais feitos até aqui têm mostrado que os FMA são resilientes (tem elasticidade, persistência) a mudanças de longa duração para espécies hospedeiras. Assim, as mudanças nas espécies de plantas hospedeiras e no ambiente do solo que se seguem à conversão podem ou não afetar a população de esporos de FMA. Após a modificação do uso do solo, a composição de espécies pode continuar semelhante, e ocorrer modificação na frequência em que elas ocorrem e na abundância de esporos (Picone, 2000), bem como pode haver maior produção de esporos de alguma das espécies de FMA e ocorrer a substituição da espécie de FMA dominante na área antes da mudança (Mason et al., 1994). O efeito das modificações ambientais se reflete também na colonização micorrízica das plantas. Encontram-se plantas com maior grau de colonização por FMA em áreas preservadas que em áreas menos propícias ao desenvolvimento vegetal, seja devido a condições naturalmente desfavoráveis do ambiente ou resultantes da ação antrópica sobre o meio (Brundrett et al., 1996a; 1996b).

A composição de espécies de FMA dentro de uma comunidade varia em função da cobertura vegetal e das condições edafo-climáticas (Land & Schönbeck, 1991). Após perturbações, a composição e a sobrevivência de espécies de FMA de uma comunidade pode ser alterada podendo haver prejuízo para o estabelecimento e o funcionamento da associação micorrízica no ecossistema (Abbott & Gazey, 1994). O desmatamento produz inicialmente diminuição no número de esporos de FMA e pode haver também diminuição na diversidade de espécies de FMA (Moorman & Reeves, 1979; Wilson et al., 1994). Após o desmatamento, tem início um processo de sucessão vegetal e as plantas que iniciam este processo propiciam a proliferação de espécies de FMA com as quais tenham afinidades, podendo substituir as espécies de FMA inicialmente dominantes na área (Mason et al., 1994).

Efeito das micorrizas arbusculares na absorção de fósforo do solo

A importância da associação micorrízica para as plantas em solos tropicais é principalmente pela melhora na capacidade de absorção de fósforo (Abbott & Robson, 1982; & Smith & Read, 1997). O fósforo é um nutriente com baixa mobilidade no solo, por ser um íon grande e eletronegativo que pode ser fixado firmemente à superfície de argilas minerais e óxidos de ferro e de alumínio por ligações químicas específicas (Bolan & Barrow, 1984). As micorrizas arbusculares podem aumentar a absorção de P pelas plantas em solos com baixa ou alta fixação de P (Bolan et al., 1984; Sainz & Arines, 1988) tendo grande importância para o crescimento e desenvolvimento das plantas. Nas plantas micorrizadas, a taxa de influxo de fósforo para as raízes é maior do que nas plantas não micorrizadas (Sanders & Tinker, 1973). O incremento na absorção de P por plantas micorrizadas pode ser produzido pelo aumento da exploração física do solo pelo micélio extra-radicular, modificações do ambiente da raiz, aumento do armazenamento do P absorvido, transferência eficiente do P das hifas para as raízes das plantas e utilização eficiente do P dentro da planta.

O aumento na absorção de P pelas hifas dos FMA se deve possivelmente pela mais completa exploração do volume de solo, tornando disponíveis nutrientes em locais inacessíveis às raízes, diminuindo a distância de difusão de íons de fosfato. Elas conseguem explorar melhor o solo porque têm diâmetro menor que o dos pêlos radiculares e podem entrar em poros do solo inacessíveis às raízes, aumentando a superfície de absorção (Tinker, 1978). O crescimento extensivo das hifas diminui a distância para difusão e a zona de depleção para P em torno das raízes micorrizadas é aumentada (Owusu-Bennoah & Wild, 1979; Li et al., 1991a).

As plantas micorrizadas parecem ter menor concentração limiar para absorção de P que as plantas não micorrizadas (Mosse et al., 1973; Howeler et al., 1982; Bolan et al., 1983). Isto pode ser consequência da exploração de maior volume do solo pelas hifas de FMA ou de sua maior afinidade por íons fosfato (Cress et al., 1979).

As raízes micorrizadas podem exercer influência sinérgica ou antagônica sobre as diferentes populações de microorganismos da rizosfera (Ames et al., 1984; 1987; Meyer & Lindermann, 1986), que por sua vez afetam indiretamente a disponibilidade de fontes orgânicas e inorgânicas para plantas (Hetrick et al., 1988). O aumento da disponibilidade de P na solução do solo pelos FMA pode ser devido à produção de sideróforos que modificam a rizosfera diretamente ou pelo aumento na absorção de P (Marschner, 1994) afetando o equilíbrio do P no solo (Nye, 1977) ou ainda pela utilização mais eficiente do NH_4^+ pelas plantas micorrizadas (Smith et al., 1985), que é assimilado na forma de NH_3 , havendo liberação do íon H^+ para o solo, com conseqüente diminuição do pH rizosférico, o que pode disponibilizar P de fontes pouco solúveis (Hedley et al., 1982).

As hifas de FMA podem absorver maior quantidade de P que as raízes das plantas, armazenar o P na forma de ortofosfatos e polifosfatos (Loughman & Ratcliff, 1984) e transferi-lo continuamente para as plantas. A concentração de P nas hifas pode ser 1000 vezes maior que na solução do solo, e esta alta concentração é mantida pela hidrólise de polifosfatos (Cappacio e Callow, 1982). A diferença na concentração de P entre as hifas de FMA e a planta hospedeira determina a direção e grau de velocidade do transporte deste nutriente. O fósforo do solo é transportado ativamente do solo para o interior das hifas do micélio extra-radicular, translocado passivamente dentro das hifas até a interface fungo-raiz e transportado ativamente para dentro das raízes (Woolhouse, 1975).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABBOTT, L.K. & GAZEY C. 1994. An ecological view of the formation of VA mycorrhizas. **Plant and Soil** **159** (1): 69-78.
- ABBOTT, L.K. & ROBSON, A.D. 1982. The role of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi in agriculture and the selection of fungi for inoculation. **Australian Journal of Agricultural Research** **33**: 389-408.
- AMES, R.N., MIHARA, K.L. & BETHLENFALVAY G.J. 1987. The establishment of microorganisms in vesicular-arbuscular mycorrhizal and control treatments. **Biology and Fertility of Soils** **3** (4): 217-223.
- AMES, R.N., REID, C.P.P., PORTER L.K. & CAMBARDELLA, C. 1983. Hyphal uptake and transport of nitrogen from two ^{15}N labeled sources by *Glomus mosseae*, a vesicular arbuscular mycorrhizal fungus. **New Phytologist** **95** (3): 381-396.
- AMES, R.N., REID, C.P.P. & INGHAM, E.R. 1984. Rhizosphere bacterial population responses to root colonization by a vesicular arbuscular mycorrhizal fungus. **New Phytologist** **96** (4): 555-563.

- BARTOLOME-ESTEBAN, H., & SCHENCK, N.C. 1994. Spore germination and hyphal growth of arbuscular mycorrhizal fungi in relation to soil aluminum saturation. **Mycologia** **86** (2): 217-226.
- BENJAMIN, R. K. 1979. Zygomycete and their spores. In: KENDRICK B. (Ed.). **The whole fungus**. Vol. II. Ottawa: National Museums of Canada, p. 573-622.
- BOLAN, N.S. & BARROW, N.J. 1984. Modeling the effect of adsorption of phosphate and other anions on the surface-charge of variable charge oxides. **Journal of Soil Science** **35** (2): 273-281.
- BOLAN, N.S., ROBSON, A.D. & BARROW, N.J. 1983. Factors including mycorrhizal infection causing sigmoidal response of plants to applied phosphorus. **Plant and Soil** **73** (2): 187-201.
- BOLAN, N.S., ROBSON, A.D., BARROW, N.J., & AYLMOORE, L.A.G. 1984. Specific activity of phosphorus in mycorrhizal and non-mycorrhizal plants in relation to the availability of phosphorus to plants. **Soil Biology and Biochemistry** **16** (4): 299-304.
- BRUNDRETT, M.C. 1991. Mycorrhizas in natural ecosystems. **Advances in Ecological Research** **21**: 171-213.
- BRUNDRETT, M.C. & ABBOTT, L.K. 1994. Mycorrhizal fungus propagules in the jarrah forest. I. Seasonal study of inoculum levels. **New Phytologist** **127**: 539-546.
- BRUNDRETT, M.C., ASHWATH, N. & JASPER, D.A. 1996a. Mycorrhizas in the Kakadu region of tropical Australia. I. Propagules of mycorrhizal fungi and soil properties in natural habitats. **Plant and Soil** **184**: 159-171.
- BRUNDRETT, M.C., ASHWATH, N. & JASPER, D.A. 1996b. Mycorrhizas in the Kakadu region of tropical Australia. II. Propagules of mycorrhizal fungi in disturbed habitats. **Plant and Soil** **184**: 173-184.
- BÜRKERT, B. & ROBSON, A. 1994. ⁶⁵Zn Uptake in subterranean clover (*Trifolium subterraneum* L.) by three vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi in a root-free sandy soil. **Soil Biology and Biochemistry** **26** (9): 1117-1124.
- BUWALDA, J.G., STRIBLEY, D.P. & TINKER, P.B. 1983. Increased uptake of bromide and chloride by plants infected with vesicular-arbuscular mycorrhizas. **New Phytologist** **93**: 217-225.
- CAPPACIO, L.C.M. & CALLOW, J.A. 1982. The enzymes of polyphosphate metabolism in vesicular-arbuscular mycorrhizas. **New Phytologist** **91**: 81-91.
- CARIS, C., HÖRDT, W., HAWKINS, H.-J., RÖMHELD, V. & GEORGE, E. 1998. Studies of iron transport by arbuscular mycorrhizal hyphae from soil to peanut and sorghum plants. **Mycorrhiza** **8**: 35-39.

- COOPER, K.M. & TINKER, T.B. 1978. Translocation and transfer of nutrients in vesicular-arbuscular mycorrhizas. II. Uptake and translocation of phosphorus, zinc and sulphur. **New Phytologist** **81**: 43-52.
- CRESS, W.A., THRONEBERRY, G.O. & LINDSEY D.L. 1979. Kinetics of phosphorus absorption by mycorrhizal and non-mycorrhizal tomato roots. **Plant Physiology** **64** (3): 484-487.
- CUEVAS, E. 1995. Biology of the belowground system of tropical dry forests. In: BULLOCK, S.H., MOONEY, H.A. & MEDINA, E. (Eds). **Seasonally Dry Tropical Forests**. Cambridge: Cambridge University Press, p. 365-383.
- DAY, L.D., SYLVIA, D.M. & COLLINS, M.E. 1987. Interactions among vesicular-arbuscular mycorrhizae, soil, and landscape positions. **Soil Science Society of American Journal** **51**: 635-639.
- DE SOUZA, F.A. & SILVA, E.M.P. 1996. Micorrizas arbusculares na revegetação de áreas degradadas. In: SIQUEIRA, J.O. (Ed.). **Avanços em fundamentos e aplicação de micorrizas**, Lavras: UFLA/DCS/DCF, p. 255-290.
- DHILLION, S.S. & ANDERSON, R.C. 1990. Vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi association of little bluestem grass on burned and unburned sand prairies in central Illinois. In: North American Conference on Mycorrhizae 8. **Proceedings of the 8th North American Conference on Mycorrhizae**. Wyoming: San Diego State University, p 77.
- FISHER, C.R., JANOS, D.P., PERRY, D.A., LINDERMAN, R.G. & SOLLINS, P. 1994. Mycorrhiza inoculum potentials in tropical secondary succession. **Biotropica** **26** (4): 369-377.
- GERDEMANN, J.W. & NICOLSON, T.H. 1963. Spores of mycorrhizal *Endogone* extracted from soil by wet-sieving and decanting. 1963. **Transactions of the British Mycological Society** **46**: 235-244.
- GERDEMANN J.W., TRAPPE J.M. 1974. The Endogonaceae in the Pacific Northwest. **Mycologia Memoirs** **5**: 1-76.
- GIOVANNETTI, M. & MOSSE, B. 1980. An evaluation of techniques for measuring vesicular arbuscular mycorrhizal infection in roots. **New Phytologist** **84**: 489-490.
- GUO, Y., GEORGE, E. & MARSCHENER, H. 1996. Contribution of an arbuscular mycorrhizal fungus to the uptake of cadmium and nickel in bean and maize plants. **Plant and Soil** **184**: 195-205.
- HARLEY, J.L. 1989. The significance of mycorrhiza. **Mycological Research** **92** (2): 129-139.
- HEDLEY, M.J., WHITE, R.E. & NYE, P.H. 1982. Plant induced changes in the rhizosphere of rape (*Brassica napus* var Emerald) seedlings. II. Origin of the pH changes. **New Phytologist** **91**: 31-44.

- HETRICK, B.A.D., WILSON, G.T., KITT, D.G. & SCHWAB, A.P. 1988. Effects of soil microorganisms on mycorrhizal contribution to growth of big bluestem grass in non-sterile soil. **Soil Biology & Biochemistry** **20** (4): 501-507.
- HORN, R. & LEBERT, M. 1994. Soil compactibility and compressibility. In: SOANE, S.D. & VAN OUWERKERK, C. (Eds.). **Soil compaction in crop production**. Amsterdam: Elsevier, p. 45-69.
- HOWELER, R.H., ASHER, C.J. & EDWARDS, D.G. 1982. Establishment of an effective endomycorrhizal association on cassava in flowing solution culture and its effects on phosphorus-nutrition. **New Phytologist** **90** (2): 229-238.
- JANOS, D.P. 1980. Vesicular-arbuscular mycorrhizae affect lowland rainforest plant growth. **Ecology** **61**: 151-162.
- JASPER, D.A., ABBOTT, L.K. & ROBSON, A.D. 1994. Soil disturbance in native ecosystems – the decline and recovery of infectivity of VA mycorrhizal fungi. In: READ, D.J., LEWIS, D.H., FITTER, A.H. & ALEXANDER, I.J., (Eds.). **Mycorrhizas in Ecosystems**. Cambridge: University Press, p. 151-163.
- JENKINS, W. 1964. A rapid centrifugal-flotation technique for separating nematodes from soil. **Plant Disease Report** **48**: 692.
- JOHANSEN, A. & JENSEN, E.S. 1996. Transfer of N and P from intact or decomposing roots of pea to barley interconnected by an arbuscular mycorrhizal fungus. **Soil Biology and Biochemistry** **28** (1): 73-81.
- KLOPATEK, C.C., DEBANO, L. F. & KLOPATEK, J.M. 1988. Effects of simulated fire on vesicular-arbuscular mycorrhizae in pinyon-juniper woodland soil. **Plant and Soil** **109**: 245-249.
- KOSKE, R.E. & GEMMA, J.N. 1989. A modified procedure for staining roots to detect mycorrhizas. **Mycological Research** **92**: 486-488.
- KOSKE, R.E., SUTTON, J.C. & SHEPPARD, B.R. 1975. Ecology of Endogone in Lake Uron sand dunes. **Canadian Journal of Botany** **53**: 87-93.
- LAND, S. & SCHÖNBECK, F. 1991. Influence of different soil types on abundance and seasonal dynamics of vesicular arbuscular mycorrhizal fungi in arable soils of North Germany. **Mycorrhiza** **9**: 39-44.
- LI, X.L., MARSCHNER, H. & GEORGE, E. 1991a. Extension of the phosphorus depletion zone in VA-mycorrhizal white clover in a calcareous soil. **Plant and Soil** **136**: 41-48.
- LI, X.L., MARSCHNER, H. & GEORGE, E. 1991b. Acquisition of phosphorus and copper by VA-mycorrhizal hyphae and root-to-shoot transport in white clover. **Plant and Soil** **136**: 49-57.

- LINDERMAN, R.G. 1988. Mycorrhizal interactions with the rhizosphere microflora: the mycorrhizosphere effect. **Phytopathology** 73: 366-371.
- LOUGHMAN, B.C. & RATCLIFF, R.G. 1984. Nuclear magnetic resonance and the study of plants. **Advances in Plant Nutrition** 1: 241-283.
- MAASS, J.M. Seasonally dry tropical forests. In: BULLOCK, S.H., MOONEY, H.A. & MEDINA, E., eds. **Conversion of tropical dry forest to pasture and agriculture**. Cambridge, Cambridge University Press, 1995. p. 399-422.
- MALAVOLTA, E., VITTI, G.C., & OLIVEIRA, S.A. **Avaliação do estado nutricional das plantas: Princípios e aplicações**. 2.ed. Piracicaba: POTAFOS, 1997. 319 p.
- MARSCHNER, H. 1994. Nutrient dynamics at the soil-root interface (Rhizosphere). In: READ, D.J., LEWIS, D.H., FITTER, A.H. & ALEXANDER, I.J. (Eds.). **Mycorrhizas in Ecosystems**. Cambridge: University Press, p. 3-12.
- MARTINS, M.A. & CRUZ, D.J. 1996. The role of the external micelial network of arbuscular mycorrhizal fungi. II. A study of phosphorus transfer between plants interconnected by a common mycelium. **Revista de Microbiologia** 27: 30-35.
- MARTINS, M.A. & CRUZ, D.J. 1998. The role of the external micelial network of arbuscular mycorrhizal fungi. III. A study of nitrogen transfer between plants interconnected by a common mycelium. **Revista de Microbiologia** 29: 289-294.
- MASON, P.A., MUSOKO, M.O. & LAST, F.T. 1994. Short-term changes in vesicular-arbuscular mycorrhizal spore populations in *Terminalia* plantations in Cameroon. In: READ, D.J., LEWIS, D.H., FITTER, A. & ALEXANDER, I.J. (Eds.). **Mycorrhizas in Ecosystems**. Cambridge: University Press, p. 261-267.
- MEYER, J.R. & LINDERMAN, R.G. 1986. Selective influence on populations of rhizosphere or rhizoplane bacteria and actinomycetes by mycorrhizas formed by *Glomus fasciculatum*. **Soil Biology & Biochemistry** 18 (2): 191-196.
- MOHAMMAD, M. J., PAN, W.L. & KENNEDY, A.C. 1998. Seasonal mycorrhizal colonization of winter wheat growth under dryland field conditions. **Mycorrhiza** 8: 139-144.
- MOORMAN, T. & REEVES, F.B. 1979. The role of endomycorrhizae in revegetation practices in the semi-arid West. II. A bioassay to determine the effect of land disturbance on endomycorrhizal populations. **American Journal of Botany** 66: 14-18.
- MORTON, J., FRANKE, M. & CLOUD, G. 1994. The nature of fungal species in Glomales. In: READ, D.J., LEWIS, D.H., FITTER, A.H. & ALEXANDER, I.J., (Eds.). **Mycorrhizas in Ecosystems**. Cambridge: University Press, p. 65-73.
- MORTON, J.B. & BENNY, G.L. 1990. Revised classification of arbuscular mycorrhizal fungi (Zygomycetes): a new order, Glomales, two new suborders, Glomineae and Gigasporineae,

- and two new families, Acaulosporaceae and Gigasporaceae, with an emendation of Glomaceae. **Mycotaxon** **37**: 471-491.
- MOSSE, B., HAYMAN, D.S., & ARNOLD, D.J. 1973. Plant-growth responses to vesicular-arbuscular mycorrhiza. 5. Phosphate uptake by 3 plant species from P-deficient soils labeled with P-32. **New Phytologist** **72** (4): 809-819.
- NYE, P.H. 1977. The rate-limiting step in plant nutrient absorption from soil. **Soil Science** **123** (5): 292-297.
- OWUSU-BENNOAH, E. & WILD, A. 1979. Auto radiography of the depletion zone of phosphate around onion roots in the presence of vesicular arbuscular mycorrhiza. **New Phytologist** **82**: 133-140.
- PERRY, D.A., MOLINA, R. & AMARANTHUS, M. P. 1987. Mycorrhizae, mycorrhizosphere and reforestation: Current knowledge and research needs. **Canadian Journal of Forest Research** **17**: 929-940.
- PICONE, C. 2000. Diversity and abundance of arbuscular-mycorrhizal fungus spores in tropical forest and pasture. **Biotropica** **32** (4a): 734-750.
- PLENCHETTE, C., PERRIN, R. & DUVERT, P. 1989. The concept of soil infectivity and a method for its determination as applied to endomycorrhizas. **Canadian Journal of Botany** **67**: 112-115.
- RHODES, L.H & GERDEMANN, J.W. 1975. Phosphate uptake zones of mycorrhizal and non-mycorrhizal onions. **New Phytologist** **75**: 555-561.
- RHODES, L.H & GERDEMANN, J.W. 1978. Translocation of calcium and phosphate by external hyphae of vesicular-arbuscular mycorrhizae. **Soil Science** **126**: 125-126.
- SAINZ, M.J. & ARINES, J. 1988. P absorbed from soil by mycorrhizal red clover plants as affected by soluble P fertilization. **Soil Biology and Biochemistry** **20** (1): 61-67.
- SANDERS, F.E. & TINKER, B.P. 1973. Phosphate flow into mycorrhizal roots. **Pesticide Science** **4**: 385-395.
- SCHÜBLER, A., SCHWARZOTT, D., & WALKER, C. 2001. A new fungal phylum, the Glomeromycota: phylogeny and evolution. **Mycological Research** **105**: 1413-1421.
- SKUJINS, J. & ALLEN, M.F. 1986. Use of mycorrhiza for land rehabilitation. **Mircen Journal** **2**: 161-176.
- SIMPSON, D. & DAFT, M.J. 1990. Interactions between water-stress and different mycorrhizal inocula on plant growth and mycorrhizal development in maize and sorghum. **Plant and Soil** **121**: 179-186.
- SYLVIA, D.M. & WILLIAMS, S.E. 1992. Vesicular-arbuscular mycorrhizae and environmental stress. In: BETHLENFALVAY, G.J. & LINDERMAN, R.G. (Eds.). **Mycorrhizae and sustainable agriculture**. New York: ASA special publication 54, p. 101-124.

- SYLVIA, D.M. 1994. Quantification of external hyphae of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. In: NORRIS, J.R., READ, D. & VARMA, A.K. (Eds.). **Techniques for mycorrhizal research: Methods in microbiology**. San Diego: Academic Press, p. 513-525.
- SMITH, S.E. & READ, D.J. **Mycorrhizal Symbiosis**. 1997. 2 ed. London: Academic Press, 605p.
- SMITH, S.E., St JOHN, B.J., SMITH F.A., & NICHOLAS, D.J.D. 1985. Activity of glutamine-synthetase and glutamate-dehydrogenase in *Trifolium subterraneum* L. and *Allium cepa* L.: Effects of mycorrhizal infection and phosphate nutrition. **New Phytologist** **99** (2): 211-227.
- STHAL, P.D. & CHRISTENSEN, M. 1991. Population variation in the mycorrhizal fungus *Glomus mosseae*: breadth of environmental tolerance. **Mycological Research** **95**: 300-307.
- SYLVIA, D.M. 1992. Quantification of external hyphae of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. **Methods in Microbiology** **24**: 53-65.
- THAXTER R. 1922. A revision of the Endogonaceae. **Proceedings of the American Academy of Arts and Science** **57**: 291-351.
- TINKER P.B. 1978. Effects of vesicular-arbuscular mycorrhizas on plant nutrition and plant growth. **Physiologie Vegetale** **16** (4): 743-751.
- VAN DER HEIDJEN, M.G.A., BOLLER, T., WIENKEN, A. & SANDERS, I.R. 1998. Different arbuscular mycorrhizal fungal species are potential determinants of plant community structure. **Ecology** **79** (6): 2082-2091.
- WALLEY, F.L. & GERMIDA, J.J. 1995. Estimating the viability of vesicular-arbuscular mycorrhizae fungal spores using tetrazolium salts as vital stains. **Mycologia** **87** (2): 273-279.
- WHALLEY, W.R., DUMITRU, E., & DEXTER, A.R. 1995. Biological effects of soil compaction. **Soil & Tillage Research** **35** (1-2): 53-68.
- WILSON, J., INGLEBY, K., MASON, P., IBRAHIM, K. & LAWSON, G.J. 1994. Long-term changes in vesicular-arbuscular mycorrhizal spore populations in *Terminalia* plantations in Côte d'Ivoire. In: READ, D.J., LEWIS, D.H., FITTER, A.H. & ALEXANDER, I.J. (Eds.). **Mycorrhizas in Ecosystems**. Cambridge: University Press, p. 268-275.
- WOOLHOUSE, H.W. 1975. Membrane structure and transport problems considered in relation to phosphorus and carbohydrate and the regulation of endophyte mycorrhizal association. In: SANDERS, F.E., MOSSE, B. & TINKER, P.B (Eds.). **Endomycorrhizas**. London: Academic Press, p. 209-240.
- YAO, Q., LI, X.L., AI, W. & CHRISTIE, P. 2003. Bi-directional transfer of phosphorus between red clover and perennial ryegrass via arbuscular mycorrhizal hyphal links. **European Journal of Soil Biology** **39**: 47-54.

CAPÍTULO 1**DENSIDADE E VIABILIDADE DE ESPOROS DE FMA
E COLONIZAÇÃO DE RAÍZES EM SOLOS DO SEMI-ÁRIDO
COM DIFERENTES COBERTURAS VEGETAIS**

1.1. INTRODUÇÃO

Os fungos micorrízicos arbusculares (FMA) (Glomeromycota) são componentes importantes da comunidade microbiana do solo, pois formam associação simbiótica com o sistema radicular da maioria das plantas terrestres. As plantas fornecem fotossintatos para os FMA, que em troca incrementam a absorção de nutrientes, principalmente do fósforo (Smith & Read, 1997). O micélio extra-radicular é constituído por uma rede de hifas filamentosas que pode crescer indefinidamente pelo solo, sendo capaz de produzir esporos ou de se diferenciar em componentes absorptivos, de crescimento ou de infecção radicular (Morton et al., 1994).

Esporos, micélio extra-radicular e pedaços colonizados de raiz são os principais tipos de propágulos de FMA e sua abundância e viabilidade determinam a persistência dos FMA no solo em situações adversas, como modificações físicas e químicas do solo. A conversão de áreas nativas em áreas agrícolas ou de pastagem tem como conseqüências para o solo a diminuição da fertilidade e às vezes a erosão (Maass, 1995), o que também afeta a composição de espécies e a viabilidade de propágulos de FMA (Brundrett et al., 1996; Picone, 2000).

A erosão pode influenciar a quantidade e viabilidade de esporos e sua distribuição em profundidade. Os efeitos da erosão sobre a densidade de esporos de FMA podem ser verificados mesmo em áreas com cobertura vegetal (Day et al., 1987). A camada superior do solo é o principal reservatório de esporos, e estes podem ser perdidos por erosão juntamente com o solo. A distribuição vertical dos esporos de FMA no perfil do solo é determinada, em parte, pelo grau em que os FMA são afetados por perturbações (Bellgard, 1993).

Em estudo sobre o efeito da conversão de áreas nativas de caatinga em área de pastagem ou cultivo e da erosão provocada por este manejo foi verificada diminuição de até 50% da matéria orgânica do solo e perdas de camadas de solo com 1 a 4 cm de espessura por erosão (Fraga, 2002; Fraga & Salcedo, 2004). Essas áreas apresentaram baixos teores de P e se localizam em região de baixa pluviosidade, situações nas quais a atuação das micorrizas pode ser especialmente importante. Por esses motivos, surgiu o interesse de analisar o efeito da intensidade de uso do solo sobre um fator biológico, os FMA, considerando a hipótese de que haveria declínio na quantidade e viabilidade de seus propágulos. Objetivou-se pesquisar a ocorrência e abrangência de colonização das raízes por FMA e o efeito da conversão de áreas de caatinga em pastagem ou cultivo sobre a natureza e a abundância de seus propágulos.

1.2. MATERIAL E MÉTODOS

Amostras de solo foram coletadas em 10 locais nos estados da Paraíba e de Pernambuco. Foram selecionadas áreas de vegetação nativa contíguas a áreas sob agricultura de subsistência

ou pastagem, e retiradas amostras de solo das duas situações de ocupação do solo. As amostras foram retiradas de duas profundidades (0-7,5 e 7,5-15 cm), ao longo de transectos dentro de cada área, com quatro pontos de amostragem, distantes 20-30 m entre si (dependendo da área disponível), medidos a partir da divisa das áreas vizinhas, totalizando 160 amostras (10 locais × 2 situações × 2 profundidades × 4 pontos amostrais).

O histórico de uso das áreas, observações “in situ” e a determinação da atividade do ¹³⁷Césio foram usados como indicativos do grau de erosão em estudo anterior sobre mudanças na matéria orgânica (C, N e P) (Fraga, 2002; Fraga & Salcedo, 2004) e, com isto, as áreas de estudo foram separadas nas categorias: Caatinga preservada (6 locais), Caatinga raleada (4 locais), Cultivada preservada (4 locais) e Cultivada degradada (6 locais). A categoria Caatinga preservada (CaatP) incluiu áreas não desmatadas há muitas décadas ou com pousio há mais de 20 anos; a Caatinga Raleada (CaatR) foi constituída por áreas com raleamento; no grupo Cultivado Preservado (CultP) foram incluídas áreas cultivadas com sinais de erosão pouco evidentes; no grupo Cultivado Degradado (CultD) os sinais de erosão eram bastante evidentes (Fraga & Salcedo, 2004).

As amostras de solo foram destorroadas e passadas por peneira (<2mm) para separação das raízes finas. As raízes foram preparadas para observação da colonização por FMA segundo a técnica de Koske & Gemma (1989) e avaliadas pelo método da placa quadriculada (Giovannetti & Mosse 1980). As amostras de raiz foram separadas em categorias com base na porcentagem de colonização radicular: Classe 1, 0-5%; Classe 2, 6-25%; Classe 3, 26-50 %; Classe 4, 51-75%; Classe 5, 76-100% (Kormanick & McGraw, 1982). As estruturas de FMA (hifas e vesículas) formadas nas raízes colonizadas também foram anotadas.

Esporos de FMA foram extraídos de 50 g de solo de cada amostra por peneiramento úmido (Gerdemann & Nicolson, 1963) e centrifugação em solução de sacarose (Jenkins, 1964). A suspensão de esporos foi colocada em placas de Petri, nas quais se adicionou cloreto de iodonitrotetrazólio (INT) 1% (Walley & Germida 1995). As placas foram deixadas em temperatura ambiente por 5 dias e então feita a contagem dos esporos viáveis e dos não viáveis. Foram considerados viáveis os esporos que reagiram com o INT, ficando avermelhados, e não viáveis, os esporos com e sem conteúdo citoplasmático que não reagiram com o INT, mantendo sua coloração natural.

Na estimativa da viabilidade de esporos de FMA com uso de INT, a concentração do reagente e tempo de contato sugeridos pelos autores foram 1mg.ml⁻¹ INT por 72 horas (Walley & Germida 1995). Como neste teste foram usados isolados de *Glomus clarum* e *Glomus mosseae* (Glomaceae), os autores sugeriram testes com outras espécies de FMA, pois as diferenças na permeabilidade da parede do esporo e/ou atividade metabólica poderiam afetar a reação de cor. Por esse motivo, foi feito um ensaio simples com isolados de *Glomus* sp. (Glomaceae),

Acaulospora sp. (Acaulosporaceae) e *Gigaspora* sp. (Gigasporaceae) extraídos de vasos de multiplicação. Após 24 h de incubação em 1mg.ml^{-1} INT, quase todos os esporos de *Glomus* sp. e *Acaulospora* sp. estavam corados, e apenas poucos esporos de *Gigaspora* sp. apresentavam coloração levemente rosada. Após 72 horas, todos os esporos de *Glomus* sp. e *Acaulospora* sp. mas apenas alguns de *Gigaspora* sp. estavam corados. Somente ao final de 5 dias os esporos de *Gigaspora* sp. também ficaram avermelhados, sendo este o tempo escolhido para o presente estudo.

O fósforo do solo de cada camada amostral (0-7,5 e 7,5-15 cm) foi extraído com resina em suspensão aquosa (Sibessen, 1977) e determinado colorimetricamente (Murphy & Riley, 1962) após troca do P na resina com HCl.

A densidade de esporos e a colonização radicular em relação ao uso do solo, profundidade e teor de fósforo extraído do solo com resina foram comparadas pelo teste Kruskal-Wallis e as médias comparadas pelo teste-t (Conover, 1980).

1.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foi verificada a presença de esporos de FMA em todas as amostras de solo e de colonização micorrízica em mais de 93% das amostras de raiz, de forma semelhante ao encontrado por Siqueira et al. (1989) em áreas de cerrado e agroecossistemas no sudeste do Brasil. Estes resultados coincidem com os obtidos por vários autores e ressaltam a importância e abrangência desta simbiose também na região semi-árida, independentemente do uso do solo (McGee, 1989; Mohammad et al., 2003).

A densidade de esporos viáveis nas amostras variou de 1,4 a 6,8 esporos. 50 g^{-1} de solo e a de esporos não viáveis de 91,4 a 226 esporos. 50 g^{-1} de solo, sendo as maiores contagens na camada de 0-7,5 cm (Tabela 1.1). Este último resultado coincidiu com aqueles encontrados em outros ecossistemas, nos quais a densidade de esporos foi maior nas camadas mais superficiais (Zajicek et al.1986; Friese & Koske, 1991; Bellgard, 1993). A densidade média de esporos viáveis na camada de 0-7,5 cm foi maior na categoria CaatR, diferindo apenas do CultP (Tabela 1.1). Na camada de 7,5-15 cm não houve diferenças estatísticas entre as categorias com diferentes intensidades de uso do solo (Tabela 1.1). O pequeno número de esporos viáveis, independentemente da intensidade de uso do solo, também foi verificado em levantamentos feitos em outros ecossistemas semiáridos (McGee, 1989). Este resultado possivelmente indica que a infectividade micorrízica é mais dependente de raízes colonizadas e da rede micelial já estabelecida nestes locais, que do número de esporos viáveis contidos no solo.

A densidade média de esporos não viáveis nas duas camadas de solo foi maior no CultP. Na camada de 0-7,5 cm o CultP não diferiu da CaatR, enquanto na camada de 7,5-15 cm o número de esporos em CultP foi maior que nos outros usos do solo ($p < 0,05$) (Tabela 1.1).

Tabela 1.1: Densidade média de esporos viáveis e não viáveis (número de esporos/50 g de solo) nas camadas de 0-7,5 cm e 7,5-15 cm em áreas de caatinga e cultivadas

	Viáveis		Não viáveis	
	0-7,5* cm	7,5-15 cm	0-7,5cm	7,5-15 cm
CaatP ^{&}	4,5ab	2,8a	152,3b	145,9b
CaatR [#]	6,8a	1,7a	175,7ab	91,4b
CultP [#]	3,4b	2,3a	226,0a	219,2a
CultD ^{&}	4,1ab	1,4a	133,5b	92,6b

* Médias seguidas das mesmas letras nas colunas não diferem entre si ($p < 5\%$). **CaatP** – Caatinga Preservada; **CaatR** – Caatinga Raleada; **CultP** – Cultivo Preservado; **CultD** – Cultivo Degradado. [&] n = 24, [#] n = 16.

A maior parte das amostras de raízes analisada foi incluída nas classes de colonização 3 (6-25%) e 4 (26-50%). Nenhuma das amostras foi incluída na classe 5 (76-100%) (Tabela 1.2). A colonização radicular na profundidade de 0-7,5 cm foi maior na área de CaatR, não diferindo somente do CultD, enquanto na profundidade de 7,5-15 cm não houve diferenças em colonização independentemente dos usos do solo (Tabela 1.2). O maior grau de colonização micorrízica das raízes das áreas CaatR e CultD em comparação ao das raízes das áreas preservadas pode ser decorrente do maior grau de perturbação nestas áreas em relação às preservadas.

Considera-se que áreas de mata nativa sejam ambientes estabilizados, nos quais as plantas estejam em equilíbrio com fatores do solo, ambientais e microbianos. Quando estas áreas são submetidas a algum tipo de perturbação, desde raleamento até substituição da vegetação, tais perturbações se refletem negativamente tanto nos atributos do solo (Tiessen et al., 1992; Fraga & Salcedo, 2004) quanto na interação solo-planta. Sendo possível que as plantas em situação de estresse tenham ficado mais susceptíveis à colonização micorrízica (Fitter & Merryweather, 1994).

Este estresse pode também ter sido responsável pelo pequeno aumento observado na densidade de esporos viáveis e não viáveis nas áreas de caatinga raleada (Tabela 1.1). Evidências neste sentido foram obtidas em estudo de substituição de floresta nativa por outras espécies arbóreas. Até 11 anos após a alteração na vegetação, o número de esporos continuou maior nas áreas com outras espécies arbóreas que na área nativa (Wilson et al., 1994).

A conversão de áreas nativas em pastagens também pode produzir aumento no número de esporos (Picone, 2000). Entretanto, a tendência observada no presente trabalho foi a oposta, com diminuição da densidade de esporos viáveis após a conversão de áreas de caatinga para cultivo ou pastagem (Tabela 1.1). Os processos erosivos são pouco expressivos quando a cobertura vegetal original é preservada (Albuquerque et al., 2001), mas a retirada dessa cobertura os favorece (Fraga & Salcedo, 2004), podendo contribuir assim para a diminuição do número de esporos, que podem ser perdidos juntamente com o solo. O processo erosivo nestes locais provavelmente influenciou o número de esporos, principalmente na camada superficial do solo.

Tabela 1.2. Freqüência de classes de colonização radicular por FMA em áreas de caatinga e cultivadas com nas camadas 0-7,5 cm e 7,5-15 cm

Classes de Colonização Radicular	CaatP	CaatR	CultP	CultD	CaatP	CaatR	CultP	CultD
	0-7,5 cm				7,5-15 cm			
1 (0-5%)	1	0	2	1	2	0	1	4
2 (6-25%)	13	5	10	13	18	14	12	13
3 (26-50%)	10	11	4	8	4	2	3	6
4 (51-75%)	0	0	0	2	0	0	0	1
5 (76-100%)	0	0	0	0	0	0	0	0
Significância*	B	A	B	AB	a	a	a	a

* Usos do solo seguidos pela mesma letra não diferem entre si ($P < 0,1$). As letras maiúsculas referem-se à profundidade de 0-7,5 cm e as minúsculas à profundidade de 7,5-15 cm. **CaatP** – Caatinga Preservada; **CaatR** – Caatinga Raleada; **CultP** – Cultivo Preservado; **CultD** – Cultivo Degradado; em CaatP e CultD $n = 24$, em CaatR e CultP $n = 16$.

Houve semelhança nos tipos e quantidades de estruturas de FMA entre as profundidades de 0-7,5 cm e 7,5-15 cm, dentro de cada categoria de uso do solo (Figura 1.1). De modo geral, a maior quantidade de hifas (H) nas raízes foi verificada nas áreas de CaatP, CaatR e CultD, enquanto a maior quantidade de raízes com hifas+vesículas (HV) ocorreu nas áreas de CaatP e CultD. Nas amostras de raiz da CaatP, CultP e CultD foi verificada a presença de fungos aparentemente não micorrízicos colonizando as raízes (Figura 1.1). Nesse caso as hifas formadas eram septadas, ou se cenocíticas apresentavam corpos de frutificação que não correspondiam a estruturas produzidas por FMA.

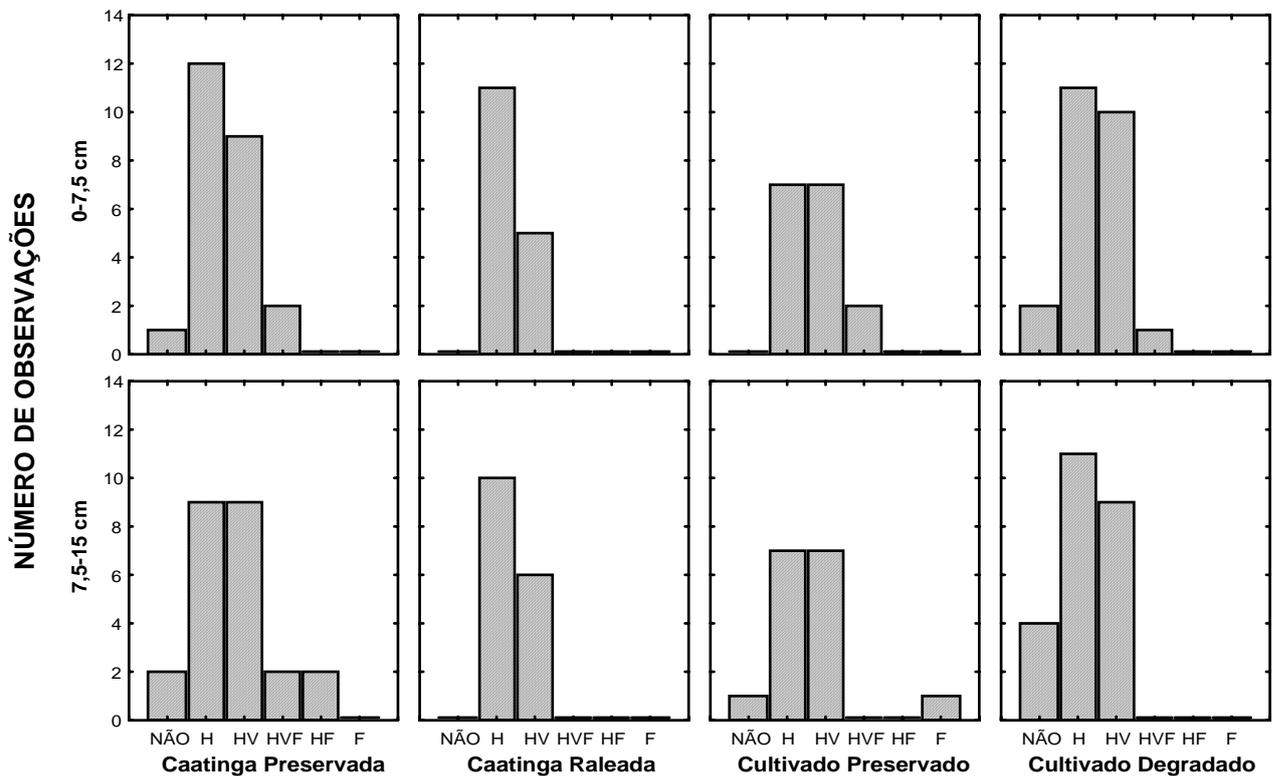


Figura 1.1. Estruturas de FMA observadas nas raízes em áreas de caatinga e cultivadas nas camadas 0-7,5 cm e 7,5-15 cm. NÃO - ausência de colonização radicular; **H** - colonização por hifas de FMA; **HV** - colonização por hifas e vesículas de FMA; **HVF** - colonização por hifas e vesículas de FMA e por fungos aparentemente não micorrízicos; **HF** - colonização por hifas de FMA e de fungos aparentemente não micorrízicos; **F** - colonização por hifas de fungos aparentemente não micorrízicos.

A quantidade de P extraível não teve efeito determinante sobre a densidade de esporos de FMA e a colonização das raízes nas áreas de caatinga e sob cultivo, porém as diferentes quantidades de fósforo, na camada 0-7,5 cm do solo, parecem ter produzido variações na colonização das raízes, mais especificamente nas áreas cultivadas (Figura 1.2). Assim, quando a quantidade de fósforo foi abaixo de 1 mg de P Kg⁻¹ de solo a colonização radicular por FMA foi baixa nas áreas cultivadas, e com valores comparáveis aos das áreas de caatinga para quantidades entre 1-2 mg e acima de 2 mg de P Kg⁻¹ de solo (Figura 1.2). Considerando que nas áreas de caatinga exista um equilíbrio entre vegetação, comunidade micorrízica e condições edafoclimáticas, a quantidade de fósforo no solo não pareceu interferir na condição micorrízica das plantas. A retirada da vegetação nativa produziu desequilíbrio no ambiente e os baixos teores de P (<1 mg de P; Figura 1.2) exerceram efeito negativo sobre a associação com os FMA, que nesta nova situação de uso do solo pode ter sido uma alternativa pouco interessante para as plantas.

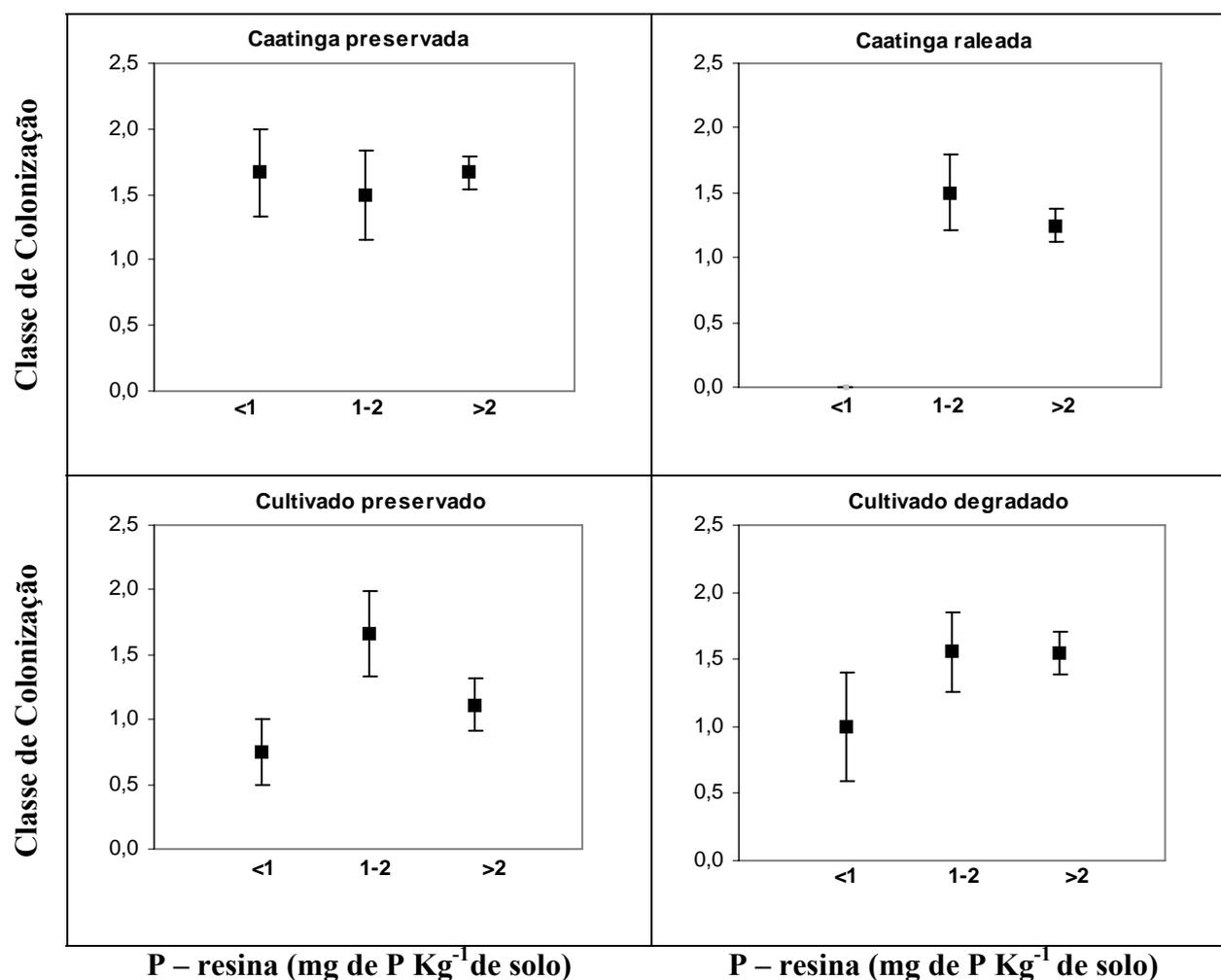


Figura 1.2. Relação entre as classes de colonização radicular por FMA e a quantidade de fósforo extraível na profundidade de 0-7,5 cm (\pm erro padrão).

1.4. CONCLUSÕES

A quase totalidade das raízes (93%) amostradas até 15 cm de profundidade apresentavam-se colonizadas por FMA, apesar da variedade de graus de perturbação antrópica representados pela origem das amostras. Somente nos casos de degradação extrema e de P extraível menor que 1 mg Kg⁻¹ a colonização de raízes ficou prejudicada. Menos de 5% do total de esporos na camada de 0-15 cm de profundidade estavam viáveis, o que sugere que nos ambientes amostrados, a principal forma de propagação sejam raízes colonizadas.

1.5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALBUQUERQUE, A.W., LOMBARDI NETO, F. & SRINIVASAM, V.S. Efeito do desmatamento da caatinga sobre as perdas de solo e água num Luvissole em Sumé (PB). **R. Bras. Ci. Solo**, **25**: 121-128, 2001.
- BELLEGARD, S.E. The topsoil as the major store of the propagules of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi in southeast Australian sandstone soils. **Mycorrhiza**, **3**: 19-24, 1993.
- BRUNDRETT, M.C., ASHWATH, N. & JASPER, D.A. Mycorrhizas in the Kakadu region of tropical Australia. II. Propagules of mycorrhizal fungi in disturbed habitats. **Plant Soil**, **184**: 173-184, 1996.
- CONOVER, W.J. **Practical nonparametric statistics**. 2 ed. New York, John Wiley & Sons, 1980.
- DAY, L.D., SYLVIA, D.M. & COLLINS, M.E. Interactions among vesicular-arbuscular mycorrhizae, soil, and landscape position. **Soil Sci. Soc. Am. J.**, **51**: 635-639, 1987.
- FITTER, A.H. & MERRYWEATHER, J.W. Why are some plants more mycorrhizal than others? An ecological enquiry. In: READ, D.J., LEWIS, D.H., FITTER, A.H. & ALEXANDER, I.J., eds. **Mycorrhizas in ecosystems**. Cambridge, University Press, 1994. p. 26-36.
- FRAGA, V.S. **Mudanças na matéria orgânica (C, N e P) de solos sob agricultura de subsistência**. Universidade Federal de Pernambuco. Tese de Doutorado. 2002. 70f.
- FRAGA, V.S. & SALCEDO, I.H. Declines of organic nutrient pools in tropical semi-arid soils under subsistence farming. **Soil Sci. Soc. Am. J.**, **68**:215-224, 2004.
- FRIESE, C.F. & KOSKE, R.E. The spatial dispersion of spores of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi in a sand dune: microscale patterns associated with the root architecture of American beachgrass. **Mycol. Res.**, **95** (8): 952-957, 1991.
- GERDEMANN, J.W. & NICOLSON, T.H. 1963. Spores of mycorrhizal *Endogone* extracted from soil by wet-sieving and decanting. 1963. **Trans. Br. Mycol. Soc.**, **46**: 235-244.
- GIOVANNETTI, M. & MOSSE, B. An evaluation of techniques for measuring vesicular arbuscular mycorrhizal infection in roots. **New Phytol.**, **84**: 489-490, 1980.
- JENKINS, W. 1964. A rapid centrifugal-flotation technique for separating nematodes from soil. **Plant Dis. Rep.**, **48**: 692.
- KORMANICK, P.P. & MCGRAW, A.C. Quantification of vesicular-arbuscular mycorrhizae in plant roots. In: SCHENCK, N.C. ed. **Methods and principles of mycorrhizal research**. Minnesota, American Phytopathological Society, 1982. p.34-37.

- KOSKE, R.E. & GEMMA, J.N. A modified procedure for staining roots to detect mycorrhizas. **Mycol. Res.**, **92**: 486-488, 1989.
- MAASS, J.M. Seasonally dry tropical forests. In: BULLOCK, S.H., MOONEY, H.A. & MEDINA, E., eds. **Conversion of tropical dry forest to pasture and agriculture**. Cambridge, Cambridge University Press, 1995. p.399-422.
- McGEE, P.A. Variation in propagule numbers of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi in a semi-arid soil. **Mycol. Res.**, **92**: 28-33, 1989.
- MOHAMMAD, M.J., HAMAD, S.R. & MALKAWI, H.I. Population of arbuscular mycorrhizal fungi in semi-arid environment of Jordan as influenced by biotic and abiotic factors. **J. Arid Environm.**, **53**:409-417. 2003.
- MORTON, J., FRANKE, M. & CLOUD, G. 1994. The nature of fungal species in Glomales. In: READ, D.J., LEWIS, D.H., FITTER, A.H. & ALEXANDER, I.J., (Eds.). **Mycorrhizas in Ecosystems**. Cambridge: University Press, p. 65-73.
- MURPHY, J. & RILEY, J.P.A. A modified simple solution method for the determination of phosphate in natural waters. **Anal. Chim. Acta**, **27**: 31-36, 1962.
- PICONE, C. Diversity and abundance of arbuscular-mycorrhizal fungus spores in tropical forest and pasture. **Biotropica**, **32** (4a): 734-750, 2000.
- SIBESSEN, E. A simple ion-exchange resin procedure for extracting plant available elements from the soil. **Plant Soil**, **46**: 665-669, 1977.
- SIQUEIRA, J.O., COLOZZI-FILHO, A. & OLIVEIRA, E. Ocorrência de micorrizas vesicular-arbusculares em agro e ecossistemas do estado de Minas Gerais. **Pesq. Agropec. Bras.**, **24** (12): 1499-1506, 1989.
- SMITH, S.E. & READ, D.J. *Mycorrhizal symbiosis*. 2 ed. Londres, Academic Press, 1997. 605p.
- TIESSEN, H., SALCEDO, I.H. & SAMPAIO, E.V.S.B. 1992. Nutrient and soil organic-matter dynamics under shifting cultivation in semiarid northeastern Brazil. **Agric. Ecosyst. Environ.** **38** (3): 139-151.
- WALLEY, F.L. & GERMIDA, J.J. Estimating the viability of vesicular-arbuscular mycorrhizae fungal spores using tetrazolium salts as vital stains. **Mycologia**, **87** (2): 273-279, 1995.
- WILSON, J., INGLEBY, K., MASON, P., IBRAHIM, K. & LAWSON, G.J. Long-term changes in vesicular-arbuscular mycorrhizal spore populations in Terminalia plantations in Côte d'Ivoire. In: READ, D.J., LEWIS, D.H., FITTER, A.H. & ALEXANDER, I.J., eds. **Mycorrhizas in ecosystems**. Cambridge, University Press, 1994. p. 268-275.
- ZAJICEK, J. M., HETRICK, B.A.D. & OWENSBY, C.E. The influence of soil depth on mycorrhizal colonization of forbs in the tallgrass prairie. **Mycologia**, **78** (2): 316-320, 1986.

CAPÍTULO 2**FUNGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES EM ÁREAS DE BREJO
COM DIFERENTES USOS DO SOLO**

2.1. INTRODUÇÃO

Micorriza arbuscular é uma simbiose formada pela associação de fungos micorrízicos arbusculares (FMA) e plantas. Nesta simbiose os FMA recebem fotossintatos das plantas e contribuem aumentando a absorção de água e nutrientes do solo, em especial do fósforo para as plantas.

Os FMA são componentes importantes da comunidade microbiana do solo, pois participam do processo de sucessão vegetal, contribuindo para a diversificação e a estabilidade de ecossistemas naturais (van der Heidjen et al., 1998) e de áreas perturbadas no decorrer do processo de revegetação (de Souza & Silva, 1996). Nas micorrizas arbusculares, os componentes bióticos (fungos e plantas) e abióticos (solo, clima) do ecossistema interagem estabelecendo um equilíbrio dinâmico que origina e é mantido pela biodiversidade.

A infectividade micorrízica de um solo é a habilidade para induzir a colonização micorrízica na planta hospedeira e está relacionada ao número de propágulos de FMA ativos (Plenchette et al., 1989).

A colonização de uma planta é influenciada pela fenologia da planta, espécie de FMA e características do solo de uma planta e se dá a partir de propágulos fúngicos infectivos, que são esporos, micélio e pedaços de raízes colonizadas (Land & Schonbeck 1991; Mohammad et al., 1998). Os esporos dos FMA são propágulos produzidos pelo micélio e têm alta capacidade de sobrevivência sob condições adversas, podendo manter a viabilidade no solo durante vários anos. O tipo e a organização de suas estruturas são utilizados na identificação das espécies, sendo base da taxonomia do grupo (Morton et al., 1994). O micélio extra-radicular apresenta grande capacidade infectiva em áreas preservadas, onde a malha de hifas está bem estabelecida, porém é facilmente destruído por ações que perturbem a estrutura do solo, como revolvimentos intensivos e ciclos de umedecimento e secagem (Jasper et al., 1994). Pedaços de raízes colonizados por estruturas de FMA também são importantes para a manutenção da infectividade do solo após perturbações (de Souza & Silva, 1996).

A conversão de áreas de floresta em pastagem ou cultivo produz modificações no ecossistema, como diminuição da biodiversidade e das taxas de ciclagem de nutrientes, compactação do solo, erosão e acidificação (Skujins & Allen, 1986; Dhillon & Anderson, 1990). Como estes fatores afetam os FMA, a mudança no uso do solo poderá ter impacto também sobre a associação micorrízica (Brundrett et al., 1996b). O tipo e a quantidade de propágulos de FMA remanescentes irá determinar a persistência do simbionte no solo (Brundrett, 1991).

Os estudos em ambientes tropicais feitos até aqui têm mostrado que os FMA são resilientes a mudanças na vegetação que se mantenham por longos períodos de tempo. A população de esporos pode não ser afetada negativamente apesar das mudanças nas espécies de

plantas hospedeiras e no ambiente do solo que se seguem à conversão (Picone, 2000). Assim os locais podem se assemelhar em composição de espécies, mas variar na frequência de ocorrência e na abundância de esporos (Picone, 2000). Após a conversão a produção de maior quantidade de esporos por algumas das espécies de FMA pode resultar na substituição da espécie de FMA dominante na área (Mason et al., 1994). A colonização micorrízica também reflete o efeito das modificações ambientais sobre os FMA, sendo maior em áreas preservadas e menor em áreas menos favoráveis ao desenvolvimento vegetal, seja devido a condições naturalmente desfavoráveis do ambiente ou resultantes da ação antrópica sobre o meio (Brundrett et al., 1996a; 1996b).

A vegetação de brejo que dominava a paisagem na microbacia Vaca Brava, agreste da Paraíba, tem sido substituída por outros tipos de cobertura vegetal, dentre as quais se destacam as pastagens e, com menor intensidade, reflorestamentos. Pouco se conhece sobre a diversidade e a variação espacial dos FMA nos solos do Nordeste brasileiro. Por isso, considerou-se relevante investigar as conseqüências dessas mudanças na cobertura vegetal sobre os fungos formadores de micorrizas arbusculares. Assim, este trabalho teve como objetivo analisar o efeito de diferentes situações de uso do solo sobre a diversidade de FMA e sobre a quantidade e viabilidade dos propágulos micorrízicos.

2.2. MATERIAL E MÉTODOS

Descrição da área de estudo

A microbacia Vaca Brava, abrangendo área aproximada de 1.403,75 ha, fica nos municípios de Areia e Remígio - PB (192000 – 198000 m E e 9225300 – 923100 m N de coordenadas planas), com altitude média de 637 m. Está localizada na microrregião do Brejo, na mesorregião do Agreste paraibano. O clima é tropical chuvoso, do tipo AS' (Köppen), com temperatura média anual de 24°C. A precipitação média anual é de 1.200 mm, com chuvas distribuídas nos meses de março a setembro (Reddy, 1983). O relevo é ondulado a fortemente ondulado, sendo predominantes os solos Podzólico Vermelho Amarelo, recobertos pela mata úmida de altitude (Mata de Brejo), e Litólico eutrófico, com mata subcaducifólia (Brasil, 1972).

A microbacia de Vaca Brava é constituída por áreas de pastagem e cultivos agrícolas (agricultura de subsistência com baixa produtividade), de reflorestamentos e uma reserva de Mata Atlântica de Altitude (610 ha), única do gênero no Agreste da Paraíba, que preserva a área de captação de água para a barragem Vaca Brava.

Coleta de amostras

A amostragem foi feita em três áreas adjacentes, com diferentes usos do solo: mata nativa, pastagem (*Brachiaria decumbens* Stapf.), e reflorestamento com sabiá (*Mimosa caesalpinifolia* Benth). As amostras de solo foram retiradas da profundidade 0-15 cm, ao longo

de transectos dentro de cada área, com sete pontos de amostragem distantes 10-12 m entre si (dependendo da área disponível), medidos a partir da divisa das áreas vizinhas, totalizando 21 amostras (três usos do solo x sete pontos). As amostras coletadas em cada ponto foram compostas de quatro subamostras, retiradas próximas entre si. As amostras de solo foram destorroadas e passadas por peneira para separação das raízes finas (<2mm). Amostras de folheto foram coletadas nas áreas com mata e sabiá, retiradas acima do local onde seria feita a coleta de solo.

Adicionalmente, foram coletadas amostras relativamente indeformadas, sete em cada área de estudo, usando um trado que permite a inserção de um tubo de PVC com diâmetro de 7 cm e 15 cm de altura. Os tubos retirados do trado contendo as amostras de solo foram conservados sob refrigeração até a montagem do ensaio (Jasper et al., 1991).

Análises químicas e físicas das amostras de solo

A textura das amostras foi determinada pelo método do densímetro (Day, 1965). O teor de argila do solo foi maior na área de mata, seguido pela pastagem e pelo sabiá (Tabela 2.1). O teor de areia variou de forma inversa ao da argila: no sabiá foi maior que na pastagem, que foi maior que na mata.

O pH foi determinado por potenciometria numa suspensão 1:2,5 (p:v) solo:água. O fósforo foi extraído utilizando-se a solução Mehlich-I (Mehlich, 1953) e determinado por colorimetria (Murphy & Riley, 1962). As três áreas apresentaram solo ácido. Nas áreas de mata e de sabiá, o teor de fósforo foi muito baixo (<5 mg Kg⁻¹), e mais alto na pastagem (>10 mg Kg⁻¹). O pH e o teor de fósforo na pastagem foram maiores que nas áreas com mata e sabiá (Tabela 2.1).

Tabela 2.1. Textura, temperatura, pH e fósforo do solo (0-15 cm de profundidade) das áreas com diferentes usos do solo

	Textura (%)		Temperatura (°C) ¹ min-max		pH (1:2,5)	P mg Kg ⁻¹ solo
	argila	areia	Julho	Dezembro		
Mata nativa	40,2 a*	51,2c	21-26	23-25	4,85 b	4,09 b
Pastagem	22,2 b	69,4 b	21-27	26-41	5,86 a	12,59 a
Sabiá	11,4 c	82,9 a	21-27	23-32	4,93 b	3,87 b

* Médias seguidas pela mesma letra nas colunas não diferem entre si ($p < 0,05$).

¹ Camada de 0-5 cm de profundidade.

Identificação dos FMA

Amostras de solo (350 cm³) foram misturadas com areia esterilizada (1:1; v:v) e semeadas com sorgo (*Sorghum vulgare* L.) para preparação de vasos de cultivo armadilha para FMA, visando a produção de esporos. Os vasos foram mantidos em casa de vegetação por dois ciclos de cultivo sucessivos, com duração de três meses em cada ciclo. Ao final do segundo ciclo, a parte aérea foi cortada e o substrato deixado fora da casa de vegetação para secar (Stutz & Morton, 1996).

Os esporos de FMA produzidos durante os ciclos de cultura foram extraídos de 50 g de substrato de cada vaso por peneiramento úmido (Gerdemann & Nicolson, 1963) e centrifugação em solução de sacarose (Jenkins, 1964).

Os esporos de cada amostra foram agrupados de acordo com o tipo morfológico e montados em lâminas, nas quais se adicionou resina PVLG ou uma mistura de PVLG com reagente de Melzer (1:1; v:v). A identificação taxonômica dos esporos de FMA foi baseada nas características subcelulares descritas por Schenck & Perez (1988), Carrenho (1998), INVAM (2003) Blaszkowski (2003) e outros artigos publicados. A frequência relativa de ocorrência da espécie foi calculada como número de amostras em que a espécie ocorreu/total de amostras, expresso em porcentagem e a riqueza de espécies foi o número total de espécies presentes no segundo ciclo de multiplicação de cada amostra.

Infectividade Micorrízica do Solo

Para estimar infectividade micorrízica do solo foi feita a extração e contagem direta dos esporos fazendo uso de corante indicador de viabilidade, a verificação da colonização de raízes retiradas do solo ou do folheto das amostras de campo, e ensaios com solo diluído e com amostras de solo indeformadas.

As raízes presentes no folheto foram separadas em vivas e mortas, conforme a coloração, textura e aspecto do córtex. As raízes provenientes do folheto e das amostras de solo foram coradas com azul de tripan para observação da colonização por FMA (Koske & Gemma, 1989). A porcentagem de colonização intra-radicular foi determinada pelo método da placa quadriculada (Giovannetti & Mosse, 1980).

Esporos de FMA foram extraídos de 50 g de substrato e colocados em placas de Petri, nas quais se adicionou o cloreto de iodonitrotetrazólio 1% (INT) (Walley & Germida, 1995), que dá cor vermelha aos esporos viáveis. As placas de Petri foram mantidas em temperatura ambiente por 5 dias e então feita a contagem dos esporos em placa com canaletas concêntricas em microscópio estereoscópico. Os esporos foram separados em três categorias: viáveis (esporos que reagiram com INT, adquirindo cor vermelha), não viáveis (esporos com e sem conteúdo

citoplasmático que não reagiram com INT e mantiveram a coloração original) e mumificados (esporos sem conteúdo citoplasmático e que apresentavam parede escura).

Para a obtenção do número mais provável (NMP) de propágulos infectivos no solo as amostras de solo trazidas do campo foram diluídas, utilizando fator de diluição 4 (3:1; solo diluente:solo do campo) na faixa de 4^0 a 4^{-8} , com sete repetições (Porter, 1979). O solo diluente foi umedecido com água destilada (16%; p:p), esterilizado em microondas (por 5 minutos na potência máxima) (Ferriss, 1984), seco ao ar e passado por peneira (malha 2mm). Tubos com volume de 30 mL foram preenchidos com 30 g de solo e semeados com sorgo (Day et al., 1987); após a emergência fez-se o desbaste deixando uma planta por vaso. O solo foi umedecido por capilaridade e, quinzenalmente, recebeu solução de Hoagland sem fósforo. Os ensaios tiveram duração de 6 semanas. Após este período, o sistema radicular das plantas foi coletado, lavado, diafanizado com KOH, corado com azul de tripan (Koske & Gemma, 1989) e examinado para determinação da presença ou ausência de colonização por FMA. A ocorrência de hifas, arbúsculos, vesículas ou esporos intra-radulares foi considerada evidência de colonização (Powel, 1980; Day et al., 1987).

A determinação da colonização micorrízica em amostras de solo indeformadas foi feita transplantando uma plântula de sorgo (*Sorghum vulgare* L.) para cada tubo com a amostra. Os tubos foram mantidos em casa de vegetação por 5 semanas. Após este período as raízes das plantas foram coradas como descrito e observadas em microscópio estereoscópico para determinação da porcentagem de colonização micorrízica (Giovannetti & Mosse, 1980).

Os valores percentuais da colonização das raízes provenientes do campo e do ensaio com amostras indeformadas foram transformados em arco seno $(x)^{1/2}$ e submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey (5%). Os dados de contagem de esporos não apresentavam distribuição normal, mesmo após a transformação em $(x+1)^{1/2}$, por isso foram analisados pelo método de Kruskal-Wallis e as médias comparadas pelo teste-t (Conover, 1980). O número mais provável de propágulos micorrízicos e seu erro padrão (5%) foram estimados usando tabelas estatísticas (Fisher & Yates, 1971; Cochran, 1950).

2.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Diversidade de FMA

A área com maior riqueza numérica de espécies foi a de pastagem, com 22 espécies (Tabela 2.2). As áreas de mata e reflorestada com sabiá tiveram valores próximos entre si, 11 e 14 respectivamente. Nas três áreas, foram encontradas 28 espécies de FMA, distribuídas nos gêneros *Archaeospora* (1), *Acaulospora* (8), *Entrophospora* (1), *Glomus* (14), *Gigaspora* (1) e *Scutellospora* (3).

As espécies *Archaeospora leptoticha*, *G. etunicatum*, *G. macrocarpum*, *G. microaggregatum* e *Glomus* sp.1 foram encontradas em todas as áreas. As comunidades de FMA estabelecidas na pastagem foram mais numerosas e diversificadas que as verificadas na mata, que neste estudo foi considerada como área de referência. Das 22 espécies que ocorreram na pastagem, apenas sete ocorreram também na mata e, um total de 19 espécies de FMA diferentes nessas áreas: sendo 15 espécies de FMA da pastagem e não encontradas na mata e, 4 espécies de FMA da mata não encontradas na pastagem. Numa avaliação do efeito da conversão de florestas tropicais em pastagem sobre as espécies de FMA (Picone, 2000), foi verificado esse mesmo comportamento. Comparando os ambientes de mata e reflorestado com sabiá, verifica-se que oito espécies de FMA foram comuns às duas áreas e, apesar de haver variação na composição da população de FMA entre as áreas, apenas três espécies da mata não ocorreram na área com sabiá e, seis espécies de FMA da área com sabiá não ocorreram na mata. Considerando as áreas de pastagem e com sabiá, foram nove espécies de FMA com ocorrência comum, e nesse caso foram 18 espécies diferentes na composição geral. As quantidades de espécies de FMA em comum ou diferentes quando se comparou a pastagem com a mata (7 comuns e 19 diferentes) ou a pastagem com a área reflorestada com sabiá (8 comuns e 18 diferentes) apresentaram valores próximos (Tabela 2.2).

Acaulospora sp.1 ocorreu somente na mata e *Acaulospora foveata* e *Scutellospora verrucosa*, somente na área com sabiá. Nestas duas áreas, as espécies de FMA mais frequentes foram *Glomus invermaium* e *G. macrocarpum*. *Acaulospora morrowiae*, *A. spinosa*, *A. tuberculata*, *A. trappei*, *Glomus aggregatum*, *G. arboreense*, *G. claroideum*, *G. clarum*, *G. heterosporum*, *G. microcarpum* e *Scutellospora coraloidea* ocorreram unicamente na pastagem. No entanto as espécies mais frequentes nesta área foram *Entrophospora colombiana*, *Glomus diaphanum* e *G. macrocarpum*. Não houve, portanto, correspondência entre a presença exclusiva e frequência relativa das espécies de FMA nesses ambientes.

As espécies de FMA mais frequentes nas áreas de mata e de sabiá foram as mesmas encontradas na área de mata, e os números totais de espécies nestas áreas foram muito próximos (11, na mata e 14, no sabiá). No entanto, as comunidades de FMA estabelecidas nestes ambientes apresentaram composição de espécies distinta, pois seis das espécies de FMA da área de sabiá não ocorreram na mata. Apesar destes ambientes serem constituídos por vegetação arbórea e apresentarem microclima semelhante, na mata há diversas plantas hospedeiras com as quais a associação micorrízica pode ser estabelecida, enquanto na área de reflorestamento o sabiá é o único hospedeiro disponível para os FMA. Isto sugere que as espécies de FMA presentes na área reflorestada com sabiá foram selecionadas pelo sabiá, e apresentam um certo grau de especificidade ecológica com esse hospedeiro.

Tabela 2.2: Distribuição de espécies de FMA nas áreas com diferentes usos do solo

Espécies de FMA	Frequência Relativa ¹ (%)		
	Mata Nativa	Pastagem	Sabiá
<i>Archaeospora leptoticha</i> Morton, Bever & Pflieger	14,3	42,8	42,8
<i>Acaulospora foveata</i> Trappe & Janos			28,6
<i>Acaulospora longula</i> Spain & Schenck		57,14	42,8
<i>Acaulospora morrowiae</i> Spain & Schenck		57,14	
<i>Acaulospora scrobiculata</i> Trappe		14,3	14,3
<i>Acaulospora spinosa</i> Walker & Trappe		14,3	
<i>Acaulospora trappei</i> Ames & Linderman		28,6	
<i>Acaulospora tuberculata</i> Janos & Trappe		28,6	
<i>Acaulospora</i> sp.1	28,6		
<i>Entrophospora colombiana</i> Spain & Schenck	14,3	85,7	
<i>Glomus aggregatum</i> Schenck & Smith		14,3	
<i>Glomus arboreense</i> McGee		14,3	
<i>Glomus claroideum</i> Schenck & Smith		14,3	
<i>Glomus clarum</i> Nicol. & Schenck		42,8	
<i>Glomus diaphanum</i> Morton & Walker		71,5	28,6
<i>Glomus etunicatum</i> Becker & Gerd.	28,6	57,1	28,6
<i>Glomus heterosporum</i> Smith & Schenck		42,8	
<i>Glomus invermaium</i> Hall	85,7		85,7
<i>Glomus macrocarpum</i> Tul. & Tul.	100	85,7	100
<i>Glomus microaggregatum</i> Koske, Gemma & Olexia	14,3	28,6	28,6
<i>Glomus microcarpum</i> Gerd. & Trappe		14,3	
<i>Glomus</i> sp. 1	71,5	28,6	28,6
<i>Glomus</i> sp. 2	14,3		14,3
<i>Glomus</i> sp. 3	14,3		28,6
<i>Gigaspora margarita</i> Becker & Hall		28,6	14,3
<i>Scutellospora coralloidea</i> (Nicol. & Schenck) Walker & Sanders		14,3	
<i>Scutellospora pellucida</i> (Nicol. & Schenck) Walker & Sanders	14,3	14,3	
<i>Scutellospora verrucosa</i> (Koske & Walker) Walker & Sanders			28,6
Riqueza numérica²	11	22	14

¹**Frequência Relativa** – número de amostras em que a espécie ocorreu/total de amostras ×100.

²**Riqueza numérica** - número total de espécies que ocorreram na área.

Infetividade do solo

Considerando a mata nativa como área representativa do ecossistema antes da perturbação, a dinâmica da produção de esporos de FMA foi modificada pela mudança no uso do solo (Tabela 2.3). A mata nativa apresentou pequena quantidade de esporos viáveis (3,8 esporos), e a quantidade de esporos nos dois compartimentos temporais seguintes foram maiores e com valores aproximados entre eles (348 não viáveis e 394 mumificados). O número médio de esporos viáveis na área com sabiá foi pequeno (2 esporos) e próximo ao da mata nativa, ambos menores que o número de esporos encontrado na área de pastagem (26,7 esporos) (Tabela 2.3). Na área reflorestada com sabiá a quantidade de esporos não viáveis é o dobro da quantidade de mumificados (556 e 244, respectivamente). Na área de pastagem a produção de esporos viáveis foi maior que na de mata e que na área reflorestada, tendo havido maior acúmulo de esporos no compartimento de esporos mumificados (473 esporos) em relação ao de não viáveis (354 esporos). A maior quantidade de esporos encontrada nesta área pode ser atribuída às oscilações na temperatura do solo (Tabela 2.1) e ao pastejo, pois a retirada da parte aérea das plantas estimula a esporulação, estes fatores influenciam a planta hospedeira (braquiária) e, indiretamente, podem também estimular a produção de esporos, que se torna mais freqüente para garantir a continuidade das micorrizas na área. O valor de pH (5,86) pode ter contribuído para a maior produção de esporos nas áreas de pastagem, pois com a diminuição da acidez do solo diminui também o efeito fungistático que o pH pode exercer sobre algumas espécies de FMA (Siqueira et al., 1986).

Tabela 2.3 Efeito da cobertura vegetal sobre o número e a viabilidade de esporos de FMA

Esporos	Mata nativa	Pastagem	Sabiá
Viáveis	*3,8 b	26,7 a	2 b
Não viáveis	348 a	354 a	556 a
Mumificados	394 ab	473 a	244 b

* Médias seguidas pela mesma letra nas linhas não diferem entre si ($p < 0,05$).

O mesmo tipo de resposta foi observado em um estudo (Wilson et al., 1994) no qual o número de esporos viáveis de FMA numa área de floresta nativa (8,4 esporos) foi mais baixo que áreas vizinhas reflorestadas com espécies arbóreas de *Terminalia* (números médios de 14,2, 12,9 e 9,3 esporos, em áreas com 1, 15 e 23 anos após a modificação florística). Numa comparação entre áreas de mata e pastagem vizinhas, foi observado que o número de esporos de FMA na pastagem foi igual ou maior que o verificado na mata (Picone, 2000).

Na mata e na área com sabiá, também se verificou grande quantidade de raízes vivas e mortas colonizadas por FMA, tanto no solo como no folheto (Tabela 2.4) indicando que esta

forma de propágulo é de grande importância nestes ambientes, tendo em vista os baixos números de esporos viáveis (Tabela 2.3).

A presença de colonização nas raízes que crescem no folheto pode ser indicativa de que os FMA estejam competindo pelos nutrientes mineralizados ou de que possam contribuir para a absorção direta de nutrientes derivados de fontes orgânicas, hipótese que tem sido objeto de estudos depois de se observar a proliferação de hifas em materiais orgânicos (St. John et al., 1983; Hodge et al., 2001).

Tabela 2.4 Efeito da cobertura vegetal sobre a colonização micorrízica (%) de raízes em folheto e solo

	Raízes	Mata nativa	Pastagem	Sabiá
Folheto	Vivas	72,6 a	nd	69,5 a
	Mortas	73,3 b	nd	87,4 a
Solo	Vivas	52,9 a	25,4 b	62,8 a
	Mortas	61,7 b	23,8 c	71,2 a

* Médias seguidas pela mesma letra nas linhas não diferem entre si ($p < 0,05$). nd= não determinado – na pastagem não há formação de folheto.

De modo geral, os números de esporos (Tabela 2.3) e a colonização das raízes (Tabela 2.4) foram parecidos nas áreas vegetadas com mata nativa e com sabiá. É possível que este comportamento esteja relacionado com os aspectos da fitofisionomia e do microclima semelhantes entre as áreas. Nos ensaios para determinação da infectividade do solo, o resultado do número mais provável (NMP) também indicou que as áreas de mata e com sabiá têm infectividade micorrízica semelhante (Tabela 2.5). Contudo, no ensaio com amostras indeformadas de solo, a colonização micorrízica (CM) da área com sabiá foi maior que na de mata (Tabela 2.5).

A colonização por FMA das raízes vivas e mortas retiradas do solo foram menores na área de pastagem (25,4 e 23,8% respectivamente, Tabela 2.4) que nas áreas de mata e com sabiá (52,9 a 73,3%, na primeira e 62,8 a 87,4%, na segunda; Tabela 2.4). O teor médio de fósforo na área de pastagem ($12,6 \text{ mg Kg}^{-1}$; Tabela 2.1) pode ter contribuído para a baixa porcentagem de colonização micorrízica das amostras de raiz retiradas do campo (Tabela 2.4). As gramíneas têm muitas raízes e estas geralmente são muito finas, conferindo maior eficiência na absorção de P do solo; no entanto, estas plantas podem ser altamente dependentes da associação micorrízica em condições de baixa disponibilidade de P. A braquiária pode apresentar dependência de até 90% da associação com FMA em solos com baixo nível de P, mas em níveis mais altos de P a dependência diminui (Howeler et al., 1987). Levando-se em consideração os valores de

colonização radicular e do número de esporos viáveis no solo sob pastagem, que foi maior do que nas áreas de mata e com sabiá (Tabela 2.3), e que a pastagem se mostrou uma área com grande infectividade micorrízica (Tabela 2.5), sugere-se que os esporos sejam o tipo de propágulo mais importante para a infectividade micorrízica deste sistema.

A colonização das raízes por FMA no ensaio do NMP (Tabela 2.5) a pastagem apresentou maior valor de infectividade que a mata e o sabiá, enquanto no ensaio com amostras de solo indeformadas (CM; Tabela 2.5) demonstrou que a pastagem e a área com sabiá têm potencial de infectividade semelhantes e maiores que na área de mata. Assim, houve divergência nos resultados em relação ao potencial de infectividade da área reflorestada com sabiá em função da metodologia utilizada.

Tabela 2.5 Potencial de inóculo micorrízico do solo medido pelo número mais provável (NMP) de propágulos infectivos de FMA e pela colonização micorrízica (CM) em amostras de solo indeformadas

	Mata nativa	Pastagem	Sabiá
NMP #	1465 b	8511 a	1188 b
CM (%)*	31,7 b	67,7 a	72,0 a

*Médias ou # valores seguidos pela mesma letra, nas linhas, não diferem entre si ($p < 0,05$).

As diferenças no NMP provavelmente estão relacionadas ao tipo de propágulo (esporos e raízes colonizadas) e à manutenção da viabilidade destes no solo. Os esporos são estruturas de resistência e necessariamente permanecem mais tempo no ambiente, diferente das raízes colonizadas, que estando conectadas à planta, ou seja, vivas, mantêm a viabilidade dos fungos por cerca de uma semana. Quando estas se encontram no solo, na forma de fragmentos, esta viabilidade diminui drasticamente. Como o ensaio do NMP foi realizado oito meses após a coleta de solos, a capacidade dos solos de iniciar a colonização micorrízica a partir de fragmentos de raízes colonizadas possivelmente já estava comprometida. No solo da pastagem, a maior quantidade de esporos viáveis possibilitou o estabelecimento da associação MA nas raízes de sorgo. Nos solos de mata e sabiá, em que as raízes colonizadas parecem ser o principal propágulo iniciador de colonização, o ensaio resultou em baixa infectividade micorrízica.

No ensaio com amostras indeformadas, a colonização micorrízica das áreas de mata e sabiá diferiu significativamente, estando possivelmente relacionado com a riqueza de espécies de plantas hospedeiras em cada ambiente. Na área com sabiá há apenas um tipo de planta hospedeira disponível para o estabelecimento da associação micorrízica e as espécies de FMA que permanecem estão numa situação de forte competição e devem ser bastante eficientes em colonizar o sabiá para garantir sua perpetuação no ambiente.

2.4. CONCLUSÕES

A conversão de áreas de Mata Atlântica de Altitude para pastagens ou reflorestamento com sabiá, produziu modificações na composição, número e a frequência de ocorrência de espécies de FMA. A implantação de pastagens favoreceu o estabelecimento de maior número de espécies de FMA que o reflorestamento e a mata. A infectividade micorrízica na área com pastagem parece depender mais dos esporos do que de raízes colonizadas, visto que nesta área os esporos são numerosos e que a colonização das raízes chega somente até 25%, enquanto nas áreas com mata nativa e reflorestada com sabiá as raízes colonizadas parecem ser o principal propágulo, pois apresentam mais que 50% de colonização por FMA e a quantidade de esporos é baixa (<3 esporos/50g de solo). A quantidade e viabilidade dos propágulos micorrízicos relacionou-se com a vegetação da área.

2.5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BRASIL, 1972. Ministério da Agricultura. Equipe de Pedologia e Fertilidade do solo. Divisão de Agrolgia – SUDENE. **Levantamento exploratório – reconhecimento de solos do Estado da Paraíba**. Rio de Janeiro: MA/CONTAP, 670p. (Boletim Técnico, 15).
- BRUNDRETT, M. C. 1991. Mycorrhizas in natural ecosystems. **Advances in Ecological Research 21**: 171-213.
- BRUNDRETT, M.C., ASHWATH, N. & JASPER, D.A. 1996a. Mycorrhizas in the Kakadu region of tropical Australia. I. Propagules of mycorrhizal fungi and soil properties in natural habitats. **Plant and Soil 184**: 159-171.
- BRUNDRETT, M.C., ASHWATH, N. & JASPER, D.A. 1996b. Mycorrhizas in the Kakadu region of tropical Australia. II. Propagules of mycorrhizal fungi in disturbed habitats. **Plant and Soil 184**: 173-184.
- BLASZKOWSKI. 2003. **Arbuscular mycorrhizal fungi (Glomeromycota), *Endogone* and *Complexipes* species deposited in the Department of Plant Pathology, University of Agriculture Szczecin, Poland** [on-line]. Disponível: <http://www.agro.ar.szczecin.pl/>
- CARRENHO, R. 1998. **Influência de diferentes espécies de plantas hospedeiras e fatores edáficos no desenvolvimento de fungos micorrízicos arbusculares (FMA)**. Tese de Doutorado. Rio Claro, São Paulo.
- COCHRAN, W.G. 1950. Estimation of bacterial densities by means of the most probable number. **Biometrics 6**: 105-116.
- CONOVER, W.J. 1980. **Practical nonparametric statistics**. 2 ed. New York: John Wiley & Sons.

- DAY, P.R. 1965. Particle fractionation and particle size analysis. In: BLAKE, C.A. (Ed.). **Method of soil analysis**. Madison: American Society of Agronomy. Pt 1, p. 545-567.
- DAY, L.D., SYLVIA, D.M. & COLLINS, M.E. 1987. Interactions among vesicular-arbuscular mycorrhizae, soil, and landscape positions. **Soil Science Society American Journal** **51**: 635-639.
- DE-SOUZA, F.A. & SILVA, E.M.P. 1996. Micorrizas arbusculares na revegetação de áreas degradadas. In: SIQUEIRA, J.O. (Ed.). **Avanços em fundamentos e aplicação de micorrizas**, Lavras: UFLA/DCS/DCF, p. 255-290.
- DHILLION, S. S. & ANDERSON, R. C. 1990. Vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi association of little bluestem grass on burned and unburned sand prairies in central Illinois. In: North American Conference on Mycorrhizae 8. **Proceedings of the 8th North American Conference on Mycorrhizae**. San Diego State University: Wyoming. p. 77.
- FISHER, R.A. & YATES, F. 1971. **Tabelas estatísticas**: para pesquisa em biologia, medicina e agricultura. São Paulo: EDUSP/Ed. Polígono. 150 p.
- FERRISS, R.S. 1984. Effects of microwave oven treatment on microorganisms in soil. **Phytopathology** **74**:121-126.
- GERDEMANN, J.W. & NICOLSON, T.H. 1963. Spores of mycorrhizal *Endogone* extracted from soil by wet-sieving and decanting. 1963. **Transactions of the British Mycological Society** **46**: 235-244.
- GIOVANNETTI, M. & MOSSE, B. 1980. An evaluation of techniques for measuring vesicular arbuscular mycorrhizal infection in roots. **New Phytologist** **84**: 489-490, 1980.
- HODGE, A., CAMPBELL, C.D. & FITTER, A. 2001. An arbuscular mycorrhizal fungus accelerates decomposition and acquires nitrogen directly from organic material. **Nature** **413**: 297-299.
- HOWELER, R.H., SIEVERDING, E. & SAIF, S. 1987. Practical aspects of mycorrhizal technology in some tropical crops and pastures. **Plant and Soil** **100**: 249-283.
- INVAM. 2003. **The international culture collection of arbuscular and VA mycorrhizal fungi** (INVAM) [on-line]. Disponível: <http://invam.caf.wvu.edu/>
- JASPER, D.A., ABBOTT, L.K. & ROBSON, A.D. 1991. The effect of soil disturbance on vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi in soils from different vegetation types. **New Phytologist** **118**: 471-476.
- JASPER, D.A., ABBOTT, L.K. & ROBSON, A.D. 1994. Soil disturbance in native ecosystems – the decline and recovery of infectivity of VA mycorrhizal fungi. In: READ, D.J., LEWIS, D.H., FITTER, A.H. & ALEXANDER, I.J., (Eds.). **Mycorrhizas in ecosystems**. Cambridge: University Press. p. 151-163.

- JENKINS, W. 1964. A rapid centrifugal-flotation technique for separating nematodes from soil. **Plant Disease Report** **48**: 692.
- KOSKE, R. E. & GEMMA, J. N. 1989. A modified procedure for staining roots to detect mycorrhizas. **Mycological Research** **92**: 486-488.
- LAND, S. & SCHÖNBECK, F. 1991. Influence of different soil types on abundance and seasonal dynamics of vesicular arbuscular mycorrhizal fungi in arable soils of North Germany. **Mycorrhiza** **9**: 39-44.
- MASON, P.A., MUSOKO, M.O. & LAST, F.T. 1994. Short-term changes in vesicular-arbuscular mycorrhizal spore populations in *Terminalia* plantations in Cameroon. In: READ, D.J., LEWIS, D.H., FITTER, A.H. & ALEXANDER, I.J., (Eds.). **Mycorrhizas in ecosystems**. Cambridge: University Press, p. 261-267.
- MERLICH, A. 1953. **Determination of P, Ca, Mg, K, Na and NH₄**. Raleigh: North Carolina Soil Testing Division. p 195.
- MOHAMMAD, M. J., PAN, W. L. & KENNEDY, A. C. 1998. Seasonal mycorrhizal colonization of winter wheat growth under dryland field conditions. **Mycorrhiza** **8**: 139-144.
- MORTON, J., FRANKE, M. & CLOUD, G. 1994. The nature of fungal species in Glomales. In: READ, D.J., LEWIS, D.H., FITTER, A.H. & ALEXANDER, I.J., (Eds.). **Mycorrhizas in ecosystems**. Cambridge, University Press. p. 65-73.
- MURPHY, J. & RILEY, J.P.A. 1962. A modified simple solution method for the determination of phosphate in natural waters. **Analytica Chimica Acta** **27**: 31-36.
- PICONE, C. 2000. Diversity and abundance of arbuscular-mycorrhizal fungus spores in tropical forest and pasture. **Biotropica** **32** (4a): 734-750.
- PLENCHETTE, C., PERRIN, R. & DUVERT, P. 1989. The concept of soil infectivity and a method for its determination as applied to endomycorrhizas. **Canadian Journal of Botany** **67**: 112-115.
- PORTER, W.M. 1979. The "Most Probable Number" method for enumerating infective propagules of vesicular arbuscular mycorrhizal fungi in soil. **Australian Journal of Soil Research**. **17**: 515-519.
- POWEL, C.L. 1980. Mycorrhizal infectivity of eroded soils. **Soil Biology and Biochemistry** **12**: 247-250.
- REDDY, S.J. 1983. Climatic classification: the semi-arid tropics and its environment – a review. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** **18**: 823-847.
- RHODES, L. H. & GERDEMANN, J. W. 1975. Phosphate uptake zones of mycorrhizal and non-mycorrhizal onions. **New Phytologist** **75**: 555-561.
- SCHENCK, N.C. & PÉREZ, Y. 1988. **Manual for the identification of VA mycorrhizal fungi**. 2 ed. Florida: Synergistic Publications.

- SIQUEIRA, J.O., MAHMUD, A.W. & HUBBELL, D.H. 1986. Comportamento diferenciado de fungos formadores de micorrizas vesicular-arbusculares em relação à acidez do solo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo** **10**: 11-16.
- SKUJINS, J. & ALLEN, M.F. 1986. Use of mycorrhiza for land rehabilitation. **Mircen Journal** **2**: 161-176.
- St. JOHN, T.V., COLEMAN, D.C. & REID, C.P.P. 1983. Association of vesicular arbuscular mycorrhizal hyphae with soil organic particles. **Ecology** **64**: 957-959.
- STUTZ, J.C. & MORTON, J.B. 1996. Successive pot cultures reveal high species richness of arbuscular endomycorrhizal fungi in arid ecosystems. **Canadian Journal of Botany** **74** (12): 1883-1889.
- VAN DER HEIDJEN, M.G.A., BOLLER, T., WIENKEN, A. & SANDERS, I.R. 1998. Different arbuscular mycorrhizal fungal species are potential determinants of plant community structure. **Ecology** **79** (6): 2082-2091.
- WALLEY, F.L. & GERMIDA, J.J. 1995. Estimating the viability of vesicular-arbuscular mycorrhizae fungal spores using tetrazolium salts as vital stains. **Mycologia** **87** (2): 273-279.
- WILSON, J., INGLEBY, K., MASON, P., IBRAHIM, K. & LAWSON, G.J. 1994. Long-term changes in vesicular-arbuscular mycorrhizal spore populations in *Terminalia* plantations in Côte d'Ivoire. In: READ, D.J., LEWIS, D.H., FITTER, A.H. & ALEXANDER, I.J., (Eds.). **Mycorrhizas in ecosystems**. Cambridge: University Press, p.268-275.

CAPÍTULO 3**ABSORÇÃO DE FÓSFORO POR MICORRIZAS ARBUSCULARES EM SOLOS COM
CAPACIDADE CRESCENTE DE FIXAÇÃO DE P**

3.1. INTRODUÇÃO

O micélio extra-radicular dos fungos micorrízicos arbusculares (FMA) é constituído por uma rede de hifas que pode crescer indefinidamente pelo solo, podendo se diferenciar em componentes de absorção, de crescimento ou de infecção (Morton et al., 1994). Ela absorve e transporta água e nutrientes do solo para a planta (Rhodes & Gerdemann, 1975), e pode também favorecer o transporte de nutrientes entre plantas interconectadas por hifas (Johansen & Jensen 1996; Martins & Cruz, 1996 e 1998; Yao et al., 2003).

Plantas colonizadas por FMA tem sua zona de depleção de nutrientes ampliada (Owusu-Bennoah & Wild, 1979; Li et al., 1991a) e podem ter aumentos na absorção de nutrientes inorgânicos, como fósforo (Sanders & Tinker, 1973; Rhodes & Gerdemann, 1978), nitrogênio (Ames et al., 1983), ferro (Caris et al., 1998), zinco, cobre, cádmio (Li et al., 1991b; Bürkert & Robson, 1994; Guo et al., 1996), enxofre (Cooper & Tinker, 1978), boro e cloro (Buwalda et al., 1983).

O fósforo é um nutriente com baixa mobilidade no solo, por ser um íon grande e eletronegativo que pode ser adsorvido firmemente à superfície de argilas minerais e óxidos de ferro e alumínio por ligações químicas específicas (Bolan & Barrow, 1984). As micorrizas arbusculares podem aumentar a absorção de P em solos com baixa ou alta fixação de P (Bolan et al., 1984; Sainz & Arines, 1988) tendo grande importância para o crescimento e desenvolvimento das plantas.

As plantas competem com os microorganismos por nutrientes inorgânicos. Os microorganismos do solo são competidores mais eficientes, pois além de poderem mineralizar a matéria orgânica, eles têm maior razão entre área superficial e volume e também maior taxa de crescimento (Rosswall, 1982). Os nutrientes da matéria orgânica do solo se tornam disponíveis para as plantas após o processo de mineralização pelos microorganismos do solo ou por enzimas extracelulares produzidas pelos microorganismos ou pelas plantas (McGill & Cole, 1981). Os FMA não são capazes de decompor moléculas orgânicas complexas, mas já foi observada a proliferação de hifas sobre matéria orgânica (St. John et al., 1983; Hodge et al., 2001), o que pode ser um indicativo da competição com a biota heterotrófica do solo por nutrientes.

Medidas diretas do transporte hifal de P podem ser feitas usando um sistema de compartimentos em combinação com o uso do isótopo radioativo ^{32}P , para medir a absorção hifal de P separadamente da absorção radicular, podem determinar a contribuição relativa de ambos sistemas para o desenvolvimento das plantas (Li et al., 1991a; Jakobsen, 1994). A adição de MO aos solos com alta e baixa fixação de P possibilita conhecer melhor a contribuição dos FMA em situação de competição por nutrientes com a comunidade microbiana do solo.

Esta pesquisa teve os seguintes objetivos: a) analisar o efeito das micorrizas arbusculares na absorção de fósforo pelas plantas em solos com capacidade adsorviva crescente de fósforo e, b) estimar a contribuição dos FMA na competição entre plantas e a biota heterotrófica do solo pelo fósforo, no processo de decomposição de matéria seca vegetal e celulose.

3.2. MATERIAL E MÉTODOS

Capacidade de adsorção de fósforo dos solos

Dezoito amostras de solo sob pastagem da microbacia Vaca Brava, agreste da Paraíba, em posição de encosta e teor de fósforo entre 1 e 4 mg de P Kg⁻¹ de solo foram selecionadas pelo conteúdo de argila e testados quanto à capacidade de adsorção de fósforo. O teste consistiu em adicionar 30 mL de solução CaCl₂ 0,005 M contendo cerca de 5,2 mg L⁻¹ de fósforo, na forma de fosfato de potássio monobásico (KH₂PO₄), em tubos de centrifuga contendo 1 g de cada solo, que foram fechados e mantidos sob agitação por 16 horas. A seguir foram centrifugados a 5000 rpm por 15 minutos e o sobrenadante recolhido e analisado quanto ao teor de fósforo por colorimetria (Murphy & Riley, 1962). Dentre os solos testados, foram selecionados três, com base na quantidade de fósforo adsorvida da solução de 5 mg L⁻¹ (Tabela 3.1). O solo que adsorveu cerca de 5% do P adicionado ficou denominado “baixa fixação”, aquele que adsorveu cerca de 50% do P, de “média fixação” e aquele que adsorveu em torno de 75%, de “alta fixação”.

Tabela 3.1 - Capacidade de adsorção de P (mg Kg⁻¹ de solo) dos solos selecionados

	P adicionado	P na solução (mg de P Kg ⁻¹ de solo)	P adsorvido pelo solo
Baixa Fixação	155,6	147,2	8,39
Média Fixação	155,6	75,4	80,2
Alta Fixação	155,6	38,0	117,6

Os resultados do teste de capacidade de fixação de fósforo dos solos das áreas de pastagem selecionados pelo teor de argila (Tabela 3.2) corresponderam ao esperado em relação à capacidade de fixação de fósforo (Tabela 3.1).

Tabela 3.2 - Características físicas e químicas dos solos selecionados

Fixação de P pelo solo	Textura (g Kg ⁻¹)			pH	P (mg Kg ⁻¹)
	Argila	Silte	Areia		
Baixa	163	81	756	5,79	3,84
Média	348	116	536	5,08	1,04
Alta	528	116	356	5,48	1,77

De modo geral, o conteúdo de P dos solos foi baixo ($< 4 \text{ mg Kg}^{-1}$) e o pH ácido (entre 5 e 6), com pequena variação entre os solos (Tabela 3.2).

Esporos de FMA foram extraídos de 50 g de cada solo por peneiramento úmido (Gerdemann & Nicolson, 1963) e centrifugação em solução de sacarose (Jenkins, 1964), colocados em placas de Petri, nas quais se adicionou cloreto de iodonitrotetrazólio 1% (INT) (Walley & Germida, 1995), que dá cor vermelha aos esporos viáveis, e mantidos em temperatura ambiente por 5 dias e então contados em placa canaletada em microscópio estereoscópico. Os esporos foram separados em quatro categorias: INT+ (esporos que reagem com INT adquirindo cor vermelha), INT- (esporos com conteúdo citoplasmático que não reagiram com INT e mantiveram sua coloração original), vazios (esporos sem conteúdo citoplasmático e que ainda preservavam sua coloração original) e mumificados (esporos sem conteúdo citoplasmático e que apresentavam parede escura).

Para os ensaios em casa de vegetação foram usados vasos com dois compartimentos confeccionados com tubos de PVC e malhas com $40 \mu\text{m}$ ou 1 mm de abertura. Os vasos apresentavam altura de 15 cm, um compartimento externo com diâmetro igual a 7,5 cm e um compartimento interno com 3,2 cm de diâmetro (Figuras 3.1a).

No compartimento interno foram abertas duas janelas laterais (Figura 3.1a). Nas aberturas da metade dos vasos colou-se tela com malha de $40 \mu\text{m}$, enquanto na outra metade tela com malha de 1 mm. A tela com $40 \mu\text{m}$ de abertura permite a passagem de hifas mas não permite a passagem de raízes, enquanto pela tela com 1 mm, hifas e raízes podem passar. O uso da tela de

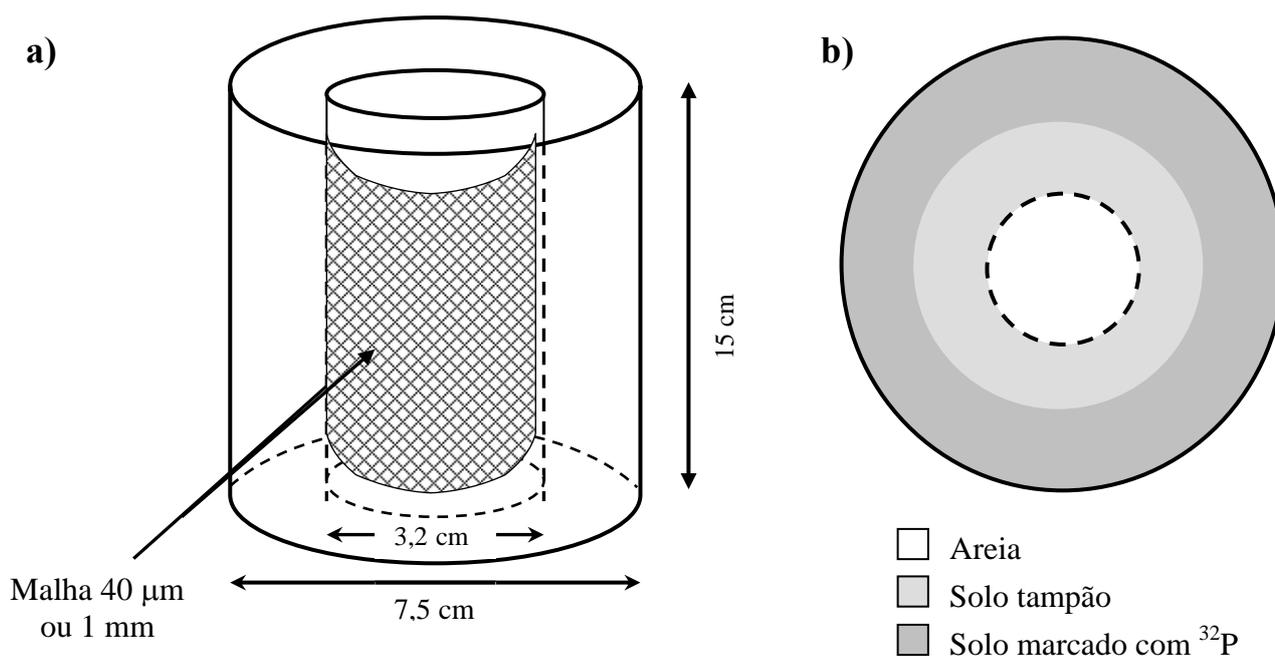


Figura 3.1. Vaso com compartimentos usado nos ensaios: a) vista lateral, b) vista superior.

40 µm permite estimar a contribuição somente das hifas na absorção de fósforo do solo e o uso da tela de 1 mm, a contribuição de hifas e raízes.

O compartimento interno (volume 85 cm³), foi preenchido com areia e o compartimento externo (435 cm³) com solo. No compartimento interno dos vasos foram colocados 145 g de areia esterilizada (Tabela 3.2), solução de Hoagland sem P (diluída ½) para preencher 50% do volume total de poros (VTP) (Vomocil, 1965). Em torno do compartimento central colocou-se uma camada de solo com 0,8 cm de espessura (Figura 3.1b), que teve 50% do VTP preenchidos com água destilada, formando uma zona tampão entre a areia e o solo marcado com ³²P (Schweiger et al., 1999). O restante do solo foi marcado com ³²P livre de carreador (0,3 MBq/vaso), recebeu água para preencher 50% do VTP e foi colocado no compartimento externo para preencher o volume restante do vaso. Os solos não foram submetidos a processos de esterilização. A massa de solo tampão ou marcado com ³²P usada variou conforme a densidade de cada solo (Tabela 3.3).

Tabela 3.3. Massa de solo e areia nos compartimentos externo e interno dos vasos

	Massa de solo (g/vaso)			Massa de areia (g/vaso)
	Tampão	Marcado (³² P)	Total	
Baixa Fixação	105	450	555	145
Média Fixação	100	410	510	145
Alta Fixação	95	360	455	145

O compartimento interno recebeu esporos de isolados de *Archaeospora leptoticha* (sinanomorfo acaulosporóide) Morton, Bever & Pflieger e *Entrophospora colombiana* Spain & Schenck (30 esporos de cada espécie em cada vaso, totalizando 60 esporos/vaso), e duas plântulas de braquiária. As plântulas de braquiária (*Brachiaria decumbens* Stapf) foram produzidas a partir de sementes esterilizadas superficialmente (NaOCl 1% por 5 minutos) numa bandeja com areia esterilizada com hipoclorito de sódio (NaOCl) e lavada com ácido clorídrico para retirada de fósforo.

Foram montados dois experimentos com delineamento ao acaso, no mesmo período. O arranjo fatorial do primeiro experimento foi de 3 solos (alta, média e baixa fixação de P) × 2 telas (40 µm e 1 mm) e 4 repetições. No segundo experimento o arranjo foi de 2 solos (alta e baixa fixação de P) × 2 telas (40 µm e 1 mm) × 2 tipos de fontes de carbono (celulose e palha de braquiária) e 3 repetições.

As fontes de C orgânico adicionadas ao solo no segundo experimento, na proporção de 0,1%, foram celulose (C₆H₁₂O₆) e matéria seca moída da parte aérea de plantas de braquiária

com relação C:N 400:1 e C:P 570:1. A matéria orgânica foi adicionada ao solo imediatamente antes da montagem dos vasos.

Nos primeiros cinco dias de experimento os compartimentos internos dos vasos receberam solução de Hoagland sem P, diluída a 50%. A partir do 6º dia os vasos com tela de 40 µm passaram a ser molhados com água destilada adicionada no compartimento interno, enquanto os com tela de 1 mm recebiam parte da água no compartimento interno e parte no externo.

Os vasos foram mantidos em casa de vegetação por cinco semanas e após esse período a parte aérea das plantas foi cortada, e colocada em sacos de papel para secar a 60° C até peso constante. Apenas as raízes das plantas mantidas em vasos com tela de 40 µm foram coletadas e postas pra secar. O material vegetal (parte aérea e raiz) foi pesado, cortado em pequenos pedaços e colocado na mufla a 500° C por 4 horas. As cinzas das amostras foram diluídas em 11 mL de ácido nítrico 1 M (Miyazawa et al., 1984). A atividade do ³²P foi medida por contagem Cerenkov num espectrômetro de cintilação líquida. As contagens foram corrigidas para o decaimento isotópico e pela eficiência de contagem de 50%. O fósforo não radioativo nas cinzas foi determinado após algumas semanas pelo método do molibdato (Murphy & Riley, 1962).

Os dados de matéria seca, P acumulado na planta e atividade específica do P foram avaliados por análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey.

3.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A densidade de esporos viáveis (INT +) foi menor no solo com alta fixação de P (4 esporos) que nos de média e baixa fixação (40 e 13 esporos/50 g de solo, respectivamente) (Tabela 3.4).

Tabela 3.4 - Densidade e viabilidade de esporos de FMA (número de esporos/50 g de solo)

Fixação de P pelo solo	Viáveis		Não Viáveis	
	INT +	INT -	Vazios	Mumificados
Baixa	13	111	121	281
Média	40	614	373	363
Alta	4	108	448	662

INT+: esporos com conteúdo citoplasmático e que reagem com cloreto de iodonitrotetrazolio (INT) adquirindo cor vermelha; **INT-:** esporos com conteúdo citoplasmático, mas não reagiram com INT; **Vazios:** esporos sem conteúdo citoplasmático e que mantiveram sua coloração original; **Mumificados:** esporos sem conteúdo citoplasmático e que apresentavam parede escura.

Micorrizas arbusculares e a capacidade de fixação de P pelo solo

A massa seca e a quantidade de P absorvido pelas plantas diminuíram com o aumento da capacidade de fixação de P dos solos (Fig. 3.2 A, B, C, D). As plantas crescendo no solo com

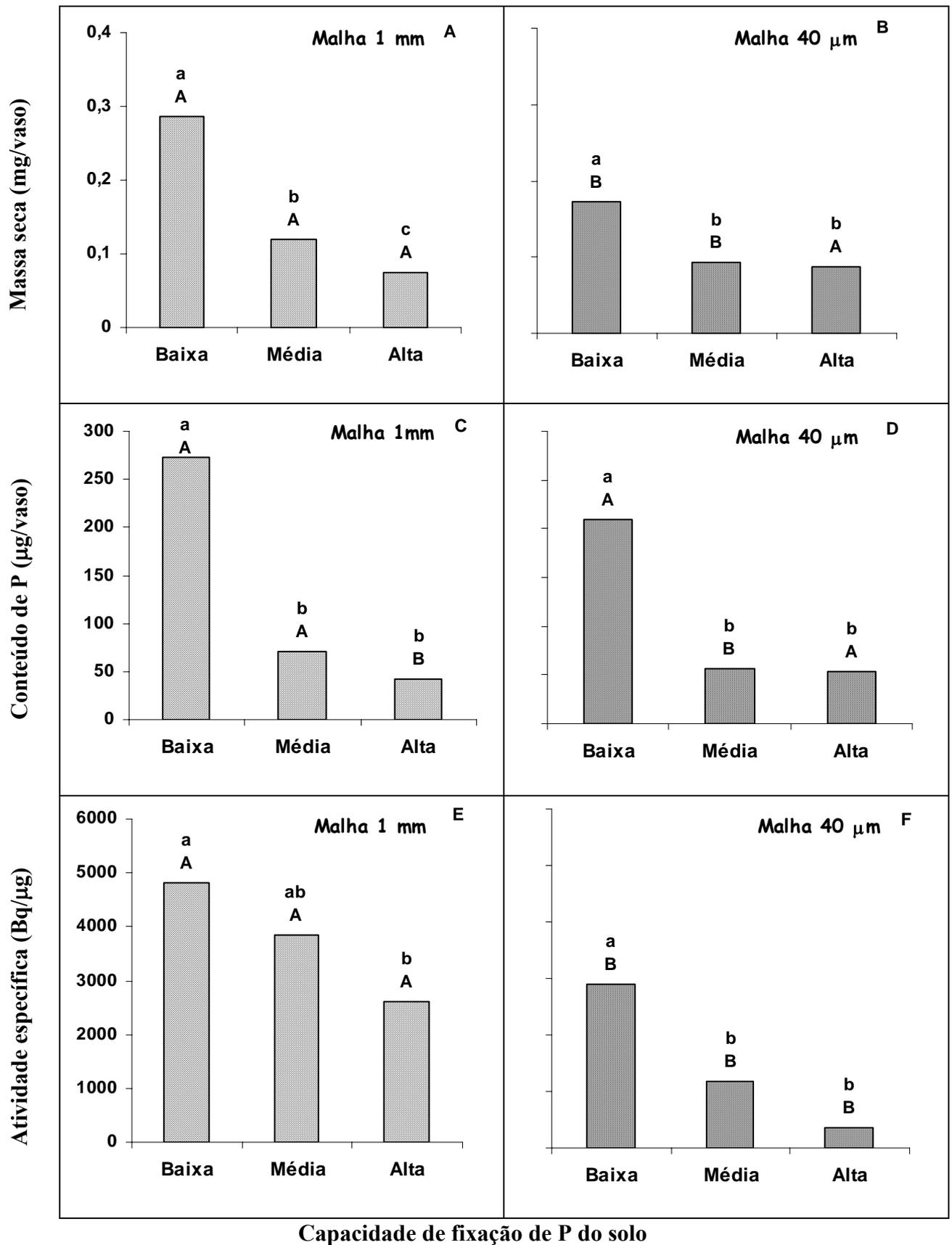
baixa fixação tiveram um desempenho bem melhor que aquelas crescendo nos outros dois solos, provavelmente por causa da maior concentração de P extraível e de ser de textura mais arenosa (Tabela 3.3). A concentração média de P no tecido na parte aérea das plantas que se desenvolveram no solo de baixa fixação foi de aproximadamente 0,1%, considerado normal para folhas de gramíneas (Malavolta et al., 1997). Nos solos de média e de alta fixação, os teores de P nas plantas diminuíram para aproximadamente 0,06%, que indica um nível de deficiência de P. A atividade específica decresceu com o aumento da capacidade de fixação de fósforo do solo, indicando diferentes níveis de diluição isotópica em cada solo e de disponibilidade de P.

Os valores de atividade específica foram maiores no solo com baixa fixação, como esperado (Fig. 3.2 E, F), uma vez que uma proporção maior do ^{32}P ficou disponível para as plantas durante o período experimental (Fardeau & Jappe, 1980; Salcedo et al., 1990). Entretanto, esperava-se que a atividade específica nos outros dois solos diminuísse na mesma proporção que o P nas plantas, o que não aconteceu (Fig. 3.2 C, D, E, F). Admitindo-se que o equilíbrio isotópico tenha sido atingido no solo com baixa fixação, a ausência de proporcionalidade observada nos outros dois solos, indica que neles o ^{32}P não estava ainda em equilíbrio com o ^{31}P disponível para as plantas. A troca isotópica é um processo contínuo e tem sido observado que o ^{32}P adicionado é trocado com a fração lentamente trocável de P. Além disso, o P no solo que pode ser trocado com ^{32}P pode não estar acessível para as plantas, que usam indistintamente fósforo marcado ou não, havendo possibilidade de que as diferenças na disponibilidade de P para as plantas não seja refletida por diferenças em atividade específica (Bolan et al., 1984).

No solo com baixa e média fixação de P, as plantas com acesso livre ao solo (malha 1mm) tiveram maior produção de massa seca ($p < 0,05$) que as plantas com acesso apenas via FMA (malha 40 μm), no entanto a diferença foi mais acentuada no solo com baixa fixação, enquanto nos solos com alta fixação os valores de massa seca das plantas foram semelhantes (Figura 3.2 A e B). Isto significa que, no solo com baixa fixação (maior disponibilidade de P, Tabela 3.3) a presença apenas de raízes micorrizadas foi mais efetiva para promover a produção de massa seca e absorção de P pelas plantas que a presença unicamente de hifas. Nos solos de média e alta fixação (menor disponibilidade de P) a presença de raízes micorrizadas não representou uma vantagem significativa em relação à presença de hifas unicamente. A tendência no P absorvido pelas plantas foi semelhante, embora a diferença entre raízes micorrizadas e hifas no solo de baixa fixação não tenha atingido significância estatística. Os resultados do solo de baixa fixação contrastaram com os obtidos em um solo com 15% de argila, possivelmente um solo com baixa fixação de P, em que as plantas com acesso ao solo somente via hifas apresentaram tanta massa seca e teor de fósforo quanto as plantas com acesso ao solo livre para hifas e raízes, mas neste caso o solo foi fertilizado com P (Li et al., 1997).

A atividade específica no solo com alta e média fixação foi significativamente maior ($p < 0,05$) nas plantas com acesso livre ao solo (malha 1 mm; Figura 3.2E) que nas plantas com acesso restrito (malha 40 μm ; Figura 3.2 F). Isto pode ser justificado admitindo-se que a exploração do solo pelo sistema radicular através da malha de 1 mm foi mais imediata que a colonização por FMA e sua subsequente contribuição na absorção de ^{32}P . Além disto, é possível pensar que a colonização das raízes crescendo no solo tenha sido mais rápida que a daquelas crescendo no tubo central de areia, embora se tenha adicionado propágulos de FMA na areia, em ambos os casos, uma vez que o solo não foi esterilizado. Com isto, as plantas com acesso livre ao solo começaram a absorver P numa diluição isotópica diferente das plantas com acesso restrito.

As raízes das plantas de braquiária que tiveram acesso ao solo somente via hifas apresentaram massa seca, conteúdo de P e atividade específica (Fig. 3.3) maiores no solo com baixa fixação de P que nos de média e alta, de modo geral semelhante à parte aérea (Figs. 3.2 B, D, F). A semelhança entre os valores de atividade específica nas raízes e na parte aérea em cada tipo de solo indicou que o ^{32}P estava uniformemente distribuído pelas plantas.



Capacidade de fixação de P do solo

Figura 3.2. Massa seca, conteúdo de P e atividade específica da parte aérea da braquiária, em solos com diferentes capacidades de fixação de fósforo. Baixa – baixa fixação de P; Média – média fixação de P; Alta – alta fixação de P. Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si ($p < 0,05$). Letras minúsculas comparam os solos dentro de cada malha, e as maiúsculas comparam malhas dentro de cada solo.

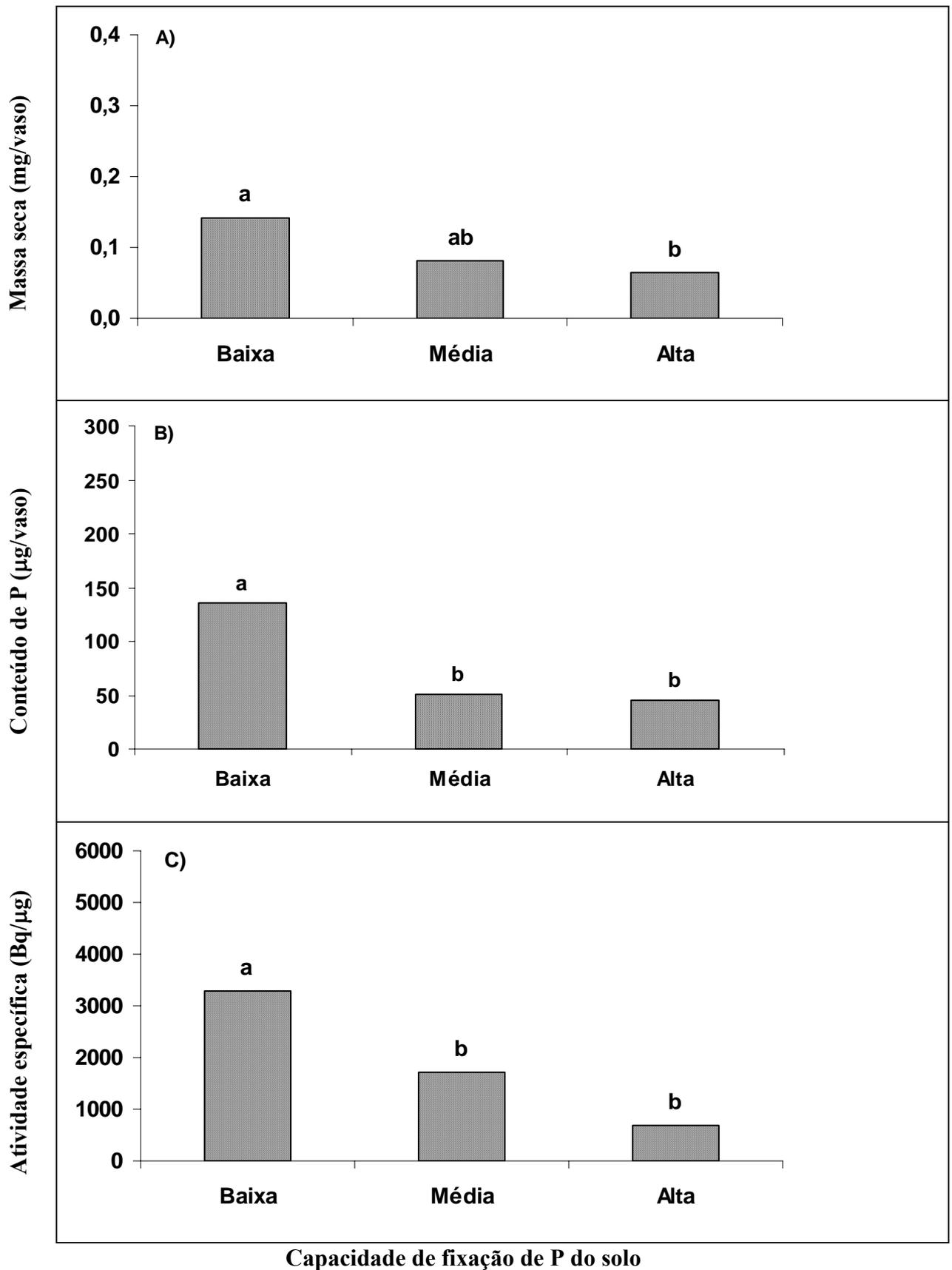


Figura 3.3. Massa seca, conteúdo de P e atividade específica da raiz de braquiária com acesso restrito ao solo (malha 40 µm), em solos com diferentes capacidades de fixação de fósforo. Baixa – baixa fixação de P; Média – média fixação de P; Alta – alta fixação de P. Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si ($p < 0,05$).

A razão da massa seca entre plantas nos vasos com malha de abertura 40 μm e 1 mm pode ser considerada como uma estimativa do potencial do micélio presente no solo sem raízes para promover o crescimento das plantas, em relação a exploração do solo pela combinação de raízes e hifas. O mesmo raciocínio pode ser aplicado à absorção de P e à atividade específica. A contribuição do sistema micélio-solo foi maior que 60% na produção de massa seca e absorção de P em todos os solos e mostrou-se crescente à medida que a capacidade de fixação de P dos solos aumentou (Tabela 3.5). No caso da atividade específica, a contribuição do sistema micélio-solo no solo com baixa fixação foi semelhante aos valores de massa seca e P na planta, mas decresceu com o aumento da fixação de P do solo (Tabela 3.5). Este decréscimo da razão provavelmente deve-se, como foi hipotetizado anteriormente, à exploração mais lenta do solo pelo sistema micélio-solo em relação ao sistema raiz-micélio-solo, o que permitiu uma maior diluição isotópica nos dois solos com maior capacidade de fixação.

Tabela 3.5. Relação da massa seca, conteúdo de fósforo e atividade específica das plantas entre vasos com malha 40 μm e com 1 mm, nos solos com diferentes graus de fixação de P

Fixação de P do solo	Massa seca	Fósforo absorvido	Atividade Específica
Baixa	0,61*	0,77	0,60
Média	0,78	0,80	0,31
Alta	1,18	1,27	0,14

*Média das plantas em vasos com malha 40 μm / média das plantas em vasos com malha 1 mm

Adição de matéria orgânica em solos com baixa e alta fixação de P – efeito sobre a micorriza arbuscular

A adição de matéria orgânica (MO) nos vasos com malha de 1 mm contendo solo com baixa fixação de P produziu diminuição na produção de massa seca (Figura 3.4A) e no P acumulado (Figura 3.5A) na parte aérea das plantas de braquiária, em relação ao tratamento sem adição de MO. As mesmas tendências foram observadas nos vasos com malha de 40 μm (3.4 A,B; 3.5 A, B). Essas tendências indicam que num sistema muito competitivo o sistema micélio-solo (o acesso das plantas ao solo é via micélio - malha 40 μm) consegue igualar o desempenho do sistema raiz-micélio-solo (acesso das plantas ao solo é via raízes e micélio - malha 1 mm), mas com o aumento na disponibilidade de P pela adição de palha, este último sistema é mais eficiente na absorção de P.

Em relação à qualidade da MO adicionada, a celulose produziu diminuição mais acentuada na produção de massa seca e no conteúdo de P em relação à adição de palha,

independentemente da malha (Figura 3.4 A, B e 3.5 A, B). A ausência de P na celulose provocou uma situação de forte competição (imobilização) por este nutriente e as diminuições observadas indicaram que o sistema FMA-planta foi menos eficiente que a biota heterotrófica na competição por P no período estudado. No caso de adição de palha o decréscimo observado em relação ao controle foi menor por conta do P aportado pela mesma (Figura 3.4A e 3.5A).

A atividade específica nas plantas foi maior ($p < 0,05$) pelo efeito da adição de palha do que pela adição de celulose, considerando-se vasos com malha de 1 mm e solo de baixa fixação de P, enquanto o controle, sem adição de MO, apresentou valor intermediário (Fig. 3.6 A). Essas diferenças indicam acesso a reservatórios com diferentes graus de diluição isotópica de P. No caso da adição de palha, a troca isotópica se processa de forma mais lenta devido à adição do P contido na palha. Com isso, a biota heterotrófica não depende tão fortemente do P do solo e este fica com os sítios de troca relativamente mais saturados com P do que no caso da adição de celulose. Neste último caso, como o P lábil do solo é a única fonte de P acessível à biota, o número de sítios de adsorção disponíveis para o ^{32}P é maior, o que acelera a diluição isotópica. A relação entre a cinética de diluição isotópica e a capacidade de sorção de P tem sido discutida por alguns autores (Fardeau et al., 1983; Tran et al., 1988; Salcedo et al., 1990).

Quando se restringiu o acesso das raízes ao solo (malha 40 μm) não houve diferença na atividade específica entre os tratamentos (Fig. 3.6 B). O efeito da malha somente foi observado no caso de adição palha, observando-se maior atividade específica nas plantas com acesso livre ao solo ($p < 0,05$) (Fig. 3.6 A, B). Como os processos de decomposição que ocorreram no solo independeram da malha, a menor atividade específica no sistema com acesso restrito (Fig. 3.6 B) indica que neste caso houve uma exploração mais tardia que a do vaso com malha de 1 mm; isto permitiu uma maior diluição isotópica do traçador no solo e a queda conseqüente na atividade específica. .

No solo de alta fixação de P, não foram observados efeitos de malha ou de adição ou tipo de MO, em relação à produção de massa seca e conteúdo de P. O efeito do aumento da fixação de P anulou os efeitos dos demais tratamentos. Embora tenha havido diferenças significativas em comparações específicas entre fontes ou entre malhas, as diferenças foram quantitativamente bastante pequenas.

A produção de matéria seca e o P acumulado foram bem menores no solo com alta fixação em comparação com o solo de baixa fixação (Fig. 3.4 e Fig. 3.5). Este efeito de solo foi mais marcado no caso do tratamento controle e menos marcado, mas significativo, no tratamento com adição de palha. Por outro lado, a adição de celulose praticamente anulou as diferenças causadas pelo efeito do solo.

Em relação a atividade específica, o efeito da mudança de solo não cancelou os efeitos de fonte de MO e malha. Como observado no solo da baixa fixação, a adição de palha não

modificou significativamente a atividade específica das plantas em relação ao controle (Fig 3.6 A, C), mas a adição de celulose diminuiu significativamente o valor dessa variável (Fig 3.6 A, C) provavelmente pelos mesmos mecanismos explicados para o solo de baixa fixação. Da mesma forma, o livre acesso ao solo permitiu valores maiores de atividade específica que o acesso restrito (Fig. 3.6 C, D) mencionados quando se comparou o efeito da malha no solo de baixa fixação.

Independentemente do tratamento, os menores valores de atividade específica no solo da alta fixação que no de baixa fixação foram devidos à maior velocidade com que se processa a diluição isotópica naquele solo (Fardeau et al., 1983; Tran et al., 1988; Salcedo et al., 1990).

As raízes das plantas de braquiária que cresceram nos vasos com tela 40 µm com solos de baixa e alta fixação (Fig. 3.7) apresentaram, de maneira geral, o mesmo comportamento que parte aérea para as variáveis massa seca, conteúdo de P e atividade específica (Figs. 3.4, 3.5 e 3.6), tal como observado no experimento sobre o efeito da fixação de P pelo solo e contribuição das micorrizas arbusculares (Figs. 3.2 e 3.3). Neste caso, também se considerou que a semelhança entre os valores de atividade específica nas raízes e na parte aérea em cada tipo de solo e fonte de MO indicou que o ^{32}P estava uniformemente distribuído nas plantas.

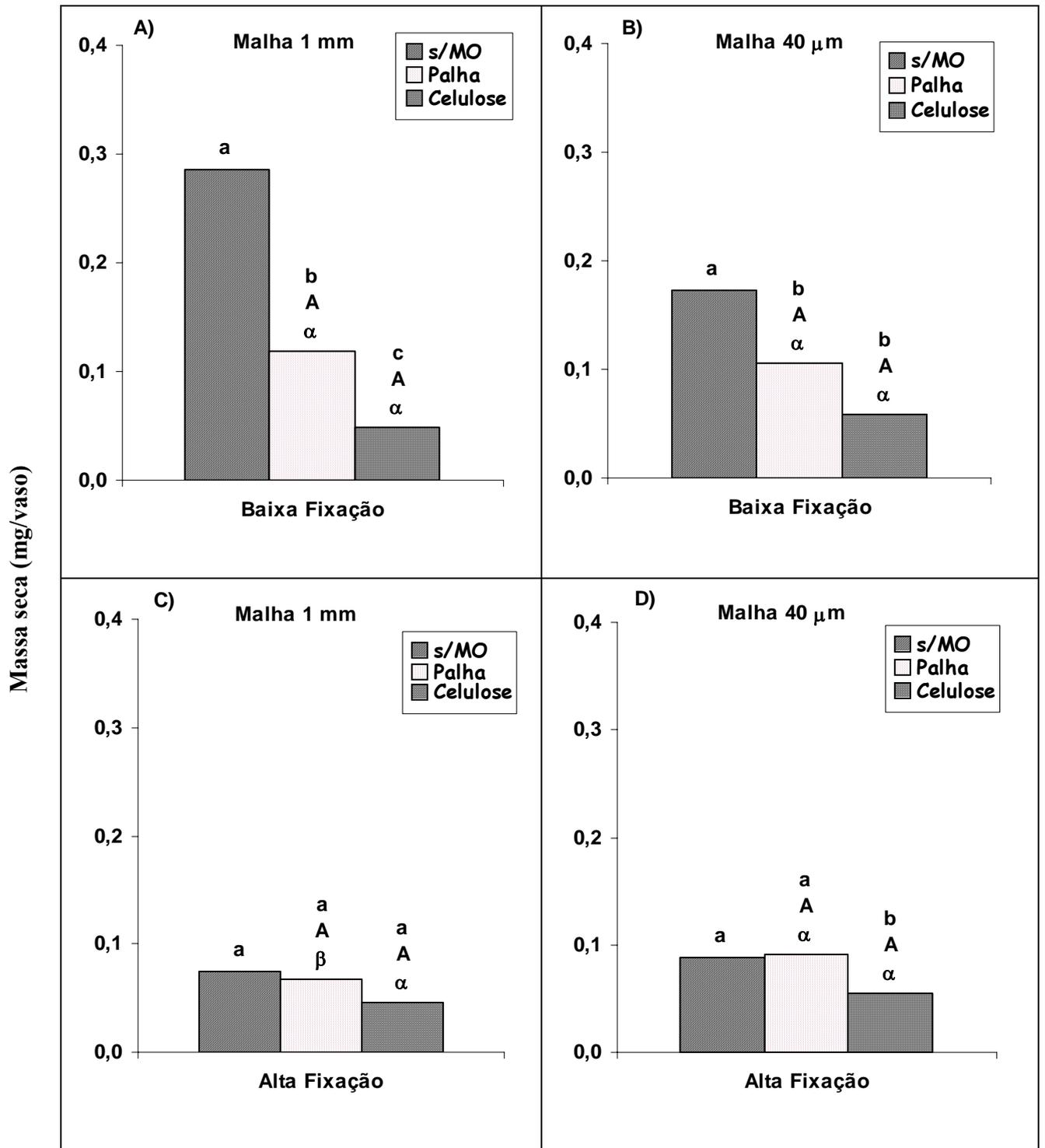


Figura 3.4. Massa seca da parte aérea de braquiária em vasos com malha de 1 mm ou 40 µm, sem (s/MO) ou com adição de matéria orgânica (palha ou celulose), em solos com alta ou baixa capacidade de fixação de P. Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si ($p < 0,05$). Letras minúsculas comparam matéria orgânica em cada malha e solo, separadamente; as maiúsculas comparam malha em cada matéria orgânica e solo, separadamente; e as letras gregas comparam palha ou celulose entre os solos, em cada malha separadamente.

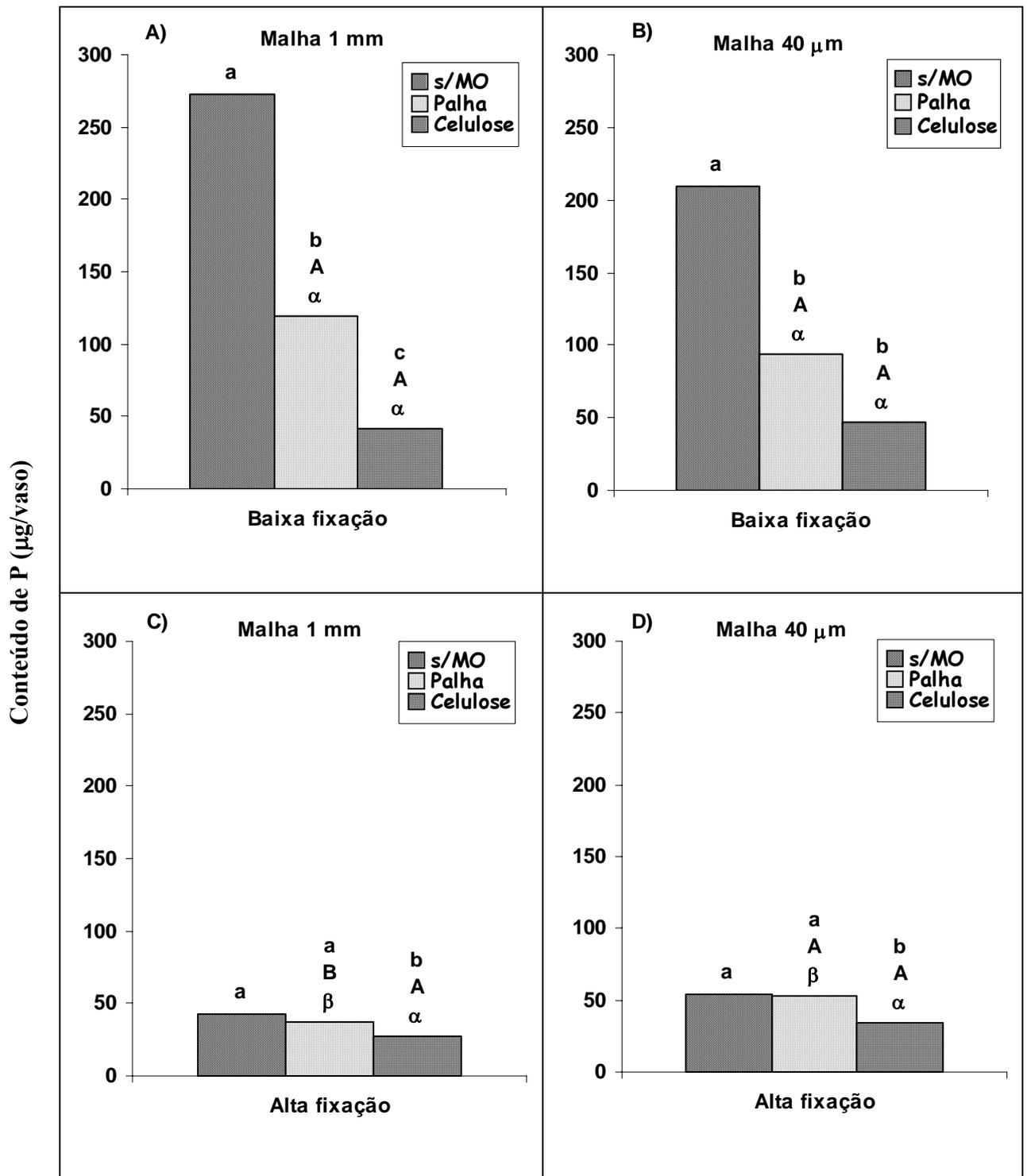


Figura 3.5. Conteúdo de P na parte aérea de braquiária em vasos com malha de 1 mm ou 40 µm, sem (s/MO) ou com adição de matéria orgânica (palha ou celulose), em solos com alta ou baixa capacidade de fixação de P. Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si ($p < 0,05$). Letras minúsculas comparam matéria orgânica em cada malha e solo, separadamente; as maiúsculas comparam malha em cada matéria orgânica e solo, separadamente; e as letras gregas comparam palha ou celulose entre os solos, em cada malha separadamente.

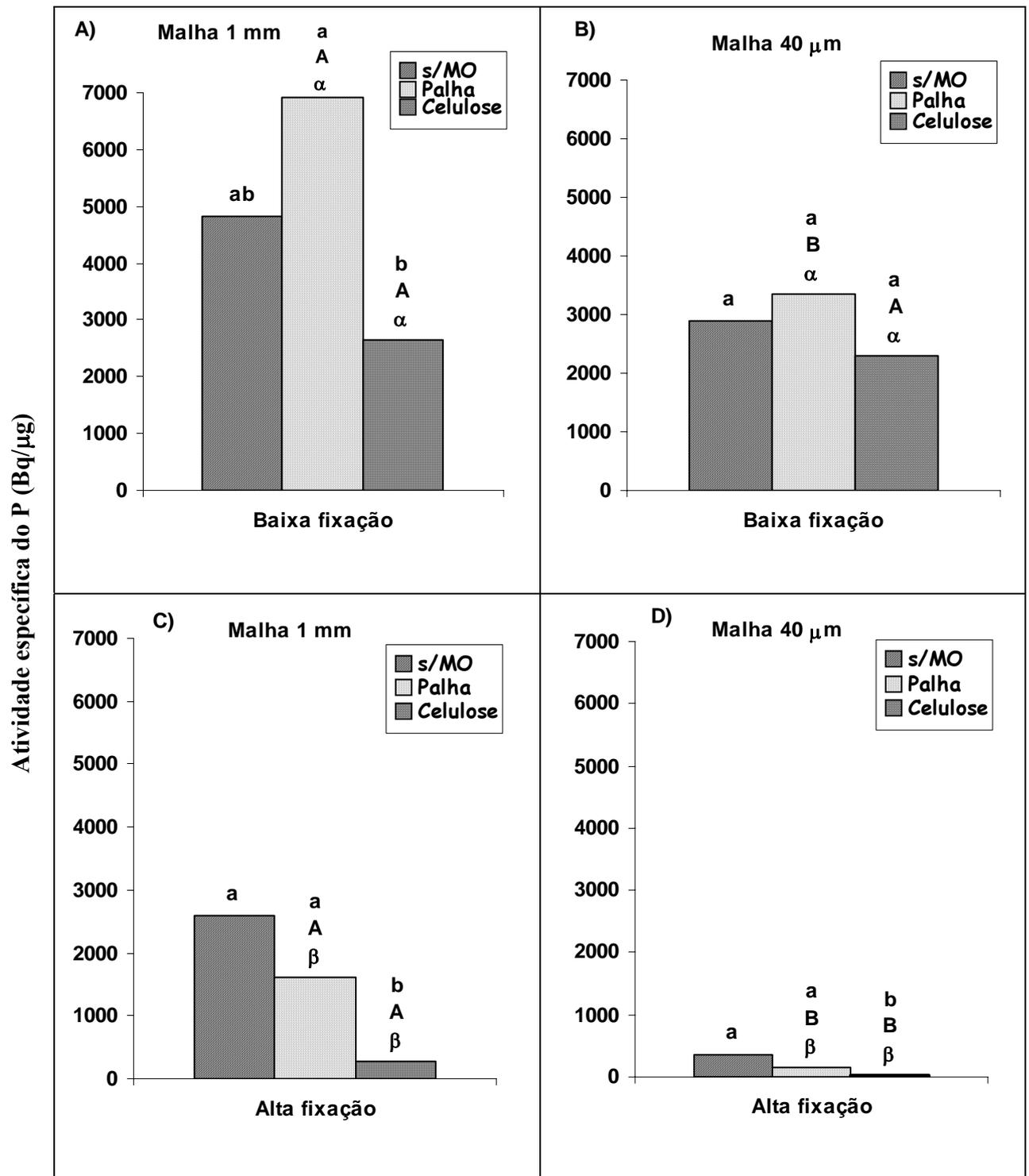


Figura 3.6. Atividade específica do P na parte aérea de braquiária em vasos com malha de 1 mm ou 40 μm, sem (s/MO) ou com adição de matéria orgânica (palha ou celulose), em solos com alta ou baixa capacidade de fixação de P. Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si ($p < 0,05$). Letras minúsculas comparam matéria orgânica em cada malha e solo, separadamente; as maiúsculas comparam malha em cada matéria orgânica e solo, separadamente; e as letras gregas comparam palha ou celulose entre os solos, em cada malha separadamente.

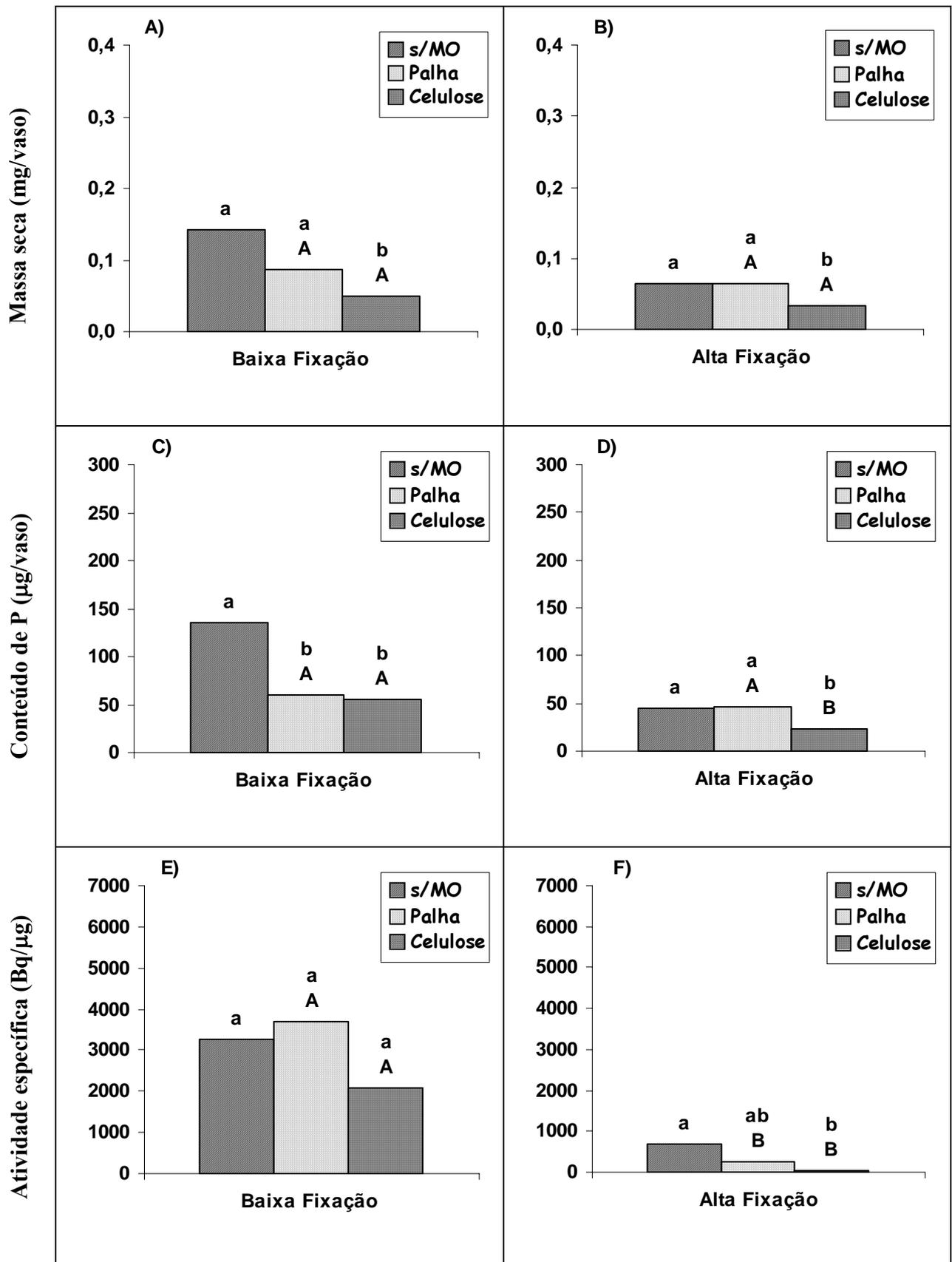


Figura 3.7. Massa seca, conteúdo de ^{31}P e atividade específica do fósforo nas raízes de braquiária decorrente da absorção por hifas de FMA (malha 40 μm). Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si ($p < 0,05$). Letras minúsculas comparam matéria orgânica em cada solo, separadamente; as maiúsculas comparam matéria orgânica e entre os solos.

3.4. CONCLUSÕES

A crescente capacidade de fixação de P do solo inibiu o crescimento das plantas e a absorção de P. Em compensação, a contribuição do micélio extra-radicular para a produção de massa seca e absorção de P foi aumentando na medida em que a capacidade de fixação de P dos solos aumentou.

Na situação de competição por P entre plantas micorrizadas e biota heterotrófica estabelecida com a adição de fontes de C, o sistema micélio-solo foi menos eficiente em promover o crescimento das plantas e absorver P que o sistema raiz-micélio-solo.

3.5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AMES, R.N., REID, C.P.P., PORTER, L.K. & CAMBARDELA, C. 1983. Hyphal uptake and transport of nitrogen from two ¹⁵N-labelled sources by *Glomus mosseae*, a vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus. **New Phytologist** **95**: 381-396.
- BOLAN, N.S. & BARROW, N.J. 1984. Modeling the effect of adsorption of phosphate and other anions on the surface charge of variable charge oxides. **Journal of Soil Science** **36**: 187-196.
- BOLAN, N.S., ROBSON, A.D., BARROW, N.J. & AYLMOORE, L.A.G. 1984. Specific activity of phosphorus in mycorrhizal and non-mycorrhizal plants in relation to the availability of phosphorus to plants. **Soil Biology and Biochemistry** **16** (4): 299-304.
- BÜRKERT, B. & ROBSON, A. 1994. ⁶⁵Zn Uptake in subterranean clover (*Trifolium subterraneum* L.) by three vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi in a root-free sandy soil. **Soil Biology and Biochemistry** **26** (9): 1117-1124.
- BUWALDA, J.G., STRIBLEY, D.P. & TINKER, P.B. 1983. Increased uptake of bromide and chloride by plants infected with vesicular-arbuscular mycorrhizas. **New Phytologist** **93**: 217-225.
- CARIS, C., HÖRDT, W., HAWKINS, H.-J., RÖMHELD, V. & GEORGE, E. 1998. Studies of iron transport by arbuscular mycorrhizal hyphae from soil to peanut and sorghum plants. **Mycorrhiza** **8**: 35-39.
- COOPER, K.M. & TINKER, T.B. 1978. Translocation and transfer of nutrients in vesicular-arbuscular mycorrhizas. II. Uptake and translocation of phosphorus, zinc and sulphur. **New Phytologist** **81**: 43-52.
- FARDEAU J.C. & JAPPE, J. 1980. The choice of phosphorus fertilization for tropical soils - use of 32 phosphorus. **Agronomie Tropicale** **35** (3): 225-231.

- FARDEAU, J.C., DIATTA, S., NDIAYE, J.P. & JAPPE, J. 1983. Selection of the most suitable phosphorus fertilization in some soils of Senegal: Use of P-32. **Agronomie tropicale** **38** (2): 103-109.
- GERDEMANN, J.W. & NICOLSON, T.H. 1963. Spores of mycorrhizal *Endogone* extracted from soil by wet-sieving and decanting. **Transactions of the British Mycological Society** **46**: 235-244.
- GUO, Y., GEORGE, E. & MARSCHNER, H. 1996. Contribution of an arbuscular mycorrhizal fungus to the uptake of cadmium and nickel in bean and maize plants. **Plant and Soil** **184**: 195-205.
- HODGE, A., CAMPBELL, C.D., & FITTER, A. 2001. An arbuscular mycorrhizal fungus accelerates decomposition and acquires nitrogen directly from organic material. **Nature** **413** (20): 297-299.
- JAKOBSEN, I. 1994. Research approaches to study the functioning of vesicular-arbuscular mycorrhizas in the field. **Plant and Soil** **149**: 141-147.
- JENKINS, W. 1964. A rapid centrifugal-flotation technique for separating nematodes from soil. **Plant Disease Report** **48**: 692.
- JOHANSEN, A. & JENSEN, E.S. 1996. Transfer of N and P from intact or decomposing roots of pea to barley interconnected by an arbuscular mycorrhizal fungus. **Soil Biology and Biochemistry** **28** (1): 73-81.
- LI, X.L., MARSCHNER, H. & GEORGE, E. 1991a. Extension of the phosphorus depletion zone in VA-mycorrhizal white clover in a calcareous soil. **Plant and Soil** **136**: 41-48.
- LI, X.L., MARSCHNER, H. & GEORGE, E. 1991b. Acquisition of phosphorus and copper by VA-mycorrhizal hyphae and root-to-shoot transport in white clover. **Plant and Soil** **136**: 49-57.
- LI, X.L., GEORGE, E., MARSCHNER, H., & ZHANG, J.L. 1997. Phosphorus acquisition from compacted soil by hyphae of a mycorrhizal fungus associated with red clover (*Trifolium pratense*). **Canadian Journal of Botany** **75** (5): 723-729.
- MALAVOLTA, E., VITTI, G.C., & OLIVEIRA, S.A. **Avaliação do estado nutricional das plantas: Princípios e aplicações**. 2.ed. Piracicaba: POTAFOS, 1997. 319 p.
- MARTINS, M.A. & CRUZ, D.J. 1996. The role of the external micelial network of arbuscular mycorrhizal fungi. II. A study of phosphorus transfer between plants interconnected by a common mycelium. **Revista de Microbiologia** **27**: 30-35.
- MARTINS, M.A. & CRUZ, D.J. 1998. The role of the external micelial network of arbuscular mycorrhizal fungi. III. A study of nitrogen transfer between plants interconnected by a common mycelium. **Revista de Microbiologia** **29**: 289-294.

- McGILL, W.B. & COLE, C.V. 1981. Comparative aspects of cycling of organic C, N, S, and P through soil organic matter. **Geoderma** **26**: 267-286.
- MIYAZAWA, M., PAVAN, M.A. & BLOCH, M.F.M. 1984. Avaliação de métodos com e sem digestão para extração de elementos em tecidos de plantas. **Ciência e Cultura** **36** (11): 1953-1958.
- MORTON, J., FRANKE, M. & CLOUD, G. 1994. The nature of fungal species in Glomales. In: READ, D.J., LEWIS, D.H., FITTER, A.H. & ALEXANDER, I.J. (Eds.) **Mycorrhizas in Ecosystems**. Cambridge: University Press, p. 65-73.
- MURPHY, J. & RILEY, J.P. 1962. A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters. **Analytica Chimica Acta** **27**: 31-36.
- OWUSU-BENNOAH, E. & WILD, A. 1979. Autoradiography of the depletion zone of phosphate around onion roots in the presence of vesicular arbuscular mycorrhiza. **New Phytologist** **82**: 133-140.
- RHODES, L.H & GERDEMANN, J.W. 1975. Phosphate uptake zones of mycorrhizal and non-mycorrhizal onions. **New Phytologist** **75**: 555-561.
- RHODES, L.H & GERDEMANN, J.W. 1978. Translocation of calcium and phosphate by external hyphae of vesicular-arbuscular mycorrhizae. **Soil Science** **126**: 125-126.
- ROSSWALL, T. 1982. Microbiological regulation of the biogeochemical nitrogen cycle. **Plant and Soil** **67**: 15-34.
- SAINZ, M.J. & ARINES, J. 1988. P absorbed from soil by mycorrhizal red clover plants as affected by soluble P fertilization. **Soil Biology and Biochemistry** **20** (1): 61-67.
- SALCEDO, I. H., BERTINO, F., & SAMPAIO, E. V. S. B. 1990. Reactivity of phosphorus in northeastern brazilian soils assessed by isotopic dilution. **Soil Science Society of American Journal** **55**:140-145.
- SANDERS, F.E. & TINKER, B.P. 1973. Phosphate flow into mycorrhizal roots. **Pesticide Science** **4**: 385-395.
- SCHWEIGER, P.F., THINGSTRUP, I. & JAKOBSEN, I. 1999. Comparison of two test systems for measuring plant phosphorus uptake via arbuscular mycorrhizal fungi. **Mycorrhiza** **8**: 207-213.
- St. JOHN, T.V., COLEMAN, D.C. & REID, C.P.P. 1983. Association of vesicular-arbuscular mycorrhizal hyphae with soil organic particles. **Ecology** **64** (4): 957-959.
- TRAN, S.T., FARDEAU, J.C. & GIROUX, M. 1988. Effects of soil properties on plant-available phosphorus determined by the isotopic dilution phosphorus-32 method. **Soil Science Society of American Journal** **52**: 1383-1390.

- VOMOCIL, J.A. 1965. Porosity. In: BLACK, C.A. (Ed.). **Methods of soil analysis, physical and mineralogical properties, including statistics of measurements and sampling.** Madison: American Society of Agronomy, p.229-314.
- WALLEY, F.L. & GERMIDA, J.J. 1995. Estimating the viability of vesicular-arbuscular mycorrhizae fungal spores using tetrazolium salts as vital stains. **Mycologia** **87** (2): 273-279.
- YAO, Q., LI, X.L., AI, W. & CHRISTIE, P. 2003. Bi-directional transfer of phosphorus between red clover and perennial ryegrass via arbuscular mycorrhizal hyphal links. **European Journal of Soil Biology** **39**: 47-54.