

EMILE SUZE DA PAZ SANTOS

**DIVERSIDADE DE FUNGOS MICORRÍZICOS
ARBUSCULARES E DE RIZÓBIOS EM UM FRAGMENTO
DE FLORESTA ATLÂNTICA EM REGENERAÇÃO EM
PERNAMBUCO**

**RECIFE
PERNAMBUCO - BRASIL
FEVEREIRO - 2006**

EMILE SUZE DA PAZ SANTOS

**DIVERSIDADE DE FUNGOS MICORRÍZICOS
ARBUSCULARES E DE RIZÓBIOS EM UM FRAGMENTO
DE FLORESTA ATLÂNTICA EM REGENERAÇÃO EM
PERNAMBUCO**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-graduação em Ciências Florestais do Departamento de Ciência Florestal da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Ciências Florestais. Área de concentração: Silvicultura.

ORIENTADORA:

Prof. Dra. Lúcia de Fátima de Carvalho
Chaves

CO-ORIENTADORAS:

Prof. Dra. Carolina Etienne de Rosália e Silva
Santos

Prof. Dra. Uided Maaze Tiburcio Cavalcante

**RECIFE-PE
2006**

EMILE SUZE DA PAZ SANTOS

**DIVERSIDADE DE FUNGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES E DE RIZÓBIOS
EM UM FRAGMENTO DE FLORESTA ATLÂNTICA EM REGENERAÇÃO EM
PERNAMBUCO**

APROVADA em 23/02/2006

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Newton Pereira Stamford - UFRPE

Prof. Dra. Carolina Etienne de Rosália e Silva Santos - UFRPE

Prof. Dra. Adriana Mayumi Yano-Melo - UFPE

Orientadora:

Prof. Dra. Lúcia de Fátima de Carvalho Chaves – UFRPE

RECIFE-PE
Fevereiro/2006

Ao Deus Soberano, autor da minha vida,

Agradeço

À minha eternamente amada e inesquecível mãe

Edna da Paz Santos (in memoriam),

Ao meu amado amigo e pai Antônio Evaristo

Souza dos Santos, pela dedicação e amor

incondicional,

Ofereço

Aos meus queridos irmãos Anderson Márcio da Paz

Santos, Antônio Mateus da Paz Santos, Ingrid Talita

Veiga Santos dos Santos, pelo carinho e apoio,

Ao pequeno Antony Lucas Veiga Santos dos Santos e

ao meu sobrinho Pedro Mascarenhas da Paz Santos,

por fazerem parte do colorido da minha vida,

Dedico

*“A beleza e superioridade da natureza
está em sempre se renovar, mesmo
depois de sofrer agressões humanas,
mostrando-se generosa, bondosa e
compreensiva frente a mediocridade,
irracionalidade e egoísmo do homem”*

Emile Paz

*“Fui mais longe que pensava, rompi
limites que não conhecia, continuei
quando achava que não conseguiria mais
e finalmente venci, tornando esse
momento único e especial”*

Emile Paz

*“Mas os que esperam no Senhor
renovarão as suas forças, subirão
com asas, como águias, correrão e
não se cansarão, caminharão e
não se fatigarão”
Isaiás 40:31*

AGRADECIMENTOS

Neste momento, faz-se necessário e imprescindível agradecer àqueles que, com a sua ajuda fizeram esse trabalho acontecer, sendo para mim muito importante deixar registrado aqui meu eterno agradecimento e privilégio de ter conhecido a todos.

À Deus acima de tudo por ter me dado o dom da vida;

À minha mãe Edna por ter deixado como herança a alegria de viver a certeza da vitória e sobretudo o amor à Deus e ao próximo;

Ao meu pai Evaristo, pelo amor, exemplo de força, garra e determinação e por ser um verdadeiro amigo;

Aos meus irmãos e grandes amigos Anderson e Mateus, pela amizade, apoio, carinho e união constantes;

A todos os meus familiares pelo apoio, incentivo e valiosas orações, e em especial a minha prima e irmã Leila, pela amizade verdadeira e incondicional apoio;

À Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE) pela oportunidade de realização desse curso;

À Coordenação da Pós-Graduação em Ciências Florestais pela vaga concedida;

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudos;

À professora Dra. Lúcia de Fátima de Carvalho Chaves, do Curso de Pós-graduação em Ciências Florestais da UFRPE pela orientação e ensinamentos;

À Dra. Carolina Etienne de Rosália e Silva Santos, pesquisadora do Curso de Pós-Graduação em Ciências do Solo da UFRPE, pela co-orientação, ensinamentos, empréstimos de materiais e principalmente pelo companheirismo, incentivo, amizade e dedicação a esse trabalho abraçando-o como se fosse seu, por sempre me encorajar, acreditar em minha capacidade e me contagiar com sua permanente alegria me fazendo rir nos momentos mais difíceis, se tornando uma eterna amiga;

À Dra. Uided Maaze Tibúrcio Cavalcante, pesquisadora do Departamento de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), pela co-orientação, ensinamentos e imensurável apoio em momento que mais precisei, tanto profissionalmente como pessoalmente, sendo conselheira e amiga, passando-me segurança e otimismo com o seu constante bom humor, por ser uma pessoa simples, competente e iluminada, a qual eu jamais esquecerei;

Ao professor Dr. Newton Pereira Stamford, do Curso de Pós-Graduação em Ciências do Solo da UFRPE e responsável pelo Laboratório de Microbiologia do Solo da UFRPE pelos ensinamentos, incentivo, contribuição a esse trabalho, participando da banca examinadora e revisão do abstract e pela gentileza e confiança na utilização da sua sala, e do laboratório para a realização das análises;

À professora Dra. Adriana Mayumi Yano-Melo, do Curso de Pós-Graduação em Biologia de Fungos (UFPE), pelas preciosas contribuições, participando da banca examinadora e pela gentileza a mim dispensada;

À professora Dra. Leonor Costa Maia, do Curso de Pós-Graduação em Biologia de Fungos (UFPE), responsável pelo Laboratório de Micorrizas da UFPE pela presteza, confiança e gentileza em conceder a utilização do laboratório e equipamentos para a realização das análises;

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Ciências Florestais pelos ensinamentos e amizade;

À professora Dra. Ana Cristina Fermino Soares, pesquisadora do Centro de Ciências Agrária da Universidade Federal do Recôncavo Baiano (UFRB), por ser minha incentivadora desde a graduação, me apoiando nessa minha nova fase, e por sua amizade;

Aos funcionários Maria do Socorro (Socorro) secretária do Curso de Pós-Graduação em Ciências do Solo da UFRPE, pela presteza e amabilidade a mim dispensada, e a Marilene (Irmã) técnica do Laboratório de Micorriza da UFPE, pela presteza, apoio e principalmente pela amizade e carinho, alegrando-me muito com sua presença;

A todos do Laboratório de Microbiologia do Solo (UFRPE), Sílvio, Leonardo, Ângela, Rosilene, Rosembergue, Luciana, Monaliza, Ana Dolores, Ana Cristhina, Maria de Fátima e Iraci, pelo harmonioso convívio, amizade, apoio e momento de descontração, e principalmente a Sílvio pelo incentivo e amizade, Ângela pelas palavras de apoio e Rosilene pelo incentivo e agradáveis conversas;

À família do Laboratório de Micorrizas (UFPE), Catarina, Priscila, Renata, Cláudia, Katiúcia, Maryluce, Marilene, Cynthia, Daniela, Aline João, Fábio, Bruno, Moacir, Vilma, Elaine, Thiago, Adália e Felipe, pelo incondicional apoio, força, incentivo, amizade, agradável convívio e vários momentos de gargalhadas, e em especial a Cláudia, Priscila e Renata pelas palavras de incentivo, força e amizade; Bruno Tomio, pela valiosa contribuição para esse trabalho, com revisões e identificação dos FMA, pelo incondicional apoio, presteza e amizade; Fábio Barbosa, pelas preciosas palavras de força, incentivo, apoio, amizade e Moacir, pela valiosa amizade, companheirismo e apoio;

À minha estagiária, e principalmente amiga e irmãzinha, “escrava” Vilma, por dividir comigo as dificuldades e a vitória desse trabalho, pelo incondicional apoio e amizade e por ter sido um anjinho que Deus enviou pra mim;

Aos meus colegas do Mestrado e amigos Roberto, Emmanuel, Janaína, Tatiana, Sandra, Leonardo, Paulo Roberto, Gil, Everson e Well, pela amizade, harmonioso convívio, por compartilharmos momentos complicados e momentos felizes, sendo sempre uma equipe e em especial Roberto, pelo apoio, amizade e constante presteza e gentileza, Kleybiana pela contribuição com as identificações das espécies florestais, pelo apoio e importante amizade; e Tarcísio pela amizade e apoio;

Ao meu amigo e “irmão” Paulo Roberto, por ser um grande companheiro nos trabalhos de campo, incentivador, por compartilhar momentos difíceis e divertidos, contribuindo muito para esse trabalho e principalmente pela preciosíssima amizade a qual não esquecerei;

Ao meu amigo Gil, pelo companheirismo, imensa ajuda nos trabalhos de campo, dedicação e sensibilidade às dificuldades que passei, pelos momentos alegres e divertidos tornando o trabalho prazeroso e principalmente pela admirável amizade que é preciosa pra mim;

A todos os meus amigos da Escola de Agronomia da Universidade Federal da Bahia (UFBA), hoje, Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Recôncavo Baiano (UFRB), e meus amigos de Salvador, pela amizade, apoio e preciosas orações durante este curso;

Ao meu grande amigo, companheiro e irmão Rogesson Carvalho, pela constante presença, mesmo distante, pela incondicional amizade, carinho, força e apoio;

A minha primeira república Euzi, Arlete, Onildo e Ricardo por dividir momentos difíceis e agradáveis, e pela amizade e em especial a Euzi e Arlete pela amizade, gentileza e ajuda em que me receberam na minha chegada em Recife;

À Arlete Côrtes, pela singela e incondicional amizade, carinho, conselhos e agradáveis conversas;

À minha segunda república Mauricélia, Andréia e Ana, por terem me acolhido quando eu precisei, pelo apoio, amizade, maravilhosa convivência e momentos de conversa e muitas gargalhadas;

A todos que direta e indiretamente contribuíram e torceram para que esse trabalho acontecesse o meu sincero MUITO OBRIGADA, com muito carinho!!

ÍNDICE

LISTA DE FIGURAS.....	xi
LISTA DE TABELAS.....	xii
RESUMO.....	xiii
ABSTRACT.....	xv
1. INTRODUÇÃO.....	11
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	14
2.1. Sucessão Natural.....	14
2.2. Diversidade microbiana do solo e sua função.....	15
2.3. Fungos Micorrízicos Arbusculares	17
2.4 Associação de Leguminosas arbóreas com Rizóbios.....	21
3. MATERIAL E MÉTODO.....	26
3.1.Coleta do solo para análises químicas e físicas, avaliação do NMP e rizóbios.....	27
3.1.1. Caracterização química e física do solo.....	27
3.1.2. Avaliação do Número Mais Provável de propágulos infectivos de FMA.....	30
3.1.3. Isolamento e caracterização dos rizóbios.....	30
3.2. Coleta do solo para extração de esporos de FMA.....	33
3.2.1. Extração, preparo das lâminas e identificação dos esporos de FMA.....	33
3.3. Avaliação da colonização micorrízica das plântulas.....	30
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	35
4.1.Número de esporos de FMA.....	35
4.3. Espécies de FMA.....	37
4.4. Colonização micorrízica.....	43
4.5 Número Mais Provável (NMP) de propágulos infectivos de FMA.....	46
4.6. Diversidade fenotípica de rizóbios.....	48
5. CONCLUSÕES	56
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	57

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Mapa do estado de Pernambuco – Brasil	26
Figura 2	Foto aérea do Jardim Botânico do Recife - PE	27

Figura 3	Mapa de localização do Jardim Botânico do Recife-PE	27
Figura 4	Número de esporos de FMA nas parcelas distribuídas no Jardim Botânico do Recife-PE	35
Figura 5	Frequência das espécies de FMA encontradas no Jardim Botânico do Recife, PE.	40
Figura 6	Porcentagem de colonização micorrízica na regeneração das espécies florestais coletadas no Jardim Botânico do Recife, PE	43
Figura 7	Dendrograma dos grupos de especificidade hospedeira elaborado pelo algoritmo <i>UPGMA</i> e matriz de similaridade <i>Jaccard</i> mostrando a similaridade entre 49 isolados de rizóbios obtidos de nódulos de raízes de plantas de caupi (<i>Vigna unguiculata</i>) cultivadas com solo de um fragmento de Mata Atlântica em regeneração no Jardim Botânico do Recife, PE	48
Figura 8	Número de isolados com reação de pH ácida e neutra em relação ao tempo de crescimento.	50
Figura 9	Número de isolados com colônias amarelas e brancas, em relação ao tempo de crescimento.	50
Figura 10	Índice de riqueza de Margalef dos grupos fenotípicos encontrados no solo do Jardim Botânico do Recife-PE	52
Figura 11	Índice de diversidade (H') dos grupos de rizóbios isolados nas amostras de solo analisadas, oriundas do Jardim Botânico do Recife – PE	54
Figura 12	Abundância de cada grupo de isolados de rizóbio em cada sub-área do Jardim Botânico do Recife-PE	54

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Atributos físicos do solo oriundo do Jardim Botânico do Recife, PE	28
Tabela 2. Atributos Químicos do solo oriundo do Jardim Botânico do Recife, PE	29
Tabela 3. Codificação das Características fenotípicas dos isolados de rizóbios	32
Tabela 4. Número de esporos de FMA presentes nas no Jardim Botânico do Recife-PE	36
Tabela 5 – Nº total de esporos/100g de solo e espécies de FMA encontradas em fragmento de Floresta Atlântica, Jardim Botânico do Recife –PE	38
Tabela 6. Variação do número total de esporos em 100g de solo de rizosfera, com respectivas espécies de FMA e porcentagem de colonização micorrízica detectadas nas espécies florestais de maior frequência na regeneração natural, em relação à classe sucessional, no Jardim Botânico do Recife, PE	42
Tabela 7. Correlação entre o número total de esporos de FMA e a colonização micorrízica nas espécies florestais da regeneração natural do Jardim Botânico do Recife, PE	46
Tabela 8. Relação de número de esporos e número mais provável de propágulos infectivos encontrados nas amostras de solo de oito sub-áreas do Jardim Botânico do Recife, PE	47
Tabela 9. Caracterização fenotípica dos oito grupos de isolados de rizóbios provenientes do Jardim Botânico do Recife – PE	49

SANTOS, EMILE SUZE DA PAZ, Diversidade de fungos micorrízicos arbusculares e de rizóbios em um fragmento de Floresta Atlântica em regeneração em Pernambuco. 2006. Orientadora: Dra. Lúcia de Fátima de Carvalho Chaves. Co-orientadoras: Dra. Carolina Etienne de Rosália e Silva Santos e Dra. Uided Maaze Tiburcio Cavalcante.

RESUMO

A Floresta Atlântica possui hoje grande parte da sua extensão totalmente devastada. A degradação do solo afeta seriamente a biomassa microbiana que interage intensivamente com as partículas do solo e é a principal responsável pela decomposição dos resíduos orgânicos, pela ciclagem de nutrientes, pelo fluxo de energia no interior do sistema e por inúmeros processos biológicos e bioquímicos essenciais para garantir a sustentabilidade do ecossistema. Os rizóbios e as micorrizas desempenham papel fundamental no estabelecimento de plantas e reabilitação de ecossistemas degradados. Este trabalho objetivou avaliar a ocorrência e a diversidade de fungos micorrízicos arbusculares, e de rizóbios. E observar suas inter-relações com espécies vegetais arbóreas participantes da regeneração natural em uma área de Floresta Atlântica antropizada. O estudo foi realizado em uma área do Jardim Botânico do Recife localizado na região metropolitana do Recife – PE. Foram coletadas as amostras de solo rizosférico de 33 parcelas com dimensões de 5 x 5m, onde os esporos de FMA foram extraídos, quantificados e identificados. Para determinar a infectividade dos FMA's nativos, foram utilizadas quatro diluições do solo (0 , 10^{-1} , 10^{-2} e 10^{-3}) e após 30 dias foi avaliada a presença de estruturas micorrízicas. Foram coletadas raízes de 6 espécies de plântulas para a avaliação da colonização micorrízica. Para avaliação da presença de rizóbios, foram cultivadas plantas de caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp) nos mesmos solos com a finalidade de obter nódulos para o isolamento, sendo feita uma caracterização fenotípica dos isolados obtidos em meio de cultura YMA levando-se em consideração os seguintes parâmetros: tempo de crescimento das colônias individuais, tamanho (mm) e aparência das colônias (cor, elevação, transparência), alterações no pH do meio de cultura e presença de

muco. Como resultado da extração de esporos de FMA, constatou-se 15 espécies. Na determinação da infectividade foram obtidos valores que variaram de 7,0 a maior que 160 propágulos infectivos de FMA. Para a colonização micorrízica, obteve-se, como resultado uma variação de 14% a 36%. Como resultado da caracterização de rizóbios, obteve-se 8 grupos fenotípicos representativos de rizóbio nativo, isolado de nódulos radiculares de caupi da área em estudo. Concluiu-se que a diversidade de FMA, presença de propágulos infectivos de FMA e diversidade de rizóbios, apresentando rápido crescimento, revelam resiliência na área, indicando que esse ecossistema está em processo de regeneração.

Palavras chaves: micorriza, rizóbio, regeneração natural, Floresta Atlântica.

SANTOS, EMILE SUZE DA PAZ, Diversity of mycorrhizal fungi arbusculares and of rhizobia in a fragment of Atlantic Forest in regeneration in Pernambuco 2006.

ABSTRACT

The Brazilian Atlantic Forest region has been recently devastated in large extension of its extension. The soil degradation affects seriously the microbial biomass that interact intensively with the soil particles which respond to the decomposition of organic composts, to nutrient recycling, to energy flux in the input system and to numerous biological and biochemical processes essentials to guaranty of ecosystem sustainability. Rhizobia bacteria and mycorrhizal fungi carried out fundamental reactions for the establishment of plants and rehabilitation of degraded ecosystems. The aim of this work was to evaluate the occurrence and diversity of mycorrhizal fungi and rhizobia bacteria, and to observe its interrelationships with tree species that participate in natural regeneration of a characteristic area of the antropoc Atlantic Forest. The study was conducted in the "Recife Jardim Botânico" located in the metropolitan area in the District of "Recife", Pernambuco state. Samples of the rhizospheric soil were collected and 33 plots (5 x 5m) were analyzed. Soil dilutions (0 , 10^{-1} , 10^{-2} and 10^{-3}) were used to determine the infectivity from FMA native of the soil, and 30 days later the presence of mycorrhizal structures. Roots proceeded from 6 species were used to evaluate mycorrhizal colonization. Cowpea plants were grown to obtain nodules for rhizobia isolation that were morphologically characterized on slants and plates with specific culture medium (YMA), following the specific parameters: colony growth rate, aspect and type of colonies (color, height, transparency of colonies), variation of pH values in media and presence of mucor. As result of the extration spores were identified 15 different species of FMA. In the determination of the infectividade they had been were evaluated, obtaining values that varied from 7.0 to 160 infective propagules. For the mycorrhizae colonization, it was gotten, a variation 14% and 36%. Eight morphological groups representative of native rhizobia were obtained in nodules isolated from the studied area. It was concluded that the diversity of FMA,

presence of infectivity from FMA native and diversity of rizóbios, showed fast growth. It's disclosing resilience in the area, indicating that this ecosystem is in regeneration process.

Key words: mycorrhiza, rhizobium, natural regeneration, Atlântic Forest.

1. INTRODUÇÃO

A crescente expansão agrícola e a produção florestal de forma desordenada provocam a degradação dos solos e diminuição da biodiversidade.

A Floresta Atlântica, bioma composto por diferentes formações florestais (mata densa, restinga, manguezais e até florestas de araucárias), tem sofrido constante degradação. De sua área original, cerca de 1,35 milhão de quilômetros quadrados, segundo o IBGE em 1993, apenas 7% estão preservados em pequenas porções distribuídas ao longo de 17 Estados do país. Em termos percentuais, a diferença é a seguinte: antes, na época do descobrimento, a Floresta Atlântica cobria por volta de 12% do território nacional; hoje, ocupa cerca de 1% da extensão de nosso país (BRAZIL, 2004). Considerando a grande diversidade e os potenciais biológicos, econômicos e sociais da floresta Atlântica, entende-se a necessidade de manter e manejar estes últimos fragmentos florestais, visando a conservação da grande biodiversidade ainda existente. Diversos fatores como variação latitudinal e de altitudes, diferentes ecossistemas associados, fazem desse bioma o de maior diversidade biológica do planeta (ALMEIDA, 2000).

Com a degradação do solo, a biota edáfica é seriamente afetada. Por serem microscópicos, os microrganismos são muitas vezes negligenciados pelos conservacionistas que só se detêm às espécies de animais e árvores ameaçadas de extinção (SANTOS, 2001).

Segundo Moreira e Siqueira (2002), a biota do solo é representada por todos os grupos de microrganismos (bactérias, fungos, algas, etc.) e quase todos os filos animais; porém sua mensuração é dificultada devido à complexa natureza do solo, que é heterogênea, irregular e dinâmica.

Um importante grupo funcional componente da biota do solo são os fungos micorrízicos arbusculares, sendo assim denominados por se associarem às raízes das plantas formando estruturas bem ramificadas no interior das células corticais conhecidas por arbúsculos (Miranda e Miranda, 2001). Segundo os autores, essa associação beneficia o crescimento das plantas, especialmente nos solos de baixa fertilidade; parte das hifas dos

fungos penetra nas raízes e parte se estende pelo solo, passando a funcionar como um sistema radicular adicional que atinge áreas não alcançadas pelas raízes, promovendo incremento na absorção de nutrientes.

Um outro componente da biota do solo são as bactérias fixadoras de nitrogênio. De acordo com Freire (1992), a fixação do N_2 pela associação rizóbio-leguminosa, varia com a bactéria, a planta e as condições ambientais. Dentre os fatores do solo que condicionam a resposta da simbiose, resultando na nodulação e na fixação do N_2 , pode-se relacionar as características das populações de rizóbio específico existentes no solo e o teor de nitrogênio mineral do mesmo. Estas bactérias formam nódulos, onde o N_2 é fixado, fornecendo-o para a planta na forma de amônio (MOREIRA e SIQUEIRA, 2002). Os rizóbios mantêm simbiose com plantas leguminosas e algumas não leguminosas podendo viver também saprofiticamente (DROZDOWICZ, 1997).

Segundo Faria e Chada (2004), atualmente, há grande necessidade de pesquisas sobre a reabilitação ambiental de áreas alteradas naturalmente ou por ações antrópicas, com o objetivo de proporcionar a sustentabilidade ambiental de ecossistemas que estão sendo criados ou recriados. Os autores afirmam ainda que para o conhecimento sobre os processos e os fatores que influenciam a regeneração natural, fazem-se necessárias a identificação e a ordenação dos pontos que constituem barreiras de impedimento do curso normal da regeneração, sendo esta a primeira etapa do trabalho de reabilitação. Os mesmos autores dizem que em muitas situações, o solo como substrato é o fator limitante de maior grandeza, pois práticas de melhorias ou modificações destes podem onerar muito o processo de reabilitação de áreas degradadas.

Diante do exposto, é importante conhecer a diversidade, a dinâmica e os mecanismos que compõem as interações entre microrganismos e plantas, no tocante ao estabelecimento e conseqüente sucessão vegetal, objetivando dar suporte para melhorias das técnicas de manejo na reabilitação de áreas antropisadas, neste caso, uma floresta urbana.

O objetivo do presente trabalho foi avaliar a ocorrência e a diversidade de fungos micorrízicos arbusculares e de rizóbios, como também avaliar a condição micorrízica de espécies arbóreas mais freqüentes na regeneração natural em um fragmento de Floresta Atlântica em processo de regeneração no

Jardim Botânico do Recife, visando fornecer dados para uma melhor compreensão das interações existentes entre a microbiota do solo e a vegetação de uma floresta antropizada, como base para futuros planos de manejo neste tipo de área.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Sucessão Natural

A Floresta Atlântica vem sendo destruída pela ação antrópica, causando grande processo de extinção antes mesmo que se conheça todo o potencial ecológico, genético e econômico das espécies (ALMEIDA, 2000), sendo de extrema importância o conhecimento sobre os processos naturais que atuam no desenvolvimento da floresta. A esses processos, dá-se o nome de sucessão natural.

Uma das mais interessantes características a serem observadas no desenvolvimento do ecossistema é que a comunidade de plantas sofre mudanças estruturais no seu habitat natural ao longo do tempo, chamada comumente de sucessão natural, que em muitos casos segue padrões relativamente definidos e mesmo em estado de equilíbrio, sofrem mudanças na estrutura de espécies e processos da comunidade, tornando então, este estado dinâmico (ODUM, 1983; PINTO-COELHO, 2000).

Segundo Almeida (2000), entende-se como sucessão natural o desenvolvimento processual de uma comunidade vegetal frente a alguma perturbação ocorrida no ambiente de modo a modificá-lo em sua composição, chegando então ao seu equilíbrio, ou seja, no estágio clímax. Odum (1983) acrescenta que a sucessão é bastante direcional e previsível, desde que não interrompida por forças externas impedindo-a que ocorra. Segundo o autor, a seqüência de comunidade que ocorre numa dada área, onde se substitui umas as outras, é chamada de sere e as comunidades relativamente transitórias são chamadas de estádios serais ou estádios de desenvolvimento; o sistema estabilizado terminal é o clímax, o qual, teoricamente, persiste, até ser afetado por perturbações.

Segundo Pinto-Coelho (2000), a sucessão primária ocorre em substratos recém formados e a sucessão secundária ocorre em comunidades preexistentes seguido após certo distúrbio, seja natural ou não. Este processo se desenvolve com a colonização das espécies, começando com as pioneiras, as quais se adaptam às limitações, criando condições edafoclimáticas favoráveis para o advento de grupos mais exigentes, as secundárias. Tais

espécies, pouco exigentes em luz, seqüencialmente criam condições favoráveis para as espécies que compõem o estágio final da sucessão florestal, as espécies clímax, formadas por poucos indivíduos, porém com grande diversidade de espécies (ALMEIDA, 2000).

2.2. Diversidade microbiana do solo e sua função

Quando se fala em perda de diversidade, degradação e conservação de ecossistemas, o que se pensa é somente a diversidade vegetal, animal, conservação e recuperação de plantas superiores (MOREIRA e SIQUEIRA, 2002). Porém, o solo e a sua diversidade microbiana constituem o substrato que “alimenta” a floresta, sendo sua conservação de extrema importância para o estabelecimento e sustentabilidade dos ecossistemas.

Souza e Silva (1996) destacam que a degradação do solo constitui uma das ações mais negativas do homem sobre o meio ambiente, pois pode ser vista como processo de redução da capacidade agrícola, que pode ocasionar transformação de áreas florestais em áreas desertificadas pela erosão de encostas e vias de transporte, assoreando os cursos d'água e represas, comprometendo o fornecimento de água potável e aumentando os problemas urbanos e, numa visão mais global, alterando o clima do planeta.

Como o solo é considerado um habitat extremamente peculiar em relação a outros habitats terrestres, devido a sua natureza complexa, dinâmica e heterogênea, isso lhe permite abrigar organismos de diferentes metabolismos interagindo de forma dinâmica e equilibrada, favorecendo uma larga biodiversidade (MOREIRA e SIQUEIRA, 2002). Cada microhabitat do solo apresenta determinada quantidade de nichos para a comunidade microbiana. Assim, quanto mais simples o habitat, menor será o número de nichos disponíveis e quanto mais complexos maior; e, esse nível de complexidade pode ser ocasionado também pela própria atividade microbiana, através da decomposição enzimática de alguns compostos, imobilização de certos nutrientes minerais do solo e outras atividades metabólicas (CARDOSO, 1992).

Azevedo (1998) relata a importância das bactérias e fungos na realização de importantes transformações metabólicas, controle biológico de doenças e pragas, fixação biológica do nitrogênio atmosférico, degradação de

resíduos vegetais e tóxicos, e fabricantes de vários produtos úteis ainda desconhecidos, sendo responsáveis por importante papel na sobrevivência de outras espécies, sobretudo a humana. Marchiori Júnior e Melo (1999) enfatizam ainda que os organismos do solo interagem intensivamente com as partículas do solo e são responsáveis por inúmeros processos biológicos e bioquímicos, essenciais para garantir a sustentação do ecossistema onde vivem.

A diversidade microbiana que existe no solo se relaciona com a diversidade vegetal. Desse modo, a distribuição dos microrganismos presentes, interagindo com as plantas, é de extrema importância para a sua distribuição e estabelecimento, sendo a conservação da biota do solo intrinsecamente ligada a recuperação e conservação do meio ambiente. Cardoso e Freitas (1992) salientam que do mesmo modo que a parte aérea das plantas sofre evolução ao longo do tempo, a microbiota sofre uma seleção natural dos microrganismos mais adaptados para se multiplicarem e reproduzirem em rizosferas e raízes de diferentes plantas. A presença de diversos nichos, propiciados por diversos nutrientes orgânicos liberados pelas raízes de variadas espécies de plantas, faz com que haja seleção de espécies microbianas e a predominância delas, num determinado substrato, num certo momento.

2.3. Fungos Micorrízicos Arbusculares

Ao longo do tempo, os microrganismos sofreram processos evolucionários a ponto de estabelecer características que lhes proporcionassem coexistência com diferentes seres vivos, destacando como exemplo as simbioses entre plantas e microrganismos heterotróficos, entre elas, as micorrizas, formadas por associação entre determinados fungos do solo e raízes de plantas, na maioria superiores (MOREIRA e SIQUEIRA, 2002). Segundo os autores, há evidências de que as micorrizas surgiram há cerca de 400 milhões de anos, mediante estudos em raízes fossilizadas, que coincide com o aparecimento das primeiras plantas terrestres.

Dentre os tipos de micorrizas existentes, destacam-se as ectomicorrizas (ECM) e as endomicorrizas do tipo arbuscular (MA), por ocorrerem em espécies vegetais de importância econômica. As ectomicorrizas se caracterizam por uma penetração intercelular do córtex e formação da “rede de

Hartig” pelas hifas (SILVEIRA, 1992; MIRANDA e MIRANDA, 2001), onde ocorrem principais trocas de nutrientes entre fungo e planta, e pela formação de um manto de hifas, externo à raiz, induzindo às mudanças anatômicas nas raízes, que permite a identificação a olho nu, protegendo-a fisicamente contra microrganismos patogênicos do solo, e possibilitando maior exploração do solo, como se fosse uma extensão do sistema radicular (MIRANDA e MIRANDA, 2001). Segundo os mesmos autores, as micorrizas arbusculares, apresentam hifas com penetração intercelular e intracelular. De acordo com Silveira (1992), há também formação de arbúsculos, principais responsáveis pelas trocas de nutrientes entre fungo e planta não existindo alterações morfológicas nas raízes visíveis a olho nú. Assim, sua identificação só é possível por meio de análise microscópica ou por microscópio estereoscópio (lupa) (MIRANDA e MIRANDA, 2001).

A micorriza, juntamente com os líquens, é considerada a forma mais antiga de relação simbiótica envolvendo organismos heterotróficos com autotróficos, com a formação de estruturas especializadas (MOREIRA e SIQUEIRA, 2002).

Os FMA podem ser encontrados em plantas herbáceas, arbustivas ou arbóreas, que ocupam os mais diversos ecossistemas, como florestas, desertos, dunas, savanas, campos e agroecossistemas, sendo invariavelmente associados à maioria das plantas nativas dos trópicos e a espécies de interesse econômico como café, soja, milho, sorgo, maçã, citrus, feijão, entre outras. Assim, vê-se a importância de incentivos aos estudos sobre a ecologia desses simbiontes obtendo-se um inventário mais completo de sua diversidade taxonômica, fisiológica e genética, podendo essas informações serem interessantes e a seleção de isolados eficientes para a aplicação em processos biotecnológicos de interesse agrícola e ambiental (SIQUEIRA et al., 2002).

Como exemplo de ocorrência natural de MA's, estão as espécies onde foram observadas colonizações micorrízicas: eucalipto, seringueira, fedegoso, ipê-mirim, flamboyant, cedro, pau-ferro, aroeirinha, pinha do brejo, tento, guatambu, jatobá, entre outros (MOREIRA E SIQUEIRA, 2002). De acordo os autores, os FMA são fungos benéficos que estabelecem associações simbióticas com as raízes das plantas vasculares, principalmente Angiospermas e Gimnospermas. Distribuídos em quatro ordens

Archaeosporales, Glomerales, Paraglomerales, Diversisporales, e sete famílias, Gigasporaceae, Glomeraceae, Acaulosporaceae, Archeosporaceae, Paraglomeraceae, Diversisporaceae, Geosiphonaceae (SCHÜßLER, et al., 2001) e Pacisporaceae (OEHL e SIEVERDING, 2004). Todas formando associação micorrízica do tipo arbuscular, com exceção da Geosiphonaceae.

Trufem (1990), sugere a existência de adaptações fisiológicas dos FMA aos diferentes tipos de ambientes. A sua diversidade diferencia-se quanto à efetividade (MIRANDA E MIRANDA, 1997), sendo necessário o conhecimento da capacidade de multiplicar-se no solo e sua influência no crescimento de plantas hospedeiras, nas diversas condições de fertilidade do solo, salientando-se a importância da identificação das mais eficientes combinações solo-fungo-planta (MIRANDA E MIRANDA, 2001).

Silveira (1992) relata que o micélio externo dos fungos que formam simbiose participa na agregação de partículas do solo, principalmente grãos de areia, como observados em dunas. CORDIKI e RINCÓN (1997) também observaram este fato, e constataram que 97% das trinta e sete espécies de plantas distribuídas pela praia, ao longo de um gradiente sucessional, em um sistema tropical de dunas de areia, são micorrízicas.

Além disso, as micorrizas agem na estabilização dos agregados do solo, por meio da deposição de material amorfo entre as partículas de areia e as hifas (SILVEIRA, 1992), favorecendo a estruturação do solo, um dos fatores fundamentais para a manutenção de espécies vegetais. Nóbrega et al. (2001) observaram benefício da inoculação com *Glomus etunicatum* e da adubação fosfatada para a colonização micorrízica e estabilidade de agregados de solo. O fator responsável por esse benefício é a produção de glomalina pelo fungo, uma proteína produzida naturalmente pela hifa, que contribui para a agregação das partículas do solo (RILLIG et al., 2002).

A associação micorrízica promove incrementos na absorção de nutrientes do solo porque as hifas finas dos fungos apresentam maior capacidade de absorverem nutrientes, quando comparadas às raízes da planta hospedeira. Dessa forma, a planta hospedeira utiliza minerais acumulados pelo fungo, que, em troca utiliza carboidratos produzidos pela planta durante o processo de fotossíntese (MACCHERONI JÚNIOR et al. 2004).

Trabalhos realizados para testar eficiência de FMA comprovam esse fato. Chaves et al. (1995), constataram incremento no crescimento de mudas de Jacarandá-da-bahia (*Dalbergia nigra* (Vell.)), inoculadas com *Glomus fasciculatum* e *Gigaspora margarita*; Chaves (1996) observou semelhante benefício em mudas de Vinhático (*Plathymentia foliolosa* Benth) e Jacarandá-da-bahia (*Dalbergia nigra* (Vell.)), constatando maior absorção de fósforo por mudas micorrizadas. Do mesmo modo, Silva et al., (2004), observaram maior incremento no crescimento das mudas de maracujazeiro-doce (*Passiflora alata* Curtis) micorrizadas com *Gigaspora albida* Schenck & Smith, em relação às mudas não micorrizadas, ainda em trabalho com a *Hancornia speciosa* Gomes, Costa et al., (2005), verificaram que esta planta se beneficiou da absorção de P quando esporos de FMA nativos da sua rizosfera foram inoculados; assim como constatado por Anjos et al. (2005) com a *Passiflora alata* Curtis. Chaves e Borges (2005), constataram maior eficiência de utilização de fósforo e maior eficiência radicular de mudas de jacarandá-da-bahia (*Dalbergia nigra* (Vell) Fr. Allem) micorrizadas com *Gigaspora margarita* e com *Glomus fasciculatum*, quando comparadas com mudas não micorrizadas.

Outro benefício da associação micorrízica é o incremento na tolerância de plantas à salinidade como é relatado por Yano-Melo et al. (2003), em que se observou incremento na tolerância ao estresse salino em *Musa* sp. inoculadas com FMA.

A distribuição espacial dos fungos micorrízicos no solo e a dependência micorrízica das espécies vegetais proporcionam a composição e estabelecimento de espécies vegetais no ambiente. Allen et al. (1989), comenta que o vento é um importante agente dispersor de microrganismos, influenciando a composição de espécies de plantas no ambiente, podendo os fungos micorrízicos arbusculares sobreviver em habitats diferentes do original.

Janos (1980 b), relata que a dependência micorrízica pode influenciar a sucessão vegetal natural, devendo ocorrer espécies micotróficas obrigatórias e facultativas que são dependentes de micorrização para a aquisição mineral e espécies não micotróficas que atingem a maturidade reprodutiva sem a presença de micorrizas. De acordo com o mesmo autor, a sucessão pode resultar na interação micorrízica quando uma comunidade de planta dominada por micotróficas facultativas promove no solo um enriquecimento temporário na

fertilidade. Desse modo, a dependência pode variar com o nível de fertilidade do solo, fato este comprovado por Chaves e Borges (2001/2002), que observaram redução da dependência micorrízica do Jacarandá-da-bahia com o aumento de doses de fósforo adicionadas ao solo.

Em muitos casos, a colonização micorrízica não está relacionada somente com a quantidade de esporos, pois estes podem encontrar-se inviáveis, jovens ou ainda dormentes, ocorrendo então por outros propágulos infectivos, como raízes colonizadas e micélios fúngicos. Assim, um solo considerado com alta capacidade infectiva por FMA é aquele que apresenta maior capacidade de colonizar plantas, não sendo necessário apresentar maior quantidade de esporos de fungos micorrízicos. Isso pode ser comprovado com realização de bioensaios, calculando-se o número mais provável de propágulos infectivos de FMA do solo (NMP), como o adaptado por Feldman e Idczak (1994).

Janos (1980a), confirma que muitas espécies de plantas de floresta úmida são micotróficas. Segundo Fischer et al. (1994), distúrbios no ecossistema, provocados pelo homem, afetam a ciclagem de nutrientes e podem requerer a formação micorrízica para refazer e promover o estabelecimento de comunidades de plantas.

Mediante o exposto sobre associações entre FMA e plantas, Faria e Chada (2004) enfatizam que o uso de espécies que estabelecem associações simbióticas, como as associações com fungos micorrízicos, podem significar uma economia de recursos e tempo no processo da sucessão secundária.

2.4 Associação de Leguminosas arbóreas com Rizóbios

A cobertura vegetal arbórea se constitui num valor incalculável para o meio ambiente, como protetora dos mananciais, modificando o clima, favorecendo a fertilidade dos solos e ainda regulando a distribuição de sais nos lençóis freáticos, além da importância econômica. Dentre as espécies vegetais importantes para a recuperação e manutenção dos ecossistemas, estão as espécies leguminosas, que, em sua maioria, desempenham papel importante para a natureza, participando de um dos processos microbiológicos mais

importantes: a fixação biológica de nitrogênio pelas bactérias conhecidas genericamente por rizóbios (LEITÃO, 1997).

De acordo com Primavesi (1980), o nitrogênio é um nutriente essencial à vida terrestre, sendo crucial para toda vida terrestre, uma vez que todas as proteínas são formadas à base de nitrogênio, onde a sua principal fonte de N é o ar atmosférico, em que pequenas partes entram pelo contato direto do ar com o solo, outra é adicionado no solo pelas chuvas através de descargas elétricas e a maior parte pela fixação biológica por bactérias.

Os animais, vegetais e a maioria dos microrganismos dependem deste elemento, pois o imenso reservatório de N que compõe cerca de 78% da atmosfera não é acessível a todos os eucariontes (incluindo as plantas) e à maioria dos procariontes. Apenas uma parcela relativamente pequena das espécies de procariontes são capazes de reduzir o N atmosférico (N_2) para a forma inorgânica combinada NH_3 que pode então se tornar disponível para as plantas e outros organismos (MOREIRA e SIQUEIRA, 2002).

Esses microrganismos são chamados de bactérias diazotróficas. Elas utilizam, para o funcionamento do seu metabolismo, o nitrogênio, possuindo um complexo enzimático chamado nitrogenase, que transforma o N em amônia que será aproveitado pelas plantas, formando aminoácidos e proteínas. Esse processo é chamado de Fixação Biológica de Nitrogênio (FBN) (NEVES e RUMJANEK, 1998).

As bactérias diazotróficas incluem bactérias de vida livre, bactérias associativas, actinorrizas e rizóbios (CAMPELLO, 1996; NEVES e RUMJANEK, 1998; MOREIRA e SIQUEIRA, 2002). Segundo Moreira e Siqueira (2002), há atualmente seis gêneros e 31 espécies de rizóbios descritos distribuídos em quatro famílias: Bartonellaceae, onde se encontra o gênero *Bradirhizobium*; Brucellaceae, onde se encontra o gênero *Azorhizobium*; Phylloheterioceae, onde se encontra o gênero *Mesorhizobium*; e, finalmente, a família Rhizobiaceae, onde se encontram os gêneros *Rhizobium*, *Sinorhizobium*, e *Allorhizobium*; denominados conjuntamente como rizóbios.

Os rizóbios são microrganismos rizosféricos que estabelecem associações simbióticas com a maioria das leguminosas e algumas não leguminosas, formando estruturas especiais nas raízes ou caule, denominadas nódulos (NEVES e RUMJANEK, 1998; HUNGRIA et al, 1997). Estas bactérias

fixam nitrogênio, formando nódulos com as plantas e fornecendo este nutriente para a sua nutrição (MOREIRA e SIQUEIRA, 2002). De acordo com Neves e Rumjanek (1998), são microrganismos heterotróficos comuns em solos tanto de regiões temperadas como em regiões tropicais.

O processo em que se estabelece a simbiose se desenvolve em: a) pré-infecção, que é o reconhecimento dos simbioses e interações entre as superfícies da bactéria e da planta; b) infecção da planta pela bactéria e formação do nódulo; c) funcionamento dos nódulos, ou seja, a fixação de nitrogênio. Todos esses passos dependem e podem variar em função dos genótipos da planta e da estirpe envolvida, bem como de fatores ambientais (MOREIRA e SIQUEIRA, 2002).

O rizóbio pode viver saprofiticamente sem fixar N_2 no solo, porém interagindo com os demais microrganismos competindo com outras estirpes pelos sítios de infecção (FREIRE, 1992). Esta competitividade das bactérias e sua conseqüente sobrevivência podem ser afetadas por fatores edafoclimáticos e biológicos. Os fatores abióticos do solo podem afetar tanto a população nativa do solo como as condições para o estabelecimento de novas estirpes (LEITÃO, 1997). Dentre esses fatores estão as deficiências nutricionais, como a falta de fósforo, fator limitante em solos tropicais (MOREIRA e SIQUEIRA, 2002). Este fato foi demonstrado por Burity et al. (2000), que concluíram que a dupla inoculação rizóbio e micorriza apresentou maior eficiência na nodulação, e atividade da nitrogenase em relação à inoculação apenas com rizóbio em mudas de sabiá (*Mimosa caesalpiniaefolia* Benth). Ainda, Patreze e Cordeiro (2004), trabalhando em reflorestamento de área ribeirinha com as espécies *Mimosa bimucronata* (DC) O. Kuntze, *Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenan e *Parapiptadenia rigida* (Benth) Brenan, sugeriram a vantagem de usar a dupla inoculação rizóbio/micorriza em mudas dessas espécies para o reflorestamento.

Outro fator abiótico é teor de nitrogênio mineral do solo (FREIRE, 1992), pois quando limitado poderá restringir sua atividade. Características relacionadas a estrutura e a textura do solo podem afetar a população de rizóbios no solo, proporcionando maior número total de microhabitats e umidade adequada, favorecendo o estabelecimento desses microrganismos

(NEVES e RUMJANEK, 1998). Além disso, a acidez do solo pode favorecer a dominância de estirpes a um determinado pH (LEITÃO, 1997).

Dentre os fatores bióticos estão a competitividade entre estirpes. Segundo Freire (1992), algumas estirpes de rizóbios variam quanto à rapidez relativa em dominar os sítios de nodulação quando em presença de outras estirpes. Estirpes com altas competitividades, introduzidas em uma área juntamente com outras, podem ir perdendo sua competitividade, ao passo que outras, com baixa ocupação inicial, se adaptam e ressurgem em alta porcentagem nos nódulos. Bala et al. (2003a) sugerem que há maior diversidade de rizóbios no centro de diversidade de leguminosas hospedeiras, apresentando melhor habilidade de nodulação, do que em locais onde foram introduzidas.

Esse grupo funcional, as bactérias fixadoras de nitrogênio, favorece o desenvolvimento da planta e conseqüentemente o seu estabelecimento, favorecendo assim o andamento da sucessão natural de um determinado local. Como exemplo Santos et al. (2005) falam do bom acúmulo de N-total e bom rendimento de biomassa seca na parte aérea nas plantas de amendoim associados com a maioria dos rizóbios nativos da região Nordeste brasileira, quando comparados com o controle.

A diversidade genética dentro da população de rizóbio no ambiente natural está relacionada à alta capacidade de multiplicação, variações e mutações, e também devido aos processos naturais de transferência genética (FREIRE, 1992). Desse modo, Rodríguez-Echeverría et al. (2003), analisando a diversidade genética de rizóbios concluiu que a ampla distribuição geográfica dessas bactérias indica uma extraordinária habilidade de crescer e se multiplicar em diferentes tipos de solos.

Em adição, a diversidade fenotípica é feita baseada em observações morfológicas em meio de cultura, sendo utilizadas, para descrever a maioria dos gêneros de bactérias nodulantes, a técnica do plaqueamento, onde se observa as características culturais (JORDAN, 1984).

Segundo Santos (2001), o estudo da diversidade das bactérias, baseado em características culturais, envolve vários parâmetros a serem avaliados como, o tempo que as bactérias levam para formar colônias individuais em meio de cultura, o diâmetro das colônias, a forma, a cor, a

produção de ácido e álcali, a produção de muco, entre outros. A autora afirma que as espécies de bactérias costumam formar colônias de tamanho e forma características intrínsecas a elas, com isso o desenvolvimento das suas colônias na superfície dos meios com ágar ajudam na sua identificação. Quando vários grupos são plaqueados, geralmente é possível identificar e isolar colônias com base na sua aparência e, posteriormente, separá-las em cultura pura.

Porém, as desvantagens que o método de análise das características culturais apresentam para a avaliação da diversidade microbiana podem ser citados como seleção de grupos em função do meio de cultura utilizado, competição e sinergismo entre os diferentes grupos. Entretanto, é um método rápido para uma análise prévia da diversidade, tendo como principal vantagem a obtenção do microrganismo isolado que poderá ser armazenado e usado posteriormente (SANTOS, 2001).

Silva (1999) encontrou maior diversidade de bactérias fixadoras de nitrogênio na mata nativa e em área de mata secundária com 18 anos de recomposição, salientando que o desmatamento e a atividade agrícola causam consideráveis efeitos de impacto ambiental sobre a comunidade dessas bactérias fixadoras, sugerindo então que a população de rizóbios nativos de um ecossistema pode ser utilizada como um indicador da qualidade do solo.

Em adição, foi observado por Zilli (2000), que a diversidade do rizóbio capaz de nodular caupi, também foi reduzida quando foi implantado cultivo da soja, após retirada da vegetação nativa do cerrado, evidenciando assim que a monocultura ocasiona efeitos negativos da sobre a diversidade de rizóbios.

Gehring et al. (2005) concluíram que vegetação com presença de leguminosas, ao longo de uma sucessão secundária, é dominada potencialmente por espécie fixadoras de N_2 . Desse modo, eles consideram a FBN importante para a sucessão secundária, pois em floresta tropical madura a FBN é baixa, devido à deficiência de P e N nesse tipo de ecossistema, desfavorecendo o processo.

Sendo assim, o uso de espécies leguminosas, que estabelecem associações simbióticas com bactérias fixadoras de nitrogênio, pode acelerar o processo de sucessão vegetal, beneficiando recuperação de uma área. Essas espécies possuem capacidade de se estabelecerem em condições adversas de

fertilidade, proporcionando uma maior ciclagem e acúmulo de nutrientes no solo, devido ao aporte de biomassa via serrapilheira, o que favorece a germinação de propágulos, contribuindo assim para o estabelecimento das plantas (FARIA e CHADA, 2004).

3. MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi realizado utilizando-se amostras de solo coletadas no Jardim Botânico do Recife, compreendendo um fragmento de 8,53 hectares de Floresta Ombrófila Densa, localizado na região metropolitana da cidade do Recife – PE. (Figuras 1, 2 e 3). Encontra-se a 08° 04' de latitude sul e 34° 55' de longitude oeste. A reserva está situada numa área com predominância de Argissolos Vermelho-amarelos distróficos. O clima é classificado como AS' tropical costeiro, apresentando médias de temperatura entre 23°C e 28°C no verão e com precipitação média anual de 1.651 mm / ano, com máxima de 2.840 mm / ano.

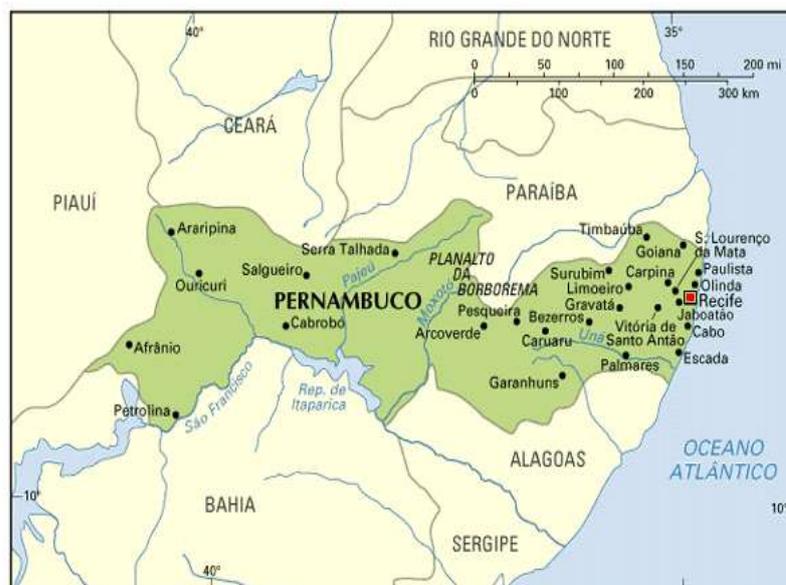


Figura 1. Mapa do estado de Pernambuco – Brasil.

Fonte: www.recifeguide.com



Figura 2. Foto aérea do Jardim Botânico do Recife-PE.

Fonte: Fidem, escala: 1/6000, 13/06/1997

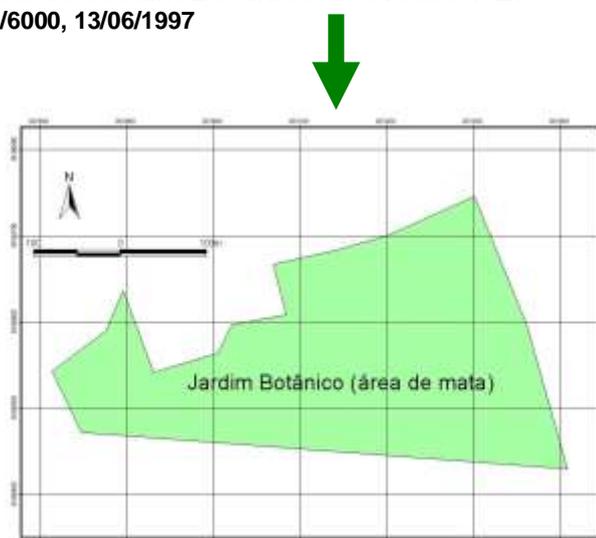


Figura 3. Mapa de localização do Jardim Botânico do Recife-PE.

Fonte: Geosere / UFRPE (2005)

3.1. Coleta do solo para caracterização química e física, a avaliação do NMP e rizóbios

A área foi subdividida em oito sub-áreas, coletando-se uma amostra composta de cada sub-área, perfazendo oito amostras compostas.

3.1.1. Caracterização química e física do solo

As amostras foram submetidas a análises físicas e químicas de acordo com metodologia proposta pela EMBRAPA (1997) (Tabelas 1 e 2)

Tabela 1. Atributos físicos do solo oriundo do Jardim Botânico do Recife, PE

Amostra	Prof. (cm)	Densidade (g/cm ³)		Porosid total %	Granulometria (%)			Silte/argila	Classe do Solo	Argila dispersa em H ₂ O (%)	Grau de floc. (%)	Umidade na base de massa		H ₂ O disponível
		Global	Partícula		Areia	Argila	Silte					1/3 Atm	15 Atm	
A1	0 -20	1,17	2,70	56,67	62,4	28,6	9	0,31	Franco Argilo Arenoso	18,31	35,90	12,11	6,21	5,90
A2	0 -20	1,17	2,70	56,67	62,4	28,6	9	0,31	Franco Argilo Arenoso	18,32	35,94	12,79	6,93	5,86
A3	0 -20	1,16	2,53	54,12	61,4	27,6	11	0,40	Franco Argilo Arenoso	10,32	62,61	16,19	8,45	7,74
A4	0 -20	1,20	2,56	53,32	66,4	23,6	10	0,42	Franco Argilo Arenoso	8,32	64,75	11,94	7,25	4,69
A5	0 -20	1,19	2,60	54,24	65,4	25,6	9	0,35	Franco Argilo Arenoso	9,32	63,59	14,16	8,33	5,82
A6	0 -20	1,15	2,74	58,19	59,4	30,6	10	0,33	Franco Argilo Arenoso	20,32	33,59	14	9,32	4,68
A7	0 -20	1,15	2,74	58,19	59,4	30,6	10	0,33	Franco Argilo Arenoso	20,32	33,59	14,53	9,65	4,88
A8	0 -20	1,15	2,60	55,91	65,4	25,6	9	0,35	Franco Argilo Arenoso	12,32	51,88	13,37	8,29	5,07

Tabela 2. Atributos Químicos do solo oriundo do Jardim Botânico do Recife, PE

AMOSTRA	CTC	pH água	P mg/dm ³	Na ⁺ -----	K ⁺ -----	Ca ⁺² +Mg ⁺² (cmolc/ dm ³) -----	Ca ⁺² -----	Al ⁺³ -----	m (%)	v (%)	H + Al	C.O. ----- g/Kg -----	M.O.
A1	6,08	4,40	6	0,16	0,30	1,11	0,71	0,81	34,03	25,82	4,51	13,82	23,9
A2	6,51	4,41	6	0,17	0,29	1,10	0,70	0,80	33,89	23,96	4,95	13,88	23,94
A3	6,01	4,41	7	0,20	0,26	2,00	1,55	1,00	28,90	29,89	5,77	12,47	21,50
A4	8,23	4,13	6	0,08	0,25	0,90	0,55	1,60	56,53	20,46	4,78	11,06	19,07
A5	7,38	5,05	7	0,13	0,33	2,55	1,60	0,75	19,94	40,78	4,37	15,18	26,17
A6	9,13	4,30	1	0,11	0,16	2,14	0,96	1,14	32,11	26,39	6,72	14,29	24,12
A7	9,13	4,20	1	0,12	0,15	2,15	0,95	1,15	32,21	26,50	6,75	14,32	24,69
A8	10,70	4,10	1	0,09	0,21	3,4	1,50	1,05	22,10	34,57	7,00	13,01	22,43

3.1.2. Avaliação do Número Mais Provável de propágulos infectivos de FMA

Utilizou-se a metodologia do Número Mais Provável (NMP), adaptada por (FELDMANN e IDCZAK, 1994), em que as amostras de solo coletadas foram diluídas, utilizando areia lavada como diluente, a qual foi autoclavada por 1 hora, três vezes consecutivas, com intervalo de 24 horas, e em seguida secas em estufa. Utilizou-se o milho (*Zea mays*, L.), como planta hospedeira. As amostras de solo foram diluídas nas proporções de 0, 1:10, 1:100 e 1:1000. Na diluição de 1:10 tomou-se uma parte do solo-inóculo (solo da área) e nove do diluente; para a segunda diluição colocou-se uma parte da diluição de 1/10 e nove do diluente; e, para a última diluição, uma parte da diluição de 1:100 foi misturada com nove partes do diluente. As amostras diluídas foram colocadas em tubetes de 150 g, com cinco repetições, totalizando 160 unidades. Cada tubete recebeu duas sementes de milho, que foram desinfestadas com álcool etílico (50%) por 1 min e hipoclorito de sódio (10%) por 30 segundos. Após a germinação, apenas uma plântula foi mantida.

Após trinta dias, todo o sistema radicular foi lavado, clarificado com KOH (10%) e corado com Trypan Blue, seguindo a metodologia de Phillips e Hayman (1970), para verificar a presença de estruturas de FMA. Para o cálculo do NMP apenas 3 números são requeridos. O primeiro corresponde ao número de repetições que estavam colonizadas na diluição 1:10; o segundo e terceiro números correspondem às duas maiores diluições. O resultado da combinação dos 3 números é encontrado na tabela de Cochran (FELDMANN e IDCZAK, 1994) do NMP. Para obter o NMP de propágulos.cm⁻³ do solo amostrado, o valor obtido na tabela foi multiplicado por 100.

3.1.3. Isolamento e caracterização dos rizóbios

Para capturar os rizóbios presentes nas amostras de solo, plantas de feijão caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp) foram cultivadas em vasos contendo o solo da área, em 3 repetições. As sementes de caupi foram previamente desinfestadas com álcool etílico a 70% por 30 segundos, para reduzir a tensão

superficial, e hipoclorito de sódio a 2% por 3 minutos e 10 lavagens sucessivas em água destilada.

A irrigação foi realizada com água filtrada, mantendo-se o solo na capacidade máxima de retenção de umidade (VINCENT, 1970). Os nódulos foram coletados 40 dias após a emergência das plântulas.

- Isolamento do rizóbio formador de nódulo

Os nódulos coletados foram tratados com uma solução de álcool etílico a 70% por 1 minuto, para quebrar a tensão superficial, e com uma solução de hipoclorito de sódio a 5% por 2 minutos, para desinfestá-los superficialmente, sendo em seguida, lavados, por 10 vezes, com água destilada para retirar o excesso de hipoclorito de sódio. Após esse tratamento, foram levemente pressionados com uma pinça sobre uma placa de petri, contendo meio YMA (extrato de levedura, manitol e agar), conforme descrito por Vincent (1970). Após a inoculação, as placas foram incubadas a 28°C até o aparecimento e desenvolvimento das colônias.

- Caracterização fenotípica

A caracterização fenotípica dos isolados foi adaptada de Vincent (1970), sendo observado, de cada um dos isolados as seguintes características: 1) Tempo de crescimento (tempo necessário para o aparecimento de uma colônia); 2) pH do meio após o crescimento celular (determinado pela coloração do meio de cultura contendo azul de bromotimol, onde os isolados acidificantes tornam o meio amarelo e os alcalinizantes tornam o meio verde azulado e os neutros não modificam a coloração do meio de cultura); 3) Tamanho da colônia em mm; 4) Transparência da colônia; 5) Cor da colônia; 6) Presença ou ausência de muco produzido pelas células; 7) Elevação da colônia.

- Codificação

Após a caracterização morfofisiológicas os dados foram codificados (Tabela 3) visando a utilização do programa NtsysPC para o agrupamento que só aceita informações binárias.

Tabela 3. Codificação das características fenotípicas dos isolados de rizóbios

Característica	Padronização		Código Correspondente	
	Tempo (em dias)	1	2	0
pH	Ácido	Neutro ou alcalino	0	1
Tamanho	Puntiforme, 1 e 1,5 mm	>2 mm	0	1
Transparência	Opaco	Transparente	0	1
Cor	Branca	Amarela	0	1
Elevação	Sem elevação	Com elevação	0	1
Presença de muco	Não ou Pouca	Média e muita	0	1

Análise dos dados

A partir da caracterização morfofisiológica, agruparam-se os isolados obtidos, utilizando o algoritmo *UPGMA* e a matriz de similaridade *Jaccard* no programa NtsysPC. Uma vez construída a matriz, foi feito um dendrograma com a finalidade de separar os grupos de isolados com maiores similaridades. Após agrupados, foram calculados os índices de diversidades dos isolados. Para isto, cada grupo morfológico, foi considerado como um *taxon*. Utilizou-se os seguintes índices:

1. Índice de Shannon-Weaver (H') $\rightarrow H' = -\sum_{i=1}^{S_{obs}} p_i \log_e p_i$, Onde p_i = a proporção de indivíduos do $i^{\text{ésimo}}$ taxon em relação ao total de indivíduos.
2. Índice de Margalef (D) $\rightarrow D = \frac{S-1}{\ln N}$, onde S é o número de táxon (grupos) e N o número total de indivíduos na amostra.

3.2. Coleta do solo extração de esporos de FMA

Em estudo simultâneo sobre a regeneração natural da vegetação do Jardim Botânico do Recife, foram demarcadas 33 parcelas (5 x 5 m), nas quais

foram coletadas, quatro amostras de solo por parcela até 20 cm de profundidade, perfazendo um total de 132 amostras simples, compondo 33 amostras compostas.

3.2.1. Extração, preparo das lâminas e identificação dos esporos de FMA

As amostras foram secas à temperatura ambiente, e acondicionadas em sacos plásticos transparentes, sendo posteriormente armazenadas sob refrigeração até o momento do processamento.

Os esporos de FMA foram extraídos de 100 g de solo de cada uma das amostras compostas, utilizando-se a técnica do peneiramento úmido (GEDERMANN e NICOLSON, 1963), seguido de centrifugação em água e sacarose (JENKINS, 1964), sendo utilizado neste estudo a concentração de sacarose a 50%. Os esporos recolhidos em peneiras de 840µm e 45µm foram transferidos para placa canaletada e quantificados ao estereomicroscópio (40x). Em seguida os esporos foram agrupados, de acordo com suas semelhanças morfológicas e montados em lâminas contendo resina de álcool polivinílico e lactoglicerol (PVLG) e em reagente de Melzer + PVLG (WALKER, 1979), sendo identificados segundo Schenck e Perez (1990) e descrição morfológica segundo INVAM (2005).

3.3. Avaliação da colonização micorrízica das plântulas

Foram coletadas aleatoriamente, plântulas com altura média de 15 cm, de seis espécies florestais mais freqüentes na regeneração natural do Jardim Botânico do Recife, com cinco repetições, de modo que representassem toda a área, sendo identificadas quanto à espécie, família e grupo ecológico sucessional, de acordo com especialistas, literatura e observações no campo. Foram elas: *Brosimum discolor* Schott (Quirí) e *Helicostylis tomentosa* (Poepp.& Endl.) Macbride (Amora do mato) – pioneiras; *Dialium guianensis* (Aubl.) Sandw (Pau-ferro da mata) e *Siparuna guianensis* Aubl. (Cafezinho) – secundárias iniciais; *Eschweilera ovata* (Camb.) Miers (Embiriba) e *Sorocea hilarii* Gaudich (Sorocea) – secundárias tardias.

Para avaliação da colonização micorrízica, utilizou-se raízes finas das plântulas, as quais foram lavadas e conservadas em álcool etílico à 50% até o

processamento. As raízes foram clarificadas em KOH (10%), posteriormente transferidas para solução de peróxido de hidrogênio H₂O₂ (10%), acidificadas com HCl (0,1%) e coradas com Azul de Tripano (0,05%) (PHILLIPS e HAYMAN, 1970).

Após o processamento as raízes foram conservadas em glicerol à 50% para a determinação da porcentagem de colonização, avaliada pela interseção dos quadrantes (GIOVANNETTI e MOSSE, 1980).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Número de esporos de FMA

Constatou-se uma grande variação quanto ao número de esporos existente ao longo da área (Figura 4). O número total de esporos de FMA variou de 3 a 560 por 100 g de solo, na área em estudo, encontrando-se, dentro dessa variação, resultados semelhantes em outros trabalhos em florestas tropicais (MELO, 2004; MATTEO, 2002; TRUFEM, 1990), e ainda em caatinga (SILVA et al., 2001; SOUZA et al., 2003). Em toda a área, onde as parcelas foram analisadas, há presença de várias espécies de plantas, em diferentes estádios sucessionais e diferentes classes de tamanho, e ainda presença de diferenças sensíveis de graus de distúrbios, podendo tais fatores ter contribuído para esse resultado (Tabela 5).

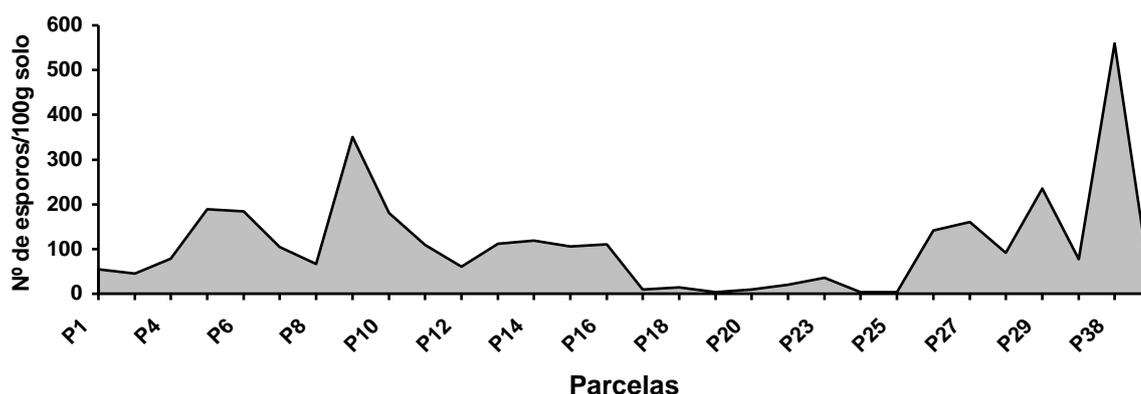


Figura 4. Número de esporos de FMA nas parcelas distribuídas no Jardim Botânico do Recife-PE.

A área é dividida por trilhas em oito subáreas e esses locais apresentam diferentes graus de distúrbio, tais como presença de árvores caídas, favorecendo o aparecimento de clareiras e outro apresentando o dossel mais fechado, podendo estar influenciando a densidade de esporos de FMA presente na área (Tabela 4). Segundo Caproni et al. (2003), nas áreas em recuperação mais perturbadas há maior produção de esporos de FMA do que em mata nativa em clímax menos perturbada. Os autores observaram que a densidade de esporos de FMA vai aumentando com a sucessão até a sua estabilização, quando então a densidade decresce.

Observações semelhantes foram feitas por Carrenho et al (2001), onde observaram aumento do número de esporos entre os anos de 1997 e 2001, em estudo de recuperação de uma área de mata ciliar. Esse resultado foi atribuído ao possível aumento da biomassa das raízes das plantas e conseqüentemente maior produção de fotoassimilados, que pode ter favorecido a colonização e produção de esporos de FMA. De acordo com os autores este fato pode estar relacionado tanto ao aumento do tamanho da planta, como também ao aumento do estágio seral onde o volume de raiz de plantas clímax é maior que o das pioneiras e secundárias.

Esses resultados também podem estar relacionados com a dependência micorrízica, pois a quantidade de esporos de fungos micorrízicos em um solo será baixa quando dominar uma comunidade de plantas não micotróficas, ou micotróficas facultativas em solo fértil, e será alta, quando houver plantas micotróficas facultativas em solos pouco férteis ou quando plantas micotróficas obrigatórias estiverem predominando (JANOS, 1980b).

Tabela 4. Número de esporos de FMA presentes nas subáreas do Jardim Botânico do Recife-PE.

Sub-áreas	Número esporos FMA 100 ⁻¹ g de solo
1	85,50
2	117,00
3	124,25
4	34,00
5	9,50
6	112,33
7	41,50
8	140,75
Média	83,10
Desvio Padrão	26,25
Coeficiente de variação(%)	31,58

A subárea 5 apresenta o maior pH, a maior saturação por alumínio e maior quantidade de matéria orgânica, enquanto que na subárea 8 todos esses valores foram mais baixos, podendo esse fato ter contribuído para a diferença de densidade de esporos entre elas, pois segundo Moreira e Siqueira (2002), os fungos, em condições de estresse, esporulam mais, como forma de perpetuação da espécie.

4.3. Espécies de FMA

Foram encontradas 15 espécies de FMA nas 33 parcelas analisadas, sendo que, em quatro parcelas encontraram-se esporos inviáveis e em pouca quantidade, não sendo contabilizadas nos resultados (Tabela 5). Estes resultados foram semelhante aos obtidos por Melo (2004), onde obteve 17 espécies de FMA, dentre as quais 9 foram as mesmas encontradas neste trabalho sendo elas: *Acaulospora mellea* Spain & Toro, *A. tuberculata* Trappe, *A. scrobiculata* Trappe, *A. foveata* Trappe & Gerd, *Archaeospora leptoticha* Morton & Redecker, *Gigaspora margarita* Becker & Hall, *Glomus taiwanensis* (Wu & Chen) Almeida & Schenck, *G. macrocarpum* Tul. & Tul., *G. microcarpum* Gerd. & Trappe.

Em adição, Lovelock et al. (2003) trabalhando em floresta tropical na Costa Rica, obteve 13 espécies de FMA, onde encontrou também, *A. foveata*, *A. mellea* e *A. tuberculata*, espécies encontradas no presente trabalho.

Houve dificuldade na identificação das espécies de FMA porque muitos esporos estavam inviáveis, visto que a extração foi feita no solo coletado direto do campo. Essa dificuldade para identificação dos esporos provindos da mata foi relatada por Melo (2004) que também teve dificuldade na identificação devido à pequena quantidade de esporos extraídos dos solos. Além disso, Salles e Souza (1998) enfatizam que a caracterização fenotípica pode ser influenciada por condições ambientais e pelo estágio de desenvolvimento dos esporos. Assim, os autores ressaltam a importância do desenvolvimento de ferramentas eficientes para a identificação dos FMA, de forma a minimizar as dificuldades dos estudos relacionados à competição, sobrevivência, dispersão e eficiência das espécies, quando executado em comunidades consideradas complexas, como as encontradas em solos tropicais.

Tabela 5. Nº total de esporos/100g de solo e espécies de FMA encontradas em um fragmento de Floresta Atlântica, Jardim Botânico do Recife-PE

PARCELA	Nº ESPOROS FMA/100g SOLO	ESPÉCIE DE FMA
1	55	<i>Glomus</i> sp. 1
3	45	<i>Glomus</i> sp.1, <i>Glomus</i> sp.2, <i>Scutellospora</i> sp.1
4	79	<i>Glomus</i> sp.1, <i>Glomus</i> sp.2, <i>Acaulospora mellea</i> Spain & Toro
5	189	<i>Glomus</i> sp.1, <i>A. mellea</i>
6	184	<i>Glomus</i> sp.1, <i>A. mellea</i>
7	105	<i>Glomus</i> sp.1, <i>A. mellea</i>
8	66	<i>A. mellea</i> , <i>Gigaspora margarita</i> Becker & Hall
9	351	<i>Glomus</i> sp.1, <i>Glomus</i> sp.3, <i>A. mellea</i>
10	181	<i>Glomus taiwanensis</i> (Wu & Chen) Almeida & Schenck
11	109	<i>Archaeospora leptoticha</i> Morton & Redecker, <i>Glomus</i> sp.1 <i>A. mellea</i>
12	61	<i>Glomus</i> sp.1, <i>Glomus</i> sp.2, <i>A. mellea</i>
13	112	<i>Glomus</i> sp.1, <i>A. mellea</i>
14	119	<i>A. mellea</i> , <i>Glomus</i> sp.1, <i>Glomus</i> sp.2, <i>Acaulospora foveata</i> Trappe & Gerd.
15	106	<i>A. mellea</i> , <i>Glomus</i> sp.1, <i>Glomus</i> sp.2, <i>Acaulospora scrobiculata</i> Trappe
16	110	<i>A. mellea</i> , <i>Acaulospora tuberculata</i> Trappe
17	10	<i>Glomus</i> sp.1, <i>A. mellea</i>
18	14	<i>Glomus</i> sp.1, <i>A. scrobiculata</i> , <i>A. mellea</i> , <i>A. tuberculata</i>
19	4	<i>A. mellea</i>

20	9	<i>Glomus</i> sp.1
21	20	<i>Scutellospora</i> sp
23	36	<i>Glomus.microcarpum</i> Gerd. & Trappe, <i>Glomus</i> sp 1
24	4	<i>Glomus</i> sp1
26	141	<i>Glomus</i> sp.2 , <i>Glomus</i> sp.1, <i>G. microcarpum</i>
27	160	<i>A. mellea</i> , <i>A. tuberculata</i> , <i>G. microcarpum</i> <i>Glomus</i> sp. 1
28	91	<i>Acaulospora lacunosa</i> , <i>A. mellea</i>
29	235	<i>A. lacunosa</i> , <i>A. mellea</i> , <i>Glomus</i> sp.1
30	77	<i>Glomus macrocarpum</i> Tul. & Tul., <i>Acaulospora lacunosa</i> , <i>A. mellea</i>
38	560	<i>A. mellea</i> , <i>Acaulospora foveata</i>
39	13	<i>A. mellea</i> , <i>Acaulospora scrobiculata</i>
Média	1083	
Desvio Padão	115,17	

Acaulospora, *Scutellospora*, *Sclerocystis*, *Entrophospora* e *Gigaspora*. Da mesma forma, Carrenho et al. (2001), constataram que o gênero *Glomus* apresentou o maior número de espécies, seguindo-se de *Acaulospora*, *Scutellospora*, *Gigaspora* e *Entrophospora*. Posteriormente, Caproni et al. (2003), trabalhando em áreas revegetadas no Pará, observaram que *Glomus* foi o gênero com maior número de espécies em todas as áreas amostradas, seguido pelos gêneros *Acaulospora*, *Entrophospora*, *Scutellospora*, *Gigaspora* e *Archaeospora*.

Melo (2004), em remanescentes de Floresta Atlântica, observou maior frequência de *Acaulospora* e *Glomus*; Goto e Maia (2005), em remanescentes de Floresta Atlântica e em áreas cultivadas, no nordeste brasileiro, encontraram cinco espécies de *Glomus*. Da mesma forma, Duponnois et al. (2001) encontraram o *Glomus* como o gênero de maior número total de esporos na região do Senegal, só diferindo de Lovelock et al. (2003) que encontrou *Acaulospora* como o gênero dominante em floresta tropical, porém poucos esporos de espécies do gênero *Glomus*.

O aparecimento freqüente desses taxons pode ser atribuído a sua maior quantidade de espécies, a sua natural ocorrência nesse tipo de vegetação tropical e a sua resistência e adaptação a ambientes estressados. De acordo com Caproni et al. (2003) as espécies do gênero *Acaulospora*, sobretudo a *A. mellea*, estão mais adaptadas ao período inicial de revegetação. Além disso, Moreira e Siqueira (2002) afirmam que *Glomus* e *Acaulospora* apresentam maior dominância em ambientes alterados. Em adição, Souza et al. (2003),

trabalhando em área de Caatinga, constataram que a distribuição de Acaulosporaceae e Glomeaceae ocorreu em solos com baixo pH e/ou baixo teor de fósforo, como é o caso do solo desse estudo.

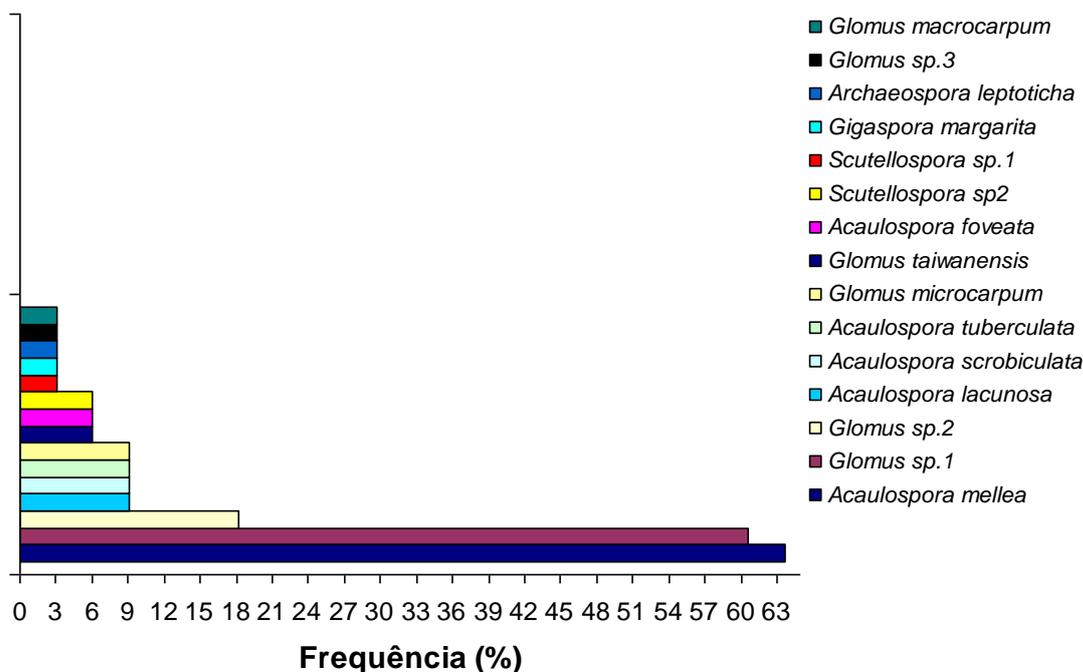


Figura 5. Frequência das espécies de FMA encontradas em parcelas plotadas no Jardim Botânico do Recife, PE.

Na área, foi observada também uma variação de espécies de FMA nas rizosferas das plântulas recém emergentes coletadas para avaliação de colonização micorrízica (Tabela 6). Segundo Husband et al. (2002), trabalhando com plântulas recém emergentes e plantas com cinco anos de idade, observou que a rizosfera de plantas recém emergentes parece apresentar maior uniformidade na distribuição de espécie de FMA, sendo mais alta riqueza de espécie por amostra, enquanto que plântulas com cinco anos de idade são quase, exclusivamente, dominadas (82%) por uma espécie. Podendo então esse fato explicar a quantidade de espécies de FMA presentes nas plântulas do presente estudo.

Tais resultados também podem estar associados às espécies de plantas estudadas, pois, sugere-se que as diferentes espécies de plantas hospedeiras

poderiam ter criado um microclima próprio na sua rizosfera, favorecendo assim o estabelecimento de determinadas espécies de FMA (CARRENHO et al., 2001). Caproni et al. (2003) relatam que numa área em revegetação, houve predomínio de espécies do gênero *Acaulospora*, em especial *A.mellea*, em rizosfera de plantas com características de espécies pioneiras. Ocorreu também o predomínio dessa mesma espécie de FMA nas rizosferas de todas as espécies vegetais estudadas no presente trabalho, independente da área sucessional

Segundo Moreira e Siqueira (2002), como a biota do solo é muito sensível à mudanças no ambiente, o estudo da dinâmica, diversidade e ocorrência de FMA é complexo e de difícil mensuração, tendo em vista também a complexa natureza do solo que é heterogênea. Os autores acrescentam que se deve levar em consideração fatores que são intrínsecos e de influência a estes microrganismos, além de técnicas mais eficazes para a avaliação da interação micorrízica e ocorrência de tais fungos.

Esta dificuldade foi relatada por Abbott e Gazey (1994) para o entendimento da competição pela interação com FMA em solo de campo, relatando que mudanças nas condições do solo poderão modificar a dominância de um fungo particular durante a formação micorrízica em solo de campo, e sendo o distúrbio, intencional ou não, tornar-se-á fonte de mudanças consideráveis nas propriedades físicas, químicas e biológicas do solo. Os autores afirmam que, além disso, tais mudanças devem ser consideradas de forma a contribuir na elaboração de um provável modelo para a avaliação da ocorrência e colonização das raízes da planta pelo fungo micorrízico. Segundo os autores será necessário entender padrões e processos envolvidos no estabelecimento, manutenção e mudanças na população de fungos micorrízicos no solo.

Tabela 6 . Variação do número total de esporos em 100g de solo de rizosfera, com respectivas espécies de FMA e porcentagem de colonização micorrízica detectadas nas espécies florestais de maior frequência na regeneração natural, em relação à classe sucessional, no Jardim Botânico do Recife, PE.

ESPÉCIE VEGETAL		FAMÍLIA	CLASSE SUCESSIONAL	NÚMERO DE ESPOROS	%COLONIZAÇÃO MICORRÍZICA	FMA ASSOCIADOS
Nome científico	Nome vulgar					
<i>Brosimum discolor</i> (Schott)	Quirí	Moraceae	Pioneira	78,80	14,40	<i>Glomus</i> sp. 1, <i>Glomus taiwanensis</i> , <i>Acaulospora tuberculata</i> , <i>A. mellea</i>
<i>Helicostylis tomentosa</i> (Poepp.& Endl.) Macbride	Amora do mato	Moraceae	Pioneira	86,2	29,20	<i>Glomus microcarpum</i> , <i>Glomus</i> sp 1, <i>A. mellea</i> , <i>A. tuberculata</i>
<i>Diallium guianensis</i> (Aubl.) Sandw.	Pau-ferro da mata	Leguminosae - Caesalpinoideae	Secundária inicial	140,20	31,80	<i>Glomus</i> sp.2 , <i>A. scrobiculata</i> <i>Glomus macrocarpum</i> , <i>A. mellea</i> , <i>Glomus taiwanensis</i> , <i>A. lacunosa</i> , <i>Glomus</i> sp.1 , <i>Glomus</i> sp.2. <i>Glomus</i> sp.3
<i>Siparuna guianensis</i> Aubl.	Cafezinho	Monimiaceae	Secundária inicial	124,60	36,00	<i>A. mellea</i> , <i>A. foveata</i> , <i>Glomus</i> sp. 1
<i>Eschweilera ovata</i> (Camb.) Miers	Embiriba	Lecythidaceae	Secundária tardia	37,80	30,00	<i>Glomus</i> sp. 1, <i>A. mellea</i>
<i>Sorocea hilarii</i> gaudich	Sorocea	Moraceae	Secundária tardia	144,20	13,29	<i>G. taiwanensis</i> , <i>Glomus</i> sp.1, <i>Glomus</i> sp.3 , <i>A. mellea</i> .
<i>Média</i>				101,97	25,78	
<i>Desvio Padrão</i>				41,62	9,54	
<i>Coeficiente de Variação (%)</i>				40,82	37,03	

4.4. Colonização micorrízica

As espécies arbóreas apresentaram percentagens de colonização que variaram de 14,4% a 36,0% (Figura 6). As porcentagens encontradas foram classificadas em: muito alta (> 80%), alta (60 - 79%), média (40 - 59%), baixa (20 - 39%) e muito baixa (1 - 19%), de acordo com ZANGARO et al. (2002).

Desse modo, considerando a porcentagem média de colonização constatada para cada espécie da regeneração natural, elas foram classificadas como:

Muito baixa: *Brosimum discolor* (Quiri) – pioneira e *Sorocea hilarii* (*Sorocea*) - secundária tardia

Baixa: *Eschweilera ovata* (Embiriba) - secundária tardia, *Helicostylis tomentosa* (Amora do mato) - pioneira, *Dialium guianensis* (Pau-ferro da mata) e *Siparuna guianensis* (Cafezinho) - secundárias iniciais.

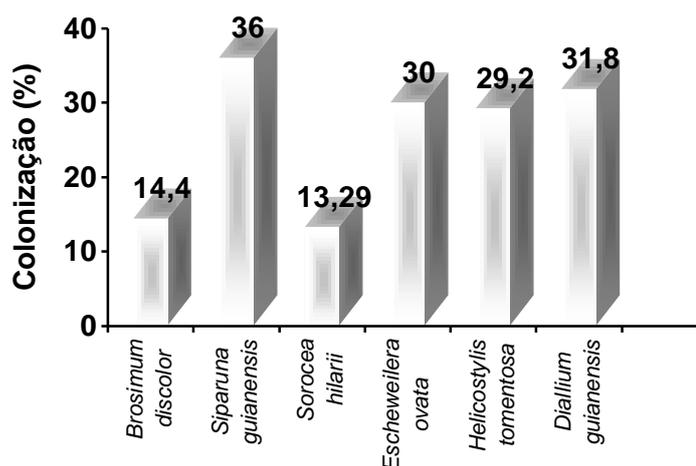


Figura 6. Porcentagem de colonização micorrízica na regeneração das espécies florestais coletadas no Jardim Botânico do Recife, PE.

Os resultados obtidos não mostraram diferenças na porcentagem de colonização entre as classes sucessionais. Podem ser considerados então, as diferentes condições micorrízicas encontradas entre as espécies estudadas (Tabela 6). Mesmo baixa, a maior porcentagem de colonização foi obtida nas raízes de *Siparuna guianensis*, uma espécie secundária inicial (Figura 6), diferindo dos resultados de Zangaro et al. (2002), quando observaram colonização de alta a média entre as espécies arbóreas secundárias iniciais,

mas assemelhando-se aos mesmos autores que encontraram ausência, média, baixa e muito baixa para as espécies secundárias tardias, que no caso desse trabalho foi encontrado para a *Eschweilera ovata* e *Sorocea hilarii*.

Portanto, apenas o resultado encontrado na espécie secundária tardia apresentou semelhança aos resultados de Zangaro et al. (2005), onde trabalhando em mata tropical, no Paraná, encontrou plantas pertencentes ao início da sucessão apresentando mais alto grau de colonização micorrízica que plantas pertencentes ao estágio avançado de sucessão, sugerindo que a relação está entre o sistema radicular das plantas, onde mudas de plantas pioneiras e secundárias possuem sistema radicular longo, com grande área de absorção e sementes com baixas reservas nutricionais, ocorrendo em ambientes abertos; enquanto que mudas secundárias tardias e clímax, possuem sistema radicular curto, com sementes com altas reservas nutricionais, ocorrendo na fase madura da floresta apresentando pequeno ou nenhuma colonização micorrízica.

Em adição, Gehring (2004) comenta a necessidade de entender o papel de sementes no desenvolvimento da simbiose com FMA.

Siqueira et al. (1998), estudando a presença de fungos micorrízicos em espécies florestais no Sudeste do Brasil, salientaram que espécies de plantas de estágio sucessional avançado demonstraram baixa susceptibilidade à colonização e baixo grau de micotrofismo. Porém, Janos (1980a), trabalhando com plantas de floresta tropical, afirma que espécies pioneiras são micotróficas facultativas e/ou não micotróficas porque elas são provavelmente capazes de obter melhor vantagem na captação de nutrientes minerais, relatando a importância de micorrizas arbusculares (MA) para o crescimento vegetal em floresta madura. Segundo o autor, esta associação além de ser eficiente na aquisição de nutrientes em solos com baixa fertilidade, a maioria das espécies arbóreas de floresta madura parece ser micotrófica obrigatória, não se desenvolvendo na ausência desse fungo.

Em geral, a dependência micorrízica e a especificidade do hospedeiro e fungo podem afetar a seqüência em que o estabelecimento da associação e a tendência da distribuição local acontecem (JANOS, 1980b). Se o hospedeiro é micotrófico obrigatório, a associação está previamente limitada pela sobrevivência dos parceiros quando associados. Isso é confirmado por Chaves

e Borges (2001/2002), trabalhando com Jacarandá-da-bahia onde testou o micotrofismo desta planta, constatando a sua dependência micorrízica, principalmente em solos pobres em fósforo.

Segundo Siqueira et al. (1998), considerando o alto grau de micotrofismo das espécies, a micorriza pode afetar a capacidade e a competitividade individual das plantas na comunidade, podendo ocorrer então a sucessão, como consequência da interação fungo micorrízico e planta, e essa colonização micorrízica pode ser uma proveitosa ferramenta para o crescimento da planta e desenvolvimento no reflorestamento tropical.

Foi feita a correlação entre o número de esporos e a colonização micorrízicas das espécies florestais conforme consta na Tabela 7. Os resultados mostram que o número de esporos não está correlacionado à colonização micorrízica das espécies florestais estudadas, podendo ser atribuído à colonização acontecer por meio de outras fontes de inóculo, tais como hifa fúngica e fragmentos de raízes colonizadas pelo fungo micorrízico, pois essas plântulas são pertencentes à regeneração da área, que se apresenta muito intensa, estando os sistemas radiculares muito próximo uns aos outros. Marinho et al. (2004), trabalhando com as espécies florestais *Acacia mangium* Willd e *Sclerolobium paniculatum* Vogel, inoculadas com FMA, constatou correlação positiva entre a colonização micorrízica e o número de esporos da rizosfera dessas espécies. Neste estudo houve correlação positiva, porém não foi significativa, para as espécies *Eschweilera ovata* e *Helicostylis tomentosa*.

Tabela 7. Correlação entre o número total de esporos de FMA e a colonização micorrízica nas espécies florestais da regeneração natural do Jardim Botânico do Recife, PE

ESPECIES	Correlação
<i>Brosimum discolor</i>	-0,89**
<i>Dialium guianensis</i>	-0,59 ns
<i>Escheweilera ovata</i>	0,06 ns
<i>Helicostylis tomentosa</i>	0,15 ns
<i>Siparuna guianensis</i>	-0,53 ns
<i>Sorocea hilarii</i>	-0,18 ns

** Significativo a 1% ($p \leq 0,01$). Dados de número de esporos foram transformados $\sqrt{x+0.5}$ e colonização, transformação angular: $\arcsin(\sqrt{x}/100)$

4.5 Número Mais Provável (NMP) de propágulos infectivos de FMA

Com base na amostragem realizada no Jardim Botânico do Recife, constatou-se que algumas parcelas apresentaram esporos inviáveis. No entanto, foi observada colonização micorrízica nas plântulas contidas nessas parcelas. Assim, é possível sugerir que a colonização teve origem a partir de outros propágulos tais como micélios e/ou pedaços de raízes colonizadas, pois no local, a regeneração é grande, havendo grande contingente de plântulas emergentes, com sistemas radiculares muito próximos, facilitando assim a colonização entre os indivíduos. Este fato também foi constatado por Rodrigues et al. (2003), em experimento com *Eucalyptus grandis* (Eucalipto) e *Sesbania virigata* (Sesbânia), colocou sistemas radiculares de plantas inoculadas com FMA e rizóbios juntos aos sistemas radiculares de plantas não-inoculadas, e observou interconexão de hifas, e constatou colonização micorrízica e nodulação nas raízes das plantas não inoculadas. De acordo com Janos (1980b), em florestas tropicais úmidas, a taxa de colonização por germinação de esporos diminui, pois o fungo coloniza mais rapidamente por crescimento micelial.

Nesse sentido, o emprego do bioensaio para a avaliação do número mais provável de propágulos infectivos de FMA, permitiu avaliar a capacidade infectiva do solo e o comportamento dos fungos na área, constatando-se que o

número de propágulos foi inferior ao número de esporos de FMA, só diferindo das sub-áreas 4 e 5 (Tabela 8). Resultados semelhantes foram encontrados por Silva et al. (2001), em área de Caatinga. E, de acordo com Caproni et al. (2003), a capacidade infectiva dos fungos micorrízicos arbusculares não está relacionada apenas com o número de esporos. Possivelmente esporos inviáveis, dormentes ou imaturos tenham sido contados, não sendo detectados pela técnica do NMP. Outro fator a ser atribuído é o fato de que os esporos possuem mais resistência que outros tipos de propágulos, podendo permanecer no solo por mais tempo (SILVA et al., 2001). Obteve-se uma média de 47,50 de propágulos infectivos de FMA por 100g de solo, sendo superior ao encontrado por Souza et al. (2003), os quais registraram 1,62 propágulos infectivos de FMA em área de caatinga. Silva et al. (2001) também registraram 7 a 10 propágulos infectivos de FMA, em área de caatinga, na estação chuvosa.

Tabela 8. Relação de número de esporos e número mais provável de propágulos infectivos encontrados nas amostras de solo de oito sub-áreas do Jardim Botânico do Recife, PE

Subáreas	Nº FMA/100g solo	NMP(propágulo/100 de solo)
1	85,50	35,00
2	117,00	7,00
3	124,25	18,00
4	34,00	>160,00
5	9,50	11,00
6	112,33	92,00
7	41,50	35,00
8	140,75	22,00
Média	83,10	47,50
Desvio Padrão	48,66	52,70
Coeficiente de variação (%)	58,56	110,95

4.6. Diversidade fenotípica de rizóbios

Considerando a metodologia proposta, foram obtidos 49 isolados de rizóbios na área do Jardim Botânico do Recife. O agrupamento das características fenotípicas desses 49 isolados (Figura 7), revelou a existência de 8 grupos fenotípicos distintos, como esquematizado na Tabela 9.

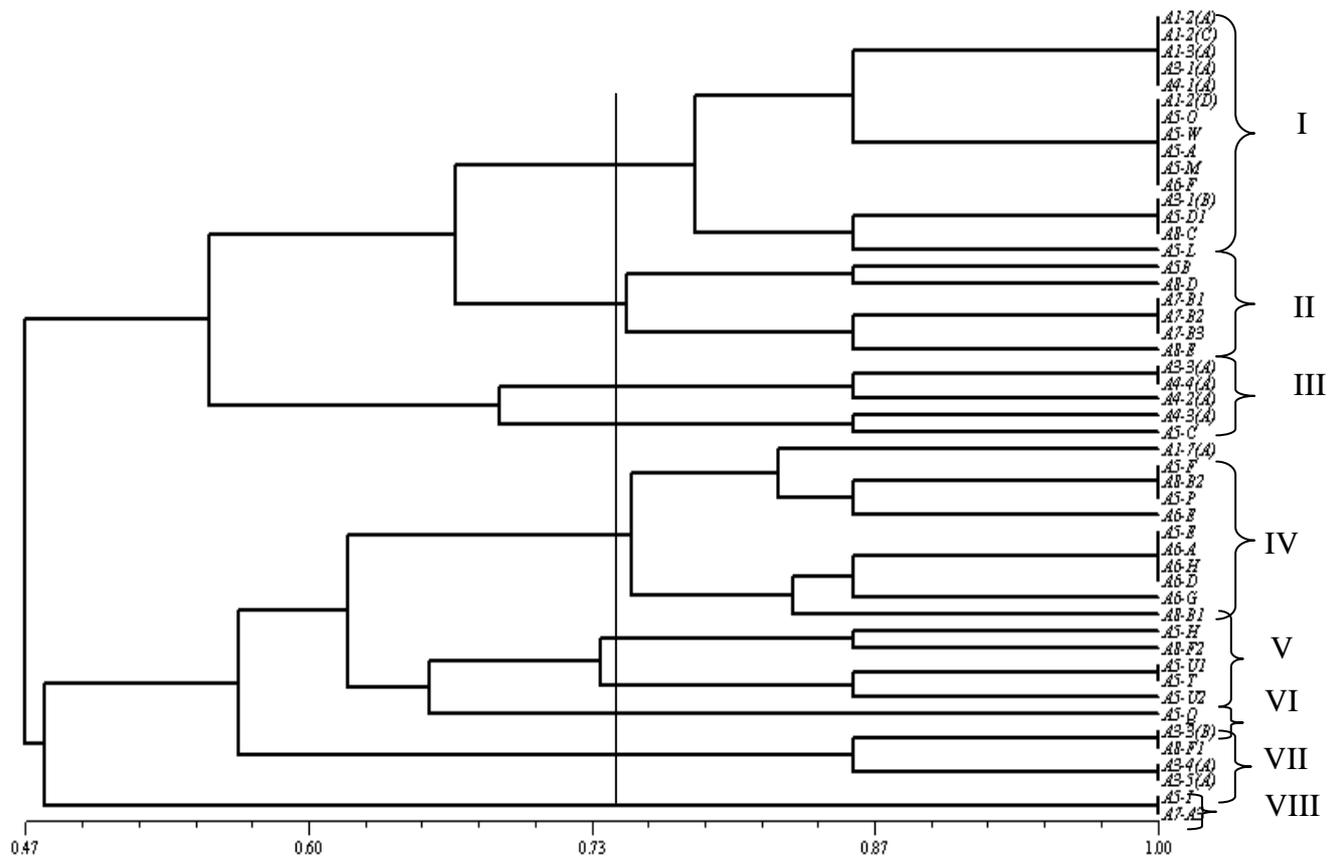


Figura 7. Dendrograma dos grupos de especificidade hospedeira elaborado pelo algoritmo *UPGMA* e matriz de similaridade *Jaccard* mostrando a similaridade entre 49 isolados de rizóbios obtidos de nódulos de raízes de plantas de caupi (*Vigna unguiculata*) cultivadas com solo de um fragmento de Mata Atlântica em regeneração no Jardim Botânico do Recife, PE.

Tabela 9. Caracterização fenotípica dos oito grupos de isolados de rizóbios provenientes do Jardim Botânico do Recife - PE

CARACTERÍSTICAS	GRUPOS FENOTÍPICOS							
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII
Tempo cresc. (dias)	1	2	1	1	1	1	1	2
Tam. colônia (mm)	puntiforme	puntiforme	2	2,5	puntiforme	puntiforme	puntiforme	puntiforme
Cor da colônia	amarela	branca	amarela	amarela	amarela	amarela	amarela	branca
pH	neutro	ácido	neutro	neutro	neutro	ácido	ácido	neutro
Transparência	Não	não	não	sim	sim	sim	sim	não
Elevação	Não	sim	não	não	sim	sim	sim	não
Presença de muco	Não	não	não	sim	sim	não	sim	sim

Dos oito grupos encontrados neste trabalho, cinco não apresentaram reação, caracterizando pH neutro e os três restantes acidificaram o meio de cultura. De maneira geral, a maioria dos isolados obtidos apresentou crescimento rápido (1 e 2 dias), ausência de reação (pH neutro) em meio de cultura e colônias de cor amarela, (Figuras 8 e 9). Esses resultados diferem dos encontrados por Jordan (1984) que afirma que os rizóbios de crescimento rápido tendem a acidificar o meio de cultura, enquanto que os de crescimento lento tendem a alcalinizar. Tal fato também foi observado por Wolde-Meskel et al. (2004), onde 68% dos isolados foram de rápido crescimento, produzindo ácido, enquanto que 25% de crescimento lento alcalinizaram o meio. Por outro lado, Martins (1996) observou que a mudança ao pH do meio de cultura pelos rizóbios isolados de caupi da região semi-árida do Nordeste do Brasil foi independente da velocidade de crescimento da bactéria.

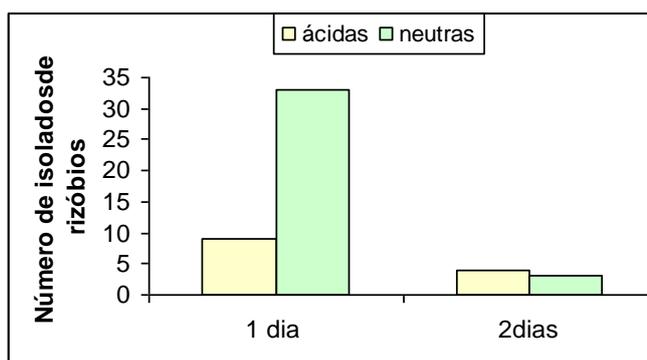


Figura 8. Número de isolados com reação ácida e neutra em relação ao tempo de crescimento.

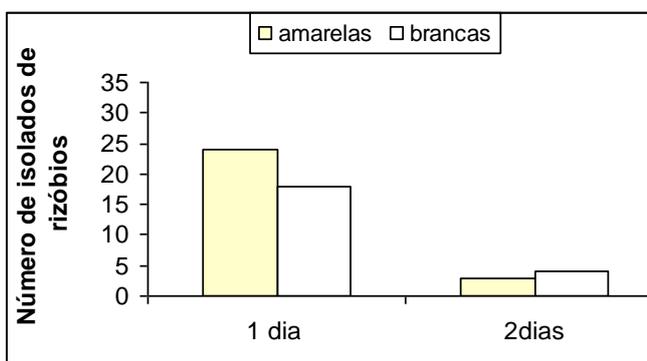


Figura 9. Número de isolados com colônias amarelas e brancas, em relação ao tempo de crescimento.

As amostras de solo utilizado neste trabalho apresentam pH baixo, nesse caso, parece que as bactérias tendem a alcalinizar ou simplesmente não modificam o pH do meio de cultura como demonstrado por (Martins, 1998).

Neves, et al. (1998) relatam que a maioria dos isolados, provenientes da Zona da Mata do Nordeste do Brasil, apresentaram reação alcalina em meio de cultura, o que não foi constatado no presente estudo.

O tempo de crescimento dos isolados de rizóbios encontrados foi rápido, de um a dois dias, como constatado também em Wolde-Meskel et al. (2004), onde todos os isolados de rizóbios de *Vigna unguiculata* (caupi) em locais com características semi-áridas e tropicais úmidas tiveram crescimento rápido. Ao contrário, Neves et al. (1998) observaram que, a maioria dos isolados provenientes da Zona da Mata do Nordeste do Brasil foram de crescimento lento, assim como Martins (1996), trabalhando com isolados também de solos do Nordeste brasileiro incluindo a Zona da Mata, verificou que cerca de 80% dos isolados foram de crescimento lento.

Os rizóbios que nodulam o caupi, constituindo a “miscelânea caupi” geralmente possui o crescimento lento (em média dez dias), pertencendo ao gênero *Bradyrhizobium* (MOREIRA e SIQUEIRA, 2002), diferindo dos resultados obtidos no presente estudo.

Na área estudada, há presença de uma forte intervenção antrópica, podendo esse resultado sugerir que a característica de crescimento rápido desses isolados seja uma maneira de aumentar a sua sobrevivência neste ambiente como observado por Sprent (1994), em ambientes tropicais.

Martins (1996), trabalhando com isolados de caupi na região semi-árida nordestina, observou que isolados que possuíam crescimento rápido, mostraram-se resistentes à alta temperatura, salinidade e a antibióticos. Desse modo, pode-se inferir que os microrganismos têm a propriedade de se adaptar ao ambiente em que se encontram. Essa característica foi comprovada por Stamford e Silva (2000) onde foi desnecessária a calagem no cultivo de sabiá em solos ácidos, quando usadas estirpes selecionadas visando a resistência à acidez.

No presente trabalho 50% dos grupos de isolados apresentaram presença de muco, sendo, em parte, semelhante aos resultados encontrados em Martins (1996), onde foram encontrados isolados mucóides na Zona da Mata nordestina, sendo os isolados de superfícies secas encontrados nos solos do Sertão. Essas estirpes que formam muco parecem ser mais eficientes em fixar N_2 do que as estirpes do tipo secas, sob condições salinas (Sinclair e Eaghesham, 1990), precisando, porém ainda ser comprovado.

Os resultados obtidos com os diferentes grupos fenotípicos foram utilizados para a realização de um estudo de diversidade usando-se os índices de riqueza de Margalef e o índice de Shannon-Weaver para abundância relativa.

Os grupos fenotípicos mais abundantes (Figura 10) foram os grupos 1 representados pelas bactérias com crescimento rápido (um dia) com pH neutro no meio de cultura, cor da colônia amarela, com aparência opaca, sem elevação da colônia e sem produção de muco e o grupo 4, representado pelas bactérias com crescimento também em um dia, com pH neutro no meio de cultura, cor da colônia amarela, transparentes, com elevação e com produção de muco.

O índice de Margalef revelou um alto grau de riqueza dos grupos fenotípicos de rizóbios, indicando uma alta diversidade de rizóbios na área. Este fato é importante para um grupo de microrganismos que desempenha uma função específica, como é o caso da capacidade dos rizóbios em fixar nitrogênio, sugerindo que frente a um impacto ambiental ou um estresse, a alta diversidade de rizóbios, deve ser capaz de manter a capacidade de FBN através da sobrevivência de alguns grupos específicos (SANTOS, 2001).

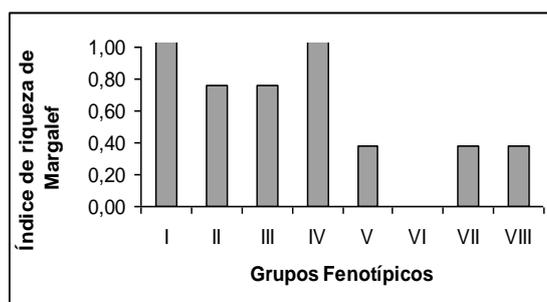


Figura 10. Índice de riqueza de Margalef dos grupos fenotípicos encontrados no solo do Jardim Botânico do Recife-PE.

Há evidências da redução da diversidade de rizóbios causada pelo uso do solo. Ribeiro et al. (2000) encontraram, no Rio de Janeiro, baixa diversidade de rizóbios nativos da Mata Atlântica, em áreas próximas da cidade, concluindo que o impacto antropogênico, como o desmatamento, possivelmente contribuiu para uma redução da diversidade dessas bactérias.

Alguns índices de diversidade podem ser usados para estudar a estabilidade de um ecossistema frente a um distúrbio ambiental, como é o caso da área em estudo, apresentando-se bastante antropizado e com muitas espécies vegetais ainda em estágio de regeneração. É provável que isso tenha afetado a diversidade dos microrganismos, pois as características eram bastante variáveis ao longo da área como mostra a Figura 11, onde se verifica a diversidade nas oito subáreas avaliadas.

Nas subáreas 2, 3 e 7 a diversidade de rizóbio foi totalmente comprometida enquanto a área 5 parece estar favorecendo a diversidade de rizóbio (Figura 11). Embora área apresente menor sinal de estresse, esse fato isoladamente não explica os resultados obtidos, pois esta característica assemelha-se as áreas 2 e 7. O que pode então estar influenciando são as espécies arbóreas hospedeiras presentes no local (Liu et al., 2005) e/ou atributos químicos do solo, pois nessa área o teor de alumínio foi abaixo de 1, o pH em torno de 5, e o teor de matéria orgânica foi um pouco mais elevado do que nas outras áreas, e estes resultados não prejudicam o desenvolvimento de plantas e rizóbios tropicais. As demais áreas tiveram valores de alumínio acima de 1 e pH em torno de 4, evidenciando então que a acidez do solo influenciou a sobrevivência e diversidade de rizóbios nativos (BALA et al., 2003b; DILWORTH et al., 2001), afetando a sua habilidade competitiva (STONE e COOPER, 1997), sua persistência, nodulação e fixação de nitrogênio em leguminosas (TAURIAN et al., 1998) e sua taxa de crescimento (WATKIN et al., 1997).

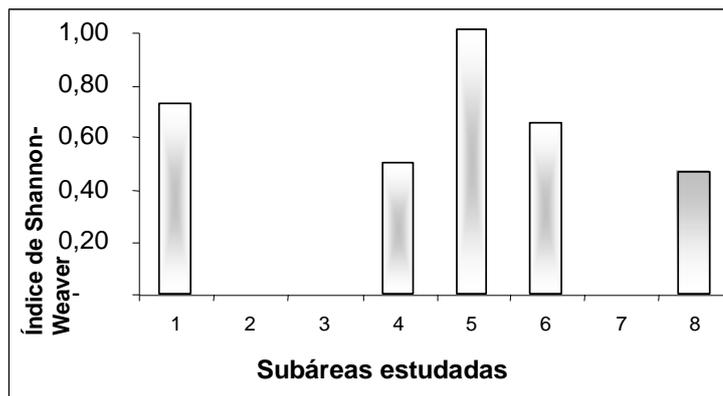


Figura 11. Índice de diversidade (H') dos grupos de rizóbios isolados nas amostras de solo analisadas, oriundas do Jardim Botânico do Recife – PE.

Observa-se que as bactérias que se desenvolveram, mesmo em baixa diversidade, nas subáreas onde apresentou maior acidez, podem representar estirpes mais adaptadas, sendo resistentes a essa característica local, que muitas vezes é fator limitante para a maioria das estirpes de rizóbios, possuindo grande potencial como inoculante em áreas que precisam ser recuperadas, com características de acidez elevada (Figura 12).

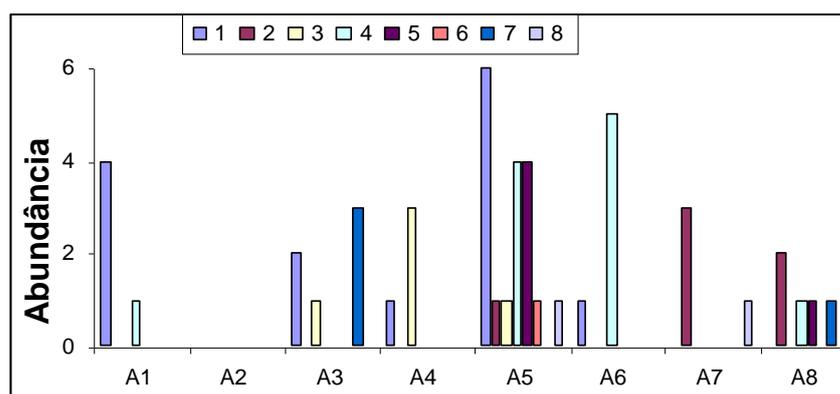


Figura 12. Abundância de cada grupo de isolados de rizóbio em cada subárea do Jardim Botânico do Recife-PE.

As populações de FMA e de rizóbios apresentaram comportamento diferente. Na sub-área 5 onde foi observada maior a diversidade de rizóbios, houve menor número de esporos e a segunda menor quantidade de propágulos infectivos de FMA, uma vez que essa sub-área representava uma das sub-áreas com menos indícios de intervenção antrópica, com o pH mais alto, menor teor de alumínio e maior teor de matéria orgânica, enquanto que na sub-área 4, onde também estava evidenciado o estresse, o NMP foi mais alto, apresentando o menor número de esporos de FMA e intermediária diversidade de rizóbios.

Em geral, os fungos preferem pH mais baixo, enquanto que bactérias preferem pH menos ácidos; também o excesso de matéria orgânica pode inibir o desenvolvimento de fungo micorrízico, pois, como este possui a função de extrator natural de nutrientes de pouca mobilidade no solo para as plantas, com a decomposição da matéria orgânica, esses nutrientes são disponibilizados facilmente para as plantas não necessitando assim do fungo para captá-los.

Assim, essas características podem ter influenciado na diferença de comportamento entre os rizóbios e os fungos micorrízicos, podendo-se inferir, portanto, que de um modo geral, as condições ambientais que favorecem a ocorrência e/ou diversidade de rizóbios em uma área, nem sempre são favoráveis à presença de propágulos de FMA.

5. CONCLUSÕES

De acordo com os resultados obtidos no estudo de diversidade de micorrizas e rizóbios na área de Floresta Atlântica em regeneração, no Jardim Botânico do Recife – PE, pode-se concluir que:

As espécies arbóreas mais freqüentes na regeneração natural da área, *Brosimum discolor*, *Helicostylis tomentosa*, *Dialium guianensis*, *Siparuna guianensis*, *Eschweilera ovata* e *Sorocea hilarii*, formam associação micorrízica, podendo ser indicadas em programas de reflorestamento de áreas com características semelhantes;

A infectividade de fungos micorrízicos arbusculares (FMA) encontradas na área, varia e não está relacionada apenas com a propagação do fungo por esporos;

Os índices de diversidade utilizados mostraram que os rizóbios são sensíveis a mudança no ecossistema, podendo ser um indicador biológico de estabilidade de ecossistemas;

Tanto a diversidade de FMA, quanto à presença de propágulos infectivos de FMA e a diversidade de rizóbios, apresentando rápido crescimento, revela resiliência na área, indicando que esse ecossistema está em processo de regeneração.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABBOTT, L. K.; GAZEY, C. An ecological view of the formation of VA mycorrhizas. **Plant and Soil**, v. 159, p. 69 – 78, 1994.

ALLEN, M. F., HIPPS, L. E., WOOLDRIDGE, G. L. Wind dispersal and subsequent establishment of VA mycorrhizal fungi across a sucessional arid landscape. **Landscape Ecology**, v.2, n.3, p.165 – 171, 1989.

ALMEIDA, D. S. **Recuperação Ambiental da Mata Atlântica**. Ilhéus: Editus, 2000. 130 p.

ANJOS, E. C. T. dos; CAVALCANTE, U. M. T.; SANTOS, V. F. dos; MAIA, L. C. Produção de mudas de maracujazeiro-doce micorrizadas em solo desinfestado e adubado com fósforo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 40, n.4, p.345-351, 2005.

AZEVEDO, J. L. Biodiversidade microbiana e potencial biotecnológico. In: MELO, I. S. de; AZEVEDO, J. L. de, eds.. **Ecologia microbiana**. Jaguariúna: Embrapa – CNPMA, 1998. p. 423 – 441.

BALA, A.; MURPY, P.J.; OSUNDE, A.O.; GILLER, K.E. Nodulation of tree legumes and the ecology of their native rhizobial populations in tropical soils. **Applied Soil Ecology**, v.22, p. 211–223, 2003a.

BALA, A.; MURPY, P.J.; GILLER, K.E. Distribution and diversity of rhizobia nodulating agroforestry legumes in soils from three continents in the tropics. **Molecular Ecology**, v.12, p.917-930, 2003b.

BRAZIL, C. **Situação da Mata Atlântica**. Acesso em 04 de setembro de 2004. Disponível em < www.universiabrasil.net >

BURITY, H. A.; LYRA, M. C. C. P. de; SOUZA, E. S. de; MERGULHÃO, A. C. E. S.; SILVA, M. L. R. B. da. Efetividade da inoculação com rizóbio e fungos micorrízicos arbusculares em mudas de sabiá submetidas a diferentes níveis de fósforo. **Pesquisa agropecuária brasileira**, Brasília, v.35, n.4, p.801-807, 2000.

CAMPELLO, E. F. L. O papel das leguminosas arbóreas noduladas e micorrizadas na recuperação de áreas degradadas – Parte I. In: BALENSIEFER, M. (Coord.) (Ed.) **Recuperação de áreas degradadas**. Curitiba: 1996. p.11-16.

CARDOSO, E. J. B. N.; FREITAS, S. S. A rizosfera. In: CARDOSO, E. J. B. N.; TSAI, S. M.; NEVES, M. C. P. **Microbiologia do Solo**. Campinas: Sociedade Brasileira de Ciências do Solo, 1992. p. 41-57.

CARDOSO, E. J. B. N. Ecologia microbiana do solo. In: CARDOSO, E. J. B. N.; TSAI, S. M.; NEVES, M. C. P. **Microbiologia do Solo**. Campinas: Sociedade Brasileira de Ciências do Solo, 1992. p. 121-140.

CAPRONI, A. L.; FRANCO, A. A.; BERBARA, R. L. L.; TRUFEM, S. B.; GRANHA, J. R. D. O.; MONTEIRO, A. B. Ocorrência de fungos micorrízicos arbusculares em áreas revegetadas após mineração de bauxita em Porto Trombetas, Pará. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 38, n. 12, p. 1409-1418, 2003.

CARNEIRO, M. A. C.; SIQUEIRA, J. O.; DAVIDE, A. C.; GOMES, L. J.; CURI, N.; VALE, F. R. Fungos micorrízicos e superfosfato no crescimento de espécies arbóreas tropicais. **Scientia Florestalis**, n. 50, p. 21-36, dez., 1996.

CARENHO, R.; TRUFEM, S. F. B.; BONONI, V. L. R. Fungos micorrízicos arbusculares em rizosferas de três espécies de fitobiontes instaladas em áreas de mata ciliar revegetada. **Acta Botanica Brasilica**, v.1, n.15, p.115 – 124, 2001.

CHAVES, L. F. C.; BORGES, R. C. G. Eficiência micorrízica na produção de mudas de jacarandá-da-bahia cultivadas em diferentes doses de fósforo. **Acta Sci. Agronomy**, v.27, n.4, p.587-595, 2005.

CHAVES, L. F. C. ; BORGES, R. C. G. Produção de matéria seca e dependência micorrízica de mudas de jacarandá-da-bahia em resposta à inoculação com fungos micorrízicos arbusculares em diferentes níveis de fósforo. **Ciência agrícola**, v.6, n.1, p.51-58, 2001/2002.

CHAVES, L. F. C. Absorção de fósforo por mudas de jacarandá-da-bahia (*Dalbergia nigra* (Vell.) Fr. Allem.) e de Vinhático (*Plathymenia foliosa* Benth.) na presença de *Gigaspora margarita* Gerd. E Taxt. **Tese** (Doutorado em Ciência Florestal) Universidade Federal de Viçosa. 1996.

CHAVES, L. F. C.; BORGES, R. C. G.; NEVES, J. C. L.; REGAZZI, A. J. Crescimento de mudas de Jacarandá-da-bahia (*Dalbergia nigra* (vell.) Fr. Allem.) em resposta à inoculação com fungos micorrízicos vesículo-arbusculares em diferentes níveis de fósforo no solo. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 19, n. 1, p. 32-49, 1995.

CORKIDI, L.; RINCÓN, E. Arbuscular mycorrhizae in a tropical sand dune ecosystem on the Gulf of México. **Mycorrhiza**, v.7, p. 9-15, 1997.

COSTA, C. M. C.; CAVALCANTE, U. M. T.; GOTO, B. T.; SANTOS, V. F. dos; MAIA, L. C. Fungos micorrízicos arbusculares e adubação fosfatada em mudas de mangabeira. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 40, n.3, p.225-232, 2005.

DILWORTH, M. J.; HOWIESON J. G.; REEVE W. G.; TIWARI, R. P.; GLENN A. R. Acid tolerance in legume root nodule bacteria and selecting for it. **Australian Journal of experimental agriculture**, v. 41, n.3, p.435-446, 2001.

DROZDOWICZ, A. Bactérias do solo. In: VARGAS, M. A. T.; UNGRIA, M. (Eds). **Biologia dos solos dos cerrados**. 1997. p. 19-65.

DUPONNOIS, R.; PLENCHETTE, C.; THIOULOUSE, J.; CADET, P. The mycorrhizal soil infectivity and arbuscular mycorrhizal fungal spore communities in soils of different aged fallow in Senegal. **Applied Soil Ecology**, v.17, p.239-251. 2001.

EMBRAPA. **Manual de métodos de análise de solo**. Rio de Janeiro, Centro Nacional de Pesquisa de Solos, 1997. 212 p.

FARIA, S. M. de; CHADA, S. de S. **Interação microrganismos e plantas na recuperação de áreas degradadas**. Acesso em 15 de junho de 2004. Disponível em < [www. rc.unesp.br](http://www.rc.unesp.br).>

FELDMAN, F.; IDCZAK, E. **Inoculum production of vesicular – arbuscular mycorrhizal fungi for use in tropical nurseries**. In: NORRIS, J.R.; READ, D.J.; VARNA, A.K. EDS. *Techniques for Mycorrhizal Research*. Methods in Microbiology, Academic Press. Great Britain. P. 799 – 817.

FISCHER, C. R., JANOS, D. P., PERRY, D. A., LINDERMAN, R. G., SOLLINS, P. Mycorrhiza inoculum potentials in tropical secondary succession. **Biotropica**, v. 26, n 4, p. 369 – 377, 1994.

FRED, E.B.; WAKSMAN, S.A. Yeast Extract-Manitol Agar Laboratory. **Manual of General Microbiology**. New York: Mc.Graw Hill, 1928. 145p.

FREIRE, J. R. J. Fixação do nitrogênio pela simbiose rizóbio/leguminosas. In: CARDOSO, E. J. B. N.; TSAI, S. M.; NEVES, M. C. P. **Microbiologia do Solo**. Campinas. Sociedade Brasileira de Ciências do Solo, 1992, p. 121 – 140.

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

GEHRING, C.; VLEK, P. L. G.; SOUZA, L. A. G. de; DENICH, M. Biological nitrogen fixation in secondary regrowth and mature rainforest of central Amazonia. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, p.1-16, 2005.

GEHRING, C. A. Seed reserves and light intensity affect the growth and mycorrhiza. **Journal of Tropical Ecology**. Short communication, v.20, p. 345–349, 2004.

GIOVANNETTI, M.; MOSSE, B. An avaluation of techniques for measuring vesicular – arbuscular mycorrhizal infection in roots. **New Phytologist**, New York, v.64, p. 489 – 500, 1980.

GOTO, B. T.; MAIA, L. C. Sporocarpic species of arbuscular mycorrhizal fungi (Glomeromycota), with a new report from Brazil. **Acta Botânica Brasileira**, v.19, n.3, p.633-637, 2005.

HUNGRIA, M.; VARGAS, M. A. T.; ARAULO, R. S. Fixação biológica do nitrogênio em feijoeiro. In: VARGAS, M. A. T.; HUNGRIA, M. ed. **Biologia dos solos dos cerrados**. Planaltina: EMBRAPA-CPAC, 1997, p.189-294.

HUSBAND, R.; HERRE, E. A.; YOUNG, J. P. Temporal variation in the arbuscular mycorrhizal communities colonizing seedlings in a tropical forest. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 42, p. 131 – 136, 2002.

INVAM, International Culture Collection of (vesicular) Arbuscular Mycorrhizal Fungi. Morgantow, EUA:West Virginia University, 1998. Disponível em: <<http://invam.caf.wvu.edu>>. Acesso em maio, 2005.

JANOS, D. P. Vesicular – arbuscular mycorrhizae affect lowland tropical rain Forest plant growth. **Ecology**, v.1, n.61, p.151 – 162, 1980a.

JANOS, D. P. Mycorrhizae Influence Tropical Sucession. **Tropical Sucession**. p.56 – 64, 1980b.

JENKINS, W. R. A rapid centrifugal – flotation technique for separating nematodes from soil. **Plant Disease**. Reporter, Washington, v. 48, p.692, 1964.

JORDAN, D. C. Rhizobiaceae conn 1938, 321 ^{AL} P. 234- 256- IN: R, R.K. and HOLT, J. G. H. (eds) **Bergey's Manual of Systematic Bacteriology**. V. 1. The Williams & Williams, C.O . Baltimore, 1984.

LEITÃO, R. S. M. M. Fixação biológica do nitrogênio por espécies arbóreas. In: VARGAS, M. A. T.; HUNGRIA, M. ed. **Biologia dos solos dos cerrados**. Planaltina: EMBRAPA-CPAC, p. 155-186. 1997.

LIU, J.; WANGA, E. T.; CHENA, W. X.; Diverse rhizobia associated with woody legumes *Wisteria sinensis*, *Cercis racemosa* and *Amorpha fruticosa* grown in the temperate zone of China. **Systematic and Applied Microbiology**, v. 28, p. 465–477, 2005.

LOVELOCK, C. E.; ANDERSEN, K.; MORTON, J. B. Arbuscular mycorrhizal communities in tropical forests are affected by host tree species and environment. **Ecosystems ecology**, p.268-279, 2003.

MARCHIORI JÚNIOR, M.; MELO, W. J. Carbono, carbono da biomassa microbiana e atividade enzimática em um solo sob mata natural, pastagem e cultura do algodoeiro. **Revista Brasileira de Ciências do Solo**, Campinas, v. 23. p. 257-263, 1999.

MACCHERONI JR, W.; ARAÚJO, W. L.; LIMA, A. O. Ecologia: habitat e interações fúngicas com planta, animais, fungos e bactérias. In: ESPOSITO, E., AZEVEDO, J. L. de. **Fungos: uma introdução à biologia, bioquímica e biotecnologia**, p 451 – 490, 2004.

MARINHO, N. F.; CAPRONI, A. L.; FRANCO, A. A.; BERBARA, L. L. resposta de *Acácia mangium* Willd e *Sclerolobium paniculatum* Vogel a fungos

micorrízicos arbusculares nativos provenientes de áreas degradadas pela mineração de bauxita na Amazônia. **Acta Botanica Brasílica**, v. 1, n. 18, p. 141 – 149, 2004.

MATTEO, B. C. de. **Biodiversidade e ecofisiologia de fungos micorrízicos arbusculares em associação com bromélias**. 2002. 80f. Dissertação. Piracicaba, SP.

MARGALEF, R. Temporal succession. In: POUZZA, T. & TRAVERS, M. Perspective in marine biology Berkeley. **University of California** (eds). P323-347, 1958.

MARTINS, L. M. V. **Características ecológicas e fisiológicas de rizóbios de caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp) isolados a partir de solos da região Nordeste do Brasil**. 1996. 221f. Dissertação (Mestrado em Agronomia Ciência do Solo) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.

MELO, A. M. M. Fungos Micorrízicos Arbusculares (Glomeromycota) Em fragmentos de Mata Atlântica no centro de endemismo Pernambuco. 2004. 70 f. Dissertação (Mestrado em Biologia de Fungos), Universidade Federal de Pernambuco. Recife –PE

MIRANDA, J. C. C. de; MIRANDA, L. N. de. Seleção e Recomendação de Uso de Espécies de Fungos Micorrízicos Arbusculares. **Comunicado Técnico**. Embrapa Cerrados, Planatina, 2001.n.52, p.1-3.

MIRANDA, J. C. C. de; MIRANDA, L. N. de. Micorriza Arbuscular. In: VARGAS, M. A. T.; HUNGRIA, M. Ed. **Biologia dos solos dos cerrados**. 1997. p. 69 – 124

MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e bioquímica do solo**. 2002. 626 p.

NÓBREGA, J. C. A.; LIMA, J. M. de; CURI, N.; SIQUEIRA, J. O.; MOTTA, P. E. F. da. Fosfato e micorriza na estabilidade de agregados em amostras de latossolos cultivados e não-cultivados. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. v. 36, n. 11. p. 1425 – 1435. 2001.

NEVES, M. C. P.; RUMJANEK, N. G. Ecologia das bactérias diazotróficas nos solos tropicais. In: MELO, I. S. de; AZEVEDO, J. L. de. ed. **Ecologia microbiana**. Jaguariúna: Embrapa – CNPMA. p. 15-60. 1998.

NEVES, M. C. P.; MARTINS, L. M.; XAVIER, G. R.; RUMJANEK, N. G. Levantamento de estirpes de rizóbio capazes de nodular caupi (*Vigna unguiculata*) em solos do nordeste do Brasil. II. Zona da Mata. Seropédica: Embrapa-Agrobiologia, Maio 1998. 8p. (Embrapa-CNPAB. **Documentos**, 47).

ODUM, E. P. **Ecologia**. Rio de Janeiro: Ed. Guanabara, 1983. 434p.

OEHL, F.; SIEVERDING, E. Pacispora, a new vesicular arbuscular mycorrhizal fungal genus in the Glomeromycetes. **Journal of Applied Botany**. v.72, p. 72-82. 2004.

PATREZE, C. M. E CORDEIRO, L. Nitrogen-fixing and vesicular–arbuscular mycorrhizal symbioses in some tropical legume trees of tribe Mimoseae. **Forest Ecology and Management**, v.196, p.275–285, 2004.

PHILLIPS, J. M.; HAYMAN, D. S. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic infection. **Transactions of the British Mycological Society**, v. 55, p.158 – 160, 1970.

PINTO-COELHO, R. M. **Fundamentos em ecologia**. Porto Alegre. 252 p. 2000.

PRIMAVESI, A. **O manejo ecológico do solo: agricultura em regiões tropicais**. 2 ed. 1980. 541p.

RIBEIRO, J. R. de A.; OLIVEIRA, R. R. CÂMARA, A. M. F. RUMJANEK, N. G. Estudo Populacional de rizóbio da Mata Atlântica. XXIV Reunião Brasileira de Fertilidade do Solo e Nutrição de Plantas. VIII Reunião Brasileira Sobre Micorrizas. VI Simpósio Brasileiro de microbiologia do solo. III Reunião Brasileira de Biologia do solo. BIODINÂMICA DO SOLO FERTIBIO 2000, **Resumo...** 64 p 134. Santa Maria RS, 22 à 26 de novembro de 2000.

RILLIG, M. C.; WRIGHT, S. F.; EVINER, V. T. The role of arbuscular mycorrhizal fungi and glomalina in soil aggregation: comparing effects of five plant species. **Plant and Soil**, v.238, p. 325-333. 2002.

RODRIGUES, A.; MARTINS, M. A.; SALOMÃO, M. S. M. B. Uso de micorrizas e rizóbios em cultivo consorciado de eucalipto e sebânia. Crescimento, absorção e transferência de nitrogênio entre plantas. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**. v. 27, n. 4, p. 583 – 591. 2003.

RODRÍGUEZ-ECHEVERRÍA, S.; FERNÁNDEZ, M. A. P.; VLAAR, S.; FINNAN, T. Analysis of the legume–rhizobia symbiosis in shrubs from central western Spain. **Journal of Applied Microbiology** , v.95, p. 1367–1374, 2003.

SALLES, J. F.; SOUZA, F. A. de. Revisões em Micorriza I: Técnicas Moleculares Aplicadas ao Estudo dos Fungos Micorrízicos Arbusculares. Seropédica: Embrapa Agrobiologia, nov. 1998. 24p. (Embrapa-CNPAB. **Série Documentos**, 68).

SHANNON, C. E. & WEAVER, W. The Mathematical Theory of Communication. **University Illinois Press**, Urbana. 1949.

SANTOS, C. E. R. S. **Diversidade, faixa hospedeira e eficiência de fixação de N₂ de rizóbio nativo da região nordeste do Brasil, em amendoim (*Arachis hypogaea*)**. 2001. 205 p. Tese (Doutorado em Agronomia Ciência do Solo) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.

SANTOS, C. E. R. S. S.; SAMFORD, N. P.; FREITAS, A. D. S.; VIEIRA, I. M. M. B.; SOUTO, S. M.; NEVES, M. C. P.; RUMJANEK, N. G. Efetividade de rizóbios isolados de solos da região Nordeste do Brasil na fixação do N₂ em amendoim (*Arachis hypogaea* L.). Maringá: **Acta Scientiarum Agronomy**, v.27, n.2, p.301-307, 2005.

SCHENCK, N. C.; PEREZ, Y. **A manual of identification of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi**, 2 ed. Gainesville: University of Florida, 1990. 241p.

SILVA, F.V **Diversidade de rizóbio em áreas sob diferentes coberturas vegetais do programa SHIFT localizado na região amazônica**. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro: UFRJ, 1999. 85p. Tese de Mestrado.

SILVA, G. A. da; MAIA, L. C.; SILVA, F. S. B. da. Potencial de infectividade de fungos micorrízicos arbusculares oriundos de área de caatinga nativa e degradada por mineração, no Estado da Bahia, Brasil. **Revista Brasileira de Botânica**. v. 24, n. 2, p. 135-143, 2001.

SILVA, M. A. da; CAVALCANTE, U. M. T.; SILVA, F. S. B. da; SOARES, S. A. G.; MAIA, L. C. Crescimento de mudas de maracujazeiro-doce (*Passiflora alata* Curts) associadas a fungos micorrízicos arbusculares (Glomeromycota). **Acta Botânica Brasílica**, v.18, n. 4, 2004.

SILVEIRA, A. P. D. Micorrizas. In: CARDOSO, E. J. B. N.; TSAI, S. M.; NEVES, M. C. P. **Microbiologia do Solo**. Campinas. Sociedade Brasileira de Ciências do Solo, 1992. p. 257 – 282.

SINCLAIR, M. J.; EAGHESHAM, A. R. J. Serological diversity of Bradyrhizobium sp. (Vigna) from Three West African Soils. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v.22, p.69-74. 1990.

SIQUEIRA, J. O.; CARNEIRO, M. A. C.; CURI, N. ROSADO, S. C. S.; DAVIDE, A. C. Mycorrhizal colonization and mycotrophic growth of native wood species as related to sucessional groups in Southeastern Brazil. **Ecology and Management**, v. 107, p. 241 – 252, 1998.

SIQUEIRA, J. O.; LAMBAIS, M. R.; STÜRMER, S. L. Fungos micorrízicos arbusculares. **Biociência**, n.25, p.12-21, 2002.

SOUZA, R. G.; MAIA, L. C.; SALES, M.; TRUFEM, S. F. B. Diversidade e potencial de infectividade de fungos micorrízicos arbusculares em área de caatinga, na região de Xingo, Estado de Alagoas, Brasil. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 26, n.1, p. 49-60, 2003.

SOUZA, F. A. de; SILVA, E. M. R. da. Micorrizas Arbusculares na Revegetação de Áreas Degradadas. In: SIQUEIRA, J. O. (Ed). **Avanços em Fundamentos e Aplicação de Micorrizas**. Lavras, UFLA, 1996, p. 255 – 282.

SPRENT, J.I. Evolution and diversity in the legume-rhizobium symbiosis: chaos theory? **Plant and Soil**, Dordrecht, v.161, p.1-10, 1994.

STAMFORD N. P.; SILVA, R. A. Efeito da calagem e inoculação de sabiá em solo da mata úmida e do semi-árido de Pernambuco **Pesquisa agropecuária brasileira**, v.35, n.5. Brasília, 2000.

STONE, C. E.; COOPER, J. E. Nodulation of *Trifolium repens* at low pH by single and paired strains of *Rhizobium leguminosarum* biovar trifolii. **Arch. Microbiol.** v.168, p.193-198, 1997.

SCHÜßLER, A.; SCHWARZOTT, D. e WALKER, C. A new phylum, the Glomeromycota: phylogeny and evolution. **Mycological Research** **105**: 1413 – 1421. 2001

TAURIAN, T.; CASTRO, S.; FABRA, A. Resposta fisiológica de duas estirpes de *Rhizobium* para amendoim em ph ácido. **Symbiosis**, v.24, n.3, p.327-336, 1998.

TRANNIN, I. C. B.; MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. Crescimento e Nodulação de *Acácia mangium*, *Enterolobium contortisiliquum* e *Sesbania virgata* em solo contaminado com metais pesados. **Revista Brasileira de Ciências do Solo**, Campinas, v.25, n.3, p. 743 – 753, 2001.

TRUFEM, S. F. B. Aspectos ecológicos de fungos micorrízicos vesículos-arbusculares da Mata Tropical Úmida da Ilha do Cardoso, SP, Brasil. **Acta Botânica Brasília**, São Paulo. v.2, n.4, p.31 – 45, 1990.

VINCENT, J.M. A Manual for the Pratical Study of Root Nodule Bacteria. **Scientific Publications**. Oxford: Blacwell Scientific, 1970, 164p.

WALKER. C. The mycorrhizas and the herbarium: the preservation of specimens from VA mycorrhizal studies. In: Program and Abstracts of the 4th. North American Conference on Mycorrhiza. Fort Collins, 1979.

WATKIN, E. L. J.; O'HARA, G. W.; GLENN, A. R. Calcium and acid stress interact to affect the growth of *Rhizobium leguminosarum* bv. trifolii. **Soil Biology and Biochemistry**, v.29, n.9-10, p.1427-1432, 1997.

WOLDE-MESKEL, E.; BERG, T.;PETERS, N. K.; FROSTEGARD, A. Nodulation status of native woody legumes and phenotypic characteristics of associated rhizobia in soils of southern Ethiopia. **Biol. Fertil. Soils**, v.40, p.55-66, 2004.

YANO-MELO, A. M.; SAGGIN JÚNIOR, O. J.; MAIA, L. C. Tolerance of mycorrhized banana (*Musa* sp. Cv. Pacovan) plantlets to saline stress. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, v.95, n.1, p. 343-348, 2003.

ZANGARO, W., NISIZAKI, S. M. A., DOMINGOS, J. C. B., NAKANO, E. M. Micorriza Arbuscular em espécies arbóreas nativas da bacia do rio Tibagi. **CERNE**, Paraná, n.1, v.8, p.077-087, 2002.

ZANGARO, W., NISHDATE, F. R.; CAMARGO, F. R. S.; ROMAGNOLI, G. G.; VANDERSSEN, J. Relationships among arbuscular mycorrhizas, root morphology and seedling growth of tropical native woody species in southern Brazil. **Journal of Tropical Ecology**, v.21, p. 529–540, 2005.

ZILLI, J.E. **Caracterização e Seleção de Estirpes de rizóbios para inoculação do caupi (*Vigna unguiculata*) em áreas de Cerrado**. Tese de Mestrado – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro. UFRRJ, 2000.

