



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

ADRIELLY PEREIRA ANSANELO

**INFLUÊNCIA DE FUNGOS MICORRÍZICOS
ARBUSCULARES DE DIFERENTES ESTÁDIOS DA
SUCESSÃO NO CRESCIMENTO E NA ABSORÇÃO DE
NUTRIENTES POR *HELIOCARPUS AMERICANUS* L.
(TILIACEAE)**

Londrina
2010

ADRIELLY PEREIRA ANSANELO

**INFLUÊNCIA DE FUNGOS MICORRÍZICOS
ARBUSCULARES DE DIFERENTES ESTÁDIOS DA
SUCESSÃO NO CRESCIMENTO E NA ABSORÇÃO DE
NUTRIENTES POR *HELIOCARPUS AMERICANUS* L.
(TILIACEAE).**

Dissertação apresentada ao curso de pós-graduação em Ciências Biológicas, área de concentração em Botânica, da Universidade Estadual de Londrina, como parte dos requisitos para obtenção do Título de Mestre.

Orientador: Prof. Dr. Waldemar Zangaro Filho

Londrina
2010

**Catálogo elaborado pela Divisão de Processos Técnicos da Biblioteca Central da
Universidade Estadual de Londrina.**

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)

A617i Ansanelo, Adrielly Pereira.

Influência de fungos micorrízicos arbusculares de diferentes estádios da sucessão no crescimento e na absorção de nutrientes *por Heliocarpus americanus L.* (Tiliaceae) / Adrielly Pereira Ansanelo. – Londrina, 2010.

58 f. : il.

Orientador: Waldemar Zangaro Filho.

Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) – Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Biológicas, Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas, 2010.

Inclui bibliografia.

1. Fungos micorrízicos – Teses. 2. Fungos do solo – Teses 3. Microorganismos do solo – Teses. 4. Tiliaceae – Teses. I. Zangaro Filho, Waldemar. II. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas. III. Título.

CDU 581.557.24

ADRIELLY PEREIRA ANSANELO

**INFLUÊNCIA DE FUNGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES DE
DIFERENTES ESTÁDIOS DA SUCESSÃO NO CRESCIMENTO E NA
ABSORÇÃO DE NUTRIENTES POR *HELIOCARPUS AMERICANUS* L.
(TILIACEAE).**

Dissertação apresentada ao curso de pós-graduação em Ciências Biológicas, área de concentração em Botânica, da Universidade Estadual de Londrina, como parte dos requisitos para obtenção do Título de Mestre.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Waldemar Zangaro Filho

Prof^a. Dr^a. Rosilaine Carrenho

Prof. Dr. Marco Antonio Nogueira

Londrina, 23 de fevereiro de 2010.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a todos que de forma direta ou indireta contribuíram para a realização deste trabalho:

A Deus pela vida, saúde e consciência.

Ao Prof. Dr. Waldemar Zangaro pela orientação.

A Prof^a Dr^a Rosana Marta Kolb pelo incentivo.

Aos colegas do laboratório e do mestrado, Luis Eduardo Lescano, Leila Vergal Rostirola, Priscila Bochi de Souza, Artur Rondina, Ricardo, Valéria Teodoro, Talita Parpinelli Ferracin e Livia Bertolla Santos, pela ajuda na execução das metodologias e trocas de conhecimentos e experiências.

A minha família e amigos pelo apoio de sempre e pela compreensão da minha ausência em muitos momentos.

ANSANELO, Adrielly Pereira. **Influência de fungos micorrízicos arbusculares de diferentes estádios da sucessão no crescimento e na absorção de nutrientes por *Heliocarpus americanus* L. (tiliaceae)**. 2010. 58 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2010.

RESUMO

O potencial de inóculo e o efeito de 15 comunidades de fungos micorrízicos arbusculares (FMA), oriundos de áreas que caracterizam as fases iniciais da sucessão herbácea e arbustiva, floresta secundária e floresta madura, no crescimento e na absorção de nutrientes da espécie arbórea *Heliocarpus americanus* foram investigados. Esta espécie arbórea é pioneira na sucessão vegetal, altamente micotrófica e muito utilizada em projetos de revegetação. Plântulas foram inicialmente crescidas em solos das diferentes fases da sucessão a fim de que a comunidade de FMA nativa as colonizassem e depois foram transplantadas para recipientes de cultivo que continham solo esterilizado de baixa e alta fertilidade. As plantas crescidas em solo fértil apresentaram maior altura, maior massa seca da parte aérea e da raiz do que as plantas mantidas em solo de baixa fertilidade. A colonização das raízes por FMA foi alta quando a comunidade de FMA era proveniente das áreas iniciais da sucessão e florestas secundárias (90% solo fértil e 70% infértil), e baixa quando a origem dos fungos era a floresta madura (40% solo fértil e 25% infértil). Os teores de P na parte aérea foram maiores nas plantas colonizadas pela comunidade de FMA das áreas iniciais e das florestas secundárias do que da floresta madura. As comunidades de FMA das áreas iniciais e florestas secundárias foram mais eficientes em promover o crescimento das plantas de *Heliocarpus americanus* do que as comunidades das florestas maduras, principalmente quando as plantas foram mantidas em solo de baixa fertilidade, demonstrando o alto potencial de inóculo daquelas áreas.

Palavras-chave: Fertilidade do solo. Micélio fúngico. *Heliocarpus americanus*. Potencial de inóculo. Simbiose micorrízica. colonização da raiz. Floresta madura. Absorção de fósforo. Hifas.

ANSANELO, Adrielly Pereira. **Influency of Arbuscular mycorrhizal fungi from different succession stages on growth and nutrient uptake by *Heliocarpus americanus* L. (Tiliaceae)**. 2010. 58 f. Dissertation (Master's Degree in Biological Science) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2010.

ABSTRACT

The inoculum potencial and the effect of fifteen communities of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF), from areas that characterize the early stages of herbaceous succession and shrub, secondary forest, and mature forest, on growth and nutrient uptake of arboreal species *Heliocarpus americanus* were investigated. This arboreal species is pioneer in succession, mycotrophic and largely used in revegetation projects. Seedlings were grown in soils with inoculum from different stages of succession and then were planted in plastic bags containing sterilized soils of low fertility and high fertility. The plants grown in fertile soil showed greater in height, dry shoot and root biomasses than plants in low-fertility soil. The mycorrhizal root colonization was high when fungal community was obtained from areas of initial and secondary forests (90% fertile soil and 70% low-fertility), and low when the source of the fungal inoculum was a mature forest. The levels of shoot P were higher in plants inoculated with fungi from initial areas and the secondary forests than in mature forests. AMF communities of initial areas and secondary forests were more efficiency in promoting growth of *Heliocarpus americanus* than communities of mature forests, especially when plants were grown in low-fertility soil, showing us high potential of inoculum in such areas.

Keywords: Soil fertility. Inoculum potencial. Mycorrhizal symbiosis. Root colonization. Mature forest. Phosphorus uptake. Hyphae. Growth.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO GERAL	8
2 SOLO	8
3 MICRORGANISMOS DO SOLO	8
4 FUNGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES (FMA)	9
5 A SIMBIOSE	10
6 ORIGEM DA ASSOCIAÇÃO	11
7 DISTRIBUIÇÃO DOS FMA	12
8 CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS DAS RAÍZES	13
9 ABSORÇÃO DE FÓSFORO PELAS PLANTAS	14
10 RECUPERAÇÃO DE ÁREAS DEGRADADAS	15
ARTIGO A - Eficiência de fungos micorrízicos arbusculares de diferentes estádios da sucessão no crescimento e na absorção de nutrientes por <i>Heliocarpus americanus</i> L. (Tiliaceae)	17
Resumo	17
Abstract	18
Introdução	18
Materiais e Métodos	20
<i>Local do experimento</i>	20
<i>Descrição das áreas de coleta</i>	20
<i>Obtenção e preparação do inóculo de FMA</i>	23
Obtenção e transplante das plântulas para os diferentes solos-inóculos.....	23
Crescimento e biomassa da parte aérea.....	24
<i>Colonização das raízes por FMA</i>	25
<i>Análise estatística</i>	25
Resultados	25
Altura das plantas.....	25
Análise da biomassa.....	26
Concentração de nutrientes nas folhas.....	27
Colonização micorrízica.....	28
Responsividade.....	28

Discussão	29
Efeito dos FMA no crescimento de <i>Heliocarpus americanus</i>	29
Absorção de nutrientes.	32
Alocação de biomassa em <i>Heliocarpus americanus</i>	34
Colonização micorrízica e densidade de esporos nas diferentes fases da sucessão	35
Diminuição do potencial de inóculo de FMA com o avanço da sucessão.	37
Conclusão	39
Referências	40
Tabelas.....	46
Figuras.....	47
Lista de figuras.....	53
REFERÊNCIAS	55

1 INTRODUÇÃO GERAL

As associações simbióticas mutualistas formadas entre fungos da divisão Glomeromycota e raízes da maioria das plantas superiores são denominadas micorrizas arbusculares. Essa associação, que é amplamente distribuída e sem especificidade, levou Marx e Brian (1975) a postularem que “plantas não possuem raízes, mas sim micorrizas”.

Nas regiões tropicais, embora existam condições favoráveis de luz e temperatura para o desenvolvimento das plantas, existem áreas que apresentam sérias restrições, por apresentarem baixa pluviosidade e solos com elevada acidez e de baixa fertilidade, por razões naturais ou devido à degradação. Nessas condições a micorrização é importante porque ajuda a diminuir a pressão negativa do ambiente desfavorável sobre as plantas. Muitas espécies de ecossistemas naturais precisam de Fungos Micorrízicos Arbusculares (FMA) para ajudar na absorção de água e nutrientes (READ; PEREZ-MORENO, 2003). A base desta associação é a transferência de carbono da planta para o fungo e de nutrientes minerais do fungo para a planta.

2 SOLO

O solo é constituído das frações orgânica e inorgânica e é habitado por uma grande variedade de organismos, formando um ecossistema. Algumas características do solo como fertilidade, umidade, temperatura e atividade da microbiota influenciam no estabelecimento, crescimento e sobrevivência das plantas (PERRY *et al.*, 1987).

Os microrganismos fazem parte do solo de maneira indissociável, sendo responsáveis por inúmeras reações bioquímicas relacionadas não só com a transformação da matéria orgânica, mas também com o intemperismo das rochas. Assim, os microrganismos do solo desempenham papel na gênese do solo e ainda atuam como reguladores da disponibilidade de nutrientes, pela decomposição da matéria orgânica e ciclagem dos elementos, atuando na imobilização e mineralização de nutrientes para o crescimento das plantas (MOREIRA; SIQUEIRA, 2002).

3 MICRORGANISMOS DO SOLO

Os microrganismos do solo, chamados coletivamente de microbiota, são representados por quatro grandes grupos: bactérias, fungos, algas e protozoários. A diversidade e a quantidade dos microrganismos são bastante elevadas, embora constituam

somente 1 a 4 % do carbono total e ocupem menos de 5% do espaço poroso do solo. Como o solo é normalmente um ambiente estressante, limitado por nutrientes, somente 15% a 30% das bactérias e 10% dos fungos encontram-se em estado ativo. As bactérias e fungos respondem por cerca de 90% da atividade microbiana do solo (MOREIRA; SIQUEIRA, 2002).

Os microrganismos são responsáveis pelos processos de mineralização da matéria orgânica do solo e ainda representam uma quantidade considerável de nutrientes potencialmente disponíveis para as plantas. Os nutrientes armazenados na biomassa microbiana podem atingir valores equivalentes a 100 kg/ha de nitrogênio, 80 kg/ha de fósforo, 70 kg/ha de potássio e 11 kg/ha de cálcio. Como a biomassa dos microrganismos é reciclada cerca de 10 vezes mais rápido que a matéria orgânica do solo, tem-se que a quantidade de nutrientes presentes nas células dos microrganismos é muito significativa perante a ciclagem de nutrientes em todo o ecossistema. O fluxo de N e P via biomassa microbiana pode alcançar valores equivalentes a 40 e 10-20 kg /ha ano, respectivamente (Holtz e Sá 1995). A diminuição da microbiota do solo prejudica a ciclagem temporária dos nutrientes, resultando no empobrecimento do solo (HUNGRIA *et al.*, 1997).

Em ecossistemas denominados clímax, a microbiota encontra-se em equilíbrio com o solo, mantendo assim a sua biodiversidade. Todavia, toda e qualquer interferência do homem resulta em quebra do equilíbrio e importantes alterações na microbiota podem ocorrer.

4 FUNGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES

Micorrizas arbusculares são associações simbióticas mutualistas formadas entre fungos da divisão Glomeromycota e raízes da maioria das plantas superiores. Os FMA formam uma relação simbiótica com a planta, caracterizada pela penetração do micélio fúngico inter e intracelularmente no córtex das raízes absorventes, sem causar modificações morfológicas nas raízes colonizadas. O resultado da colonização da raiz pelos FMA é a ampliação da área de contato entre planta e solo, promovida pelo micélio formado externamente às raízes, após o estabelecimento da simbiose. Esses fungos colonizam as células o córtex da raiz, formando arbúsculos, estruturas intracelulares altamente ramificadas responsáveis pelas trocas de nutrientes e, em alguns grupos taxonômicos, vesículas, que são hifas com dilatações terminais destinadas a reserva de nutrientes. Não há evidências de

especificidade hospedeira e não ocorrem alterações morfológicas visíveis nas raízes colonizadas.

A simbiose é possível graças ao fato de o fungo produzir hifas externas capazes de absorver elementos minerais do solo e transferi-los ao ambiente interno da raiz via hifas intraradiciais. No interior da raiz, a troca bidirecional ocorre principalmente nos arbúsculos, estrutura similar a um haustório ramificado. Os arbúsculos são estruturas formadas pela interação de hifas de FMA e a plasmalema de algumas células do córtex. Estas estruturas são consideradas “chave” para o desenvolvimento da simbiose micorrízica e sua formação depende da completa interação genética e funcional entre combinações fungo-planta (HARRISON, 1999). Como conseqüência, a morfologia do arbúsculo aumenta a superfície de contato entre as membranas dos simbioses, permitindo eficiente troca de sinais, nutrientes e compostos orgânicos entre a planta e o fungo.

O micélio externo conecta raízes e solo ou mesmo raízes de diferentes plantas ou espécies vegetais, estabelecendo diversas ligações que ocasionam nova dinâmica na captação de nutrientes pelas plantas, com reflexos sobre a ciclagem de nutrientes e até mesmo sobre propriedades físicas do solo (BETHLENFALVAY, 1992). Bethlenfalvay e Linderman (1992) atribuíram aos FMA o papel de “mediadores” na troca de nutrientes entre os componentes do sistema solo-planta.

Os serviços prestados pelos FMA vão além da nutrição das plantas. As hifas promovem significativo impacto sobre a estruturação e estabilidade dos agregados do solo. Isto é importante, pois a mobilização dos nutrientes, penetração das raízes e processos erosivos do solo (JASTROW *et al.*, 1998).

Fungos micorrízicos arbusculares, sem exceção, são simbioses obrigatórios, ou seja, eles dependem da simbiose com plantas compatíveis para sua multiplicação. Como os FMA dependem do hospedeiro para sua própria existência, não há dúvida da importância central da simbiose para fungos micorrízicos. A obrigatoriedade da simbiose para os fungos deve-se ao fato de que, ao longo de sua evolução, eles perderam sua capacidade de obter carbono, passando a depender exclusivamente do hospedeiro autotrófico como fonte de compostos orgânicos (GADKAR *et al.*, 2001).

5 A SIMBIOSE MICORRÍZICA

O termo micorriza (mykes: fungo, rhiza: raiz) foi inicialmente proposto pelo botânico alemão Albert Bernard Frank em 1885; entretanto, as estruturas reprodutivas dos

fungos micorrízicos começaram a ser conhecidas e estudadas somente após a década de 50. Hoje existe uma vasta literatura documentando o efeito positivo dos FMA sobre a absorção de nutrientes minerais pelas plantas, especialmente aqueles pouco móveis no solo (P, Cu e Zn) (MARSCHNER, 1986; CARDOSO, 1985; PACOVSKY, 1986), maior proteção contra patógenos (GARCIA-GARRIDO; OCAMPO, 1989), maior tolerância à salinidade dos solos (SYLVIA; WILLIAMS, 1992) e à toxidez por metais pesados (ANDRADE *et al.*, 2004) e ao estresse hídrico (BAREA *et al.*, 1993), entre outros. Essa simbiose é considerada mutualista nutricional, pois a planta supre o fungo com energia para crescimento e manutenção através dos produtos fotossintéticos, enquanto o fungo provê a planta com nutrientes minerais e água. Nesse sentido, essa simbiose amplia a capacidade de absorção de nutrientes por parte do simbionte autotrófico (fitobionte) e, conseqüentemente, aumenta sua competitividade interespecífica e produtividade (BERBARA *et al.*, 2006).

6 ORIGEM DA ASSOCIAÇÃO

As plantas pioneiras na colonização do ambiente terrestre não apresentavam raízes verdadeiras e a sua permanência no ambiente terrestre dependeu da habilidade em adquirir água e nutrientes. O estabelecimento das primeiras plantas terrestres provavelmente ocorreu com o auxílio dos FMA ancestrais. As plantas teriam surgido na superfície terrestre há cerca de 460 e 500 milhões de anos, e os FMA já eram encontrados há 500 milhões de anos. Especula-se que estes fungos foram fundamentais para a conquista do ambiente terrestre pelas plantas (SIMON *et al.*, 1993; SIMON, 1996), pois as primeiras encontravam-se em um ambiente hostil, e não apresentavam raízes, mas sim rizóides, sem tecidos vasculares, e os fungos foram indispensáveis para a captação de nutrientes do solo que levou à evolução das espécies vegetais (RAVEN; EDWARDS, 2001). A relação mutualística observada entre fungos e cianobactérias pode ajudar a entender o surgimento da simbiose mutualística. O fungo *Geosiphon pyriformis* apresenta morfologia, estrutura e função parecidas aos dos FMA (SCHUBLER *et al.*, 2001). Evidências fósseis indicam que as primeiras plantas terrestres já estavam colonizadas por fungos que apresentavam estruturas miceliais e esporos similares aos dos atuais FMA (REDECKER *et al.*, 2000).

7 DISTRIBUIÇÃO DOS FMA

De acordo com Siqueira e Franco (1988) as micorrizas arbusculares são encontradas em mais de 80% das famílias de plantas, aparecendo em todas as latitudes e em praticamente todos os ecossistemas terrestres, apresentando caráter cosmopolita.

Os FMA são mais raros nos ambientes árticos ou em regiões de tundra onde dominam as plantas ericáceas que possuem tipos próprios de micorrizas. A associação micorrizica está atualmente presente na maioria dos táxons vegetais em nível de ordem e em todos os níveis de plantas vasculares, representando a regra e não a exceção na natureza, sendo a ausência da associação simbiótica um evento restrito a poucas famílias, gêneros ou espécies vegetais. As razões para a condição não micorrízica de certos grupos de plantas ainda são pouco conhecidas, mas podem resultar da produção de compostos fungistáticos como glucosinolatos nas crucíferas, ou da insuficiência de fatores estimulantes ou sinais moleculares nos exsudatos de certas plantas, ou ainda deficiência na aderência ou coexistência de barreiras físicas na parede do hospedeiro (MOREIRA; SIQUEIRA, 2002).

A grande diversidade genética encontrada nos FMA é importante na sua plasticidade fisiológica e ecológica, e provavelmente é decorrente da sua diversificação e evolução. A análise da distribuição geográfica de algumas espécies de FMA indica que elas podem ser consideradas pandêmicas. O modo de dispersão dos FMA tem sido pouco estudado, mas evidências indicam que os ventos em ambientes áridos e roedores e pássaros em florestas tropicais sejam importantes agentes de dispersão dos esporos. A ocorrência e distribuição das espécies têm sido explicadas principalmente como resultado de processos ecológicos, como a presença ou não de hospedeiro, temperatura e fatores do solo atuando sobre a comunidade fúngica e vegetal (MOREIRA; SIQUEIRA, 2002).

Os fatores que controlam a colonização de FMA são complexos e difíceis de relacionar (ALLEN, 1991). A colonização das raízes e a resposta à inoculação, para algumas espécies de plantas, podem apresentar diferenças, porque algumas espécies de FMA podem ser mais eficientes do que outras, diferindo na extensão da colonização das raízes e na resposta à inoculação (JAKOBSEN, 1995; SANDERS *et al.*, 1996). Estas diferenças também ocorrem dependendo da disponibilidade de P do solo (COMAS *et al.*, 2002; MILLER *et al.*, 1994). Competidores muito agressivos no interior das raízes de um hospedeiro podem diminuir a colonização por outras espécies mais efetivas (Sanders *et al.* 1995).

8 CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS DAS RAÍZES

Os nutrientes são retirados do solo pelo sistema de raízes finas durante o desenvolvimento vegetal. Plantas de diferentes grupos funcionais, considerando as diferentes fases de sucessão, mostram diferenças na distribuição, traços morfológicos de raízes finas e grau de associação com FMA (ZANGARO *et al.*, 2000, 2005, 2007, 2008). Por sua vez as raízes finas são influenciadas pela disponibilidade dos nutrientes no solo (EISSENSTAT *et al.*, 2000; POWERS *et al.*, 2005). Muitas espécies em ecossistemas naturais precisam de FMA para ajudar na absorção de água e nutrientes (READ; PEREZ-MORENO, 2003). As hifas externas dos FMA aumentam o volume do solo a ser explorado além da zona de depleção que é formada em torno das raízes absorventes (SMITH; READ, 1997; HINSINGER *et al.*, 2005). O conhecimento sobre estes aspectos pode ajudar a melhorar o entendimento sobre como as estruturas envolvidas na absorção de nutriente (raízes finas e micorrizas) estão relacionadas com a composição de espécies de plantas ao longo da sucessão (ZANGARO *et al.*, 2008)

As espécies com crescimento rápido, quando comparadas as espécies de crescimento lento, apresentam metabolismo mais intenso, maior exigência nutricional, raízes finas com crescimento mais intenso, exploração mais rápida do solo e maior capacidade de absorção (COMAS; EISSENSTAT 2004; ZANGARO *et al.*, 2005, 2007). As espécies de plantas das fases iniciais da sucessão, que geralmente mostram rápido crescimento, apresentam raízes absorventes com pequeno diâmetro, baixa densidade do tecido radicular (COMAS *et al.*, 2002), alta densidade de pêlos absorventes e maior comprimento dos mesmos (ZANGARO *et al.*, 2005) e geralmente apresentam maior taxa de colonização pelos FMA do que as espécies de crescimento lento, que normalmente se estabelecem nas fases finais da sucessão (ZANGARO *et al.*, 2003; MATSUMOTO *et al.*, 2005).

9 ABSORÇÃO DE FÓSFORO PELAS PLANTAS

Em ecossistemas naturais, muitas espécies de plantas precisam de FMA para ajudar na absorção de água e nutrientes (READ; PEREZ-MORENO, 2003). A colonização micorrízica influencia o potencial de absorção de nutrientes devido à morfologia das hifas externas. As hifas externas são mais eficientes que as raízes na captura de nutrientes, por serem estruturas extremamente longas e finas que podem se estender a vários decímetros da superfície da raiz (comparado aos 1–2 mm de extensão média das radículas). Por serem finas, com cerca de 2 μm de diâmetro, hifas arbusculares podem explorar volumes do solo inatingíveis por estruturas radiculares (pêlos radiculares apresentam valores de 10–20 μm de diâmetro e raízes laterais de 100–500 μm) de maneira mais eficiente que as raízes. Além da maior exploração do solo, FMA são mais eficientes na captura de nutrientes, como verificado por Nielsen *et al.* 2002. Estes autores constataram que quando ^{32}P foi adicionado em meio contendo FMA, houve maior absorção do P_i nas hifas.

O fósforo é um macronutriente presente em baixas concentrações e pouco móvel em solos intemperizados, como os tropicais. O papel dos FMA nessas condições é determinante para a sobrevivência de diversas espécies vegetais, incapazes de mobilizar este elemento. Vale ressaltar que absorção não se restringe ao P; os FMA também absorvem N, por exemplo, e em quantidades que podem ser superiores às de P (GAMPER *et al.*, 2004). No entanto, a planta não necessita do FMA para sua nutrição nitrogenada, pois seu próprio sistema de raízes é capaz de absorvê-lo, visto que apresenta grande mobilidade no solo. O P é um nutriente que entra na constituição de moléculas como de ácidos nucleicos, fosfolipídeos, assim como de diversas enzimas (LEHNINGER *et al.*, 1995). Ele está envolvido diretamente nos processos de fosforilação e, portanto, no metabolismo energético, na transdução de sinais e na regulação da atividade celular. Sua falta ocasiona significativo declínio no conteúdo de ATP (-74 %) e ADP (-91 %), bem como dos conteúdos de enzimas (DUFF *et al.*, 1989). Assim, a manutenção da homeostase celular deste elemento é vital para os organismos em geral, principalmente para plantas tropicais em solos de baixa fertilidade.

A taxa de absorção e transporte de P inorgânico (P_i) pelas raízes é maior que sua taxa de difusão no solo, portanto forma-se uma zona de depleção, resultando em uma região de esgotamento deste elemento no ambiente rizosférico. As plantas precisaram desenvolver mecanismos para capturar este elemento além desta zona e uma forma encontrada foi através dos FMA (SMITH; READ, 1997).

Os FMA proporcionam aumentos na taxa de absorção do P, possivelmente devido às condições descritas a seguir: a) ocorre aumento do volume de solo explorado pelas hifas externas do FMA; b) o pequeno diâmetro da hifa permite explorar espaços do volume do solo inatingíveis pela raiz; c) as taxas de influxo por unidade de superfície das hifas são maiores; d) a formação de grânulos de polifosfato, moléculas orgânicas sintetizadas pelo FMA ricas em P, leva à diminuição da concentração de Pi no interior das hifas, resultando em acúmulo de P em condições de disponibilidade deste elemento, com sua remobilização em condições de falta, havendo um fluxo contínuo ao hospedeiro, e e) à produção de enzimas como fosfatases, que catalisam a liberação de P dos complexos orgânicos, permitindo sua absorção na forma iônica pelas plantas nas unidades arbusculares (MARSCHNER; DELL, 1994).

10 RECUPERAÇÃO DE ÁREAS DEGRADADAS

O rápido declínio da fertilidade do solo, com deterioração das propriedades físicas, químicas e biológicas, é um grande obstáculo para a regeneração natural e para os programas de revegetação (BROWN; LUGO, 1994, ZANGARO *et al.*, 2003). Ecossistemas degradados apresentam baixa resiliência e o retorno às condições originais após a perturbação pode não ocorrer ou ser extremamente lento (BARBOSA, 1997). Nos locais onde a sucessão natural não pode ser estabelecida, devido à distância das fontes de propágulos, o plantio sustentável de árvores nativas pode ser uma alternativa promissora (ZANGARO, 1997).

O sucesso da revegetação depende da capacidade da plântula em capturar os recursos necessários no início do seu desenvolvimento, obter fonte contínua de nutrientes e possuir o vigor necessário para resistir a doenças e a estresses climáticos (PERRY *et al.*, 1987). Segundo Janos (1996), a maior parte das áreas destinadas à revegetação é constituída de solos com baixa fertilidade e baixo potencial de inóculo de microrganismos benéficos para as plantas, como os FMA.

Para reduzir o impacto ambiental e conservar a biodiversidade local é importante a utilização de espécies arbóreas nativas em programas de revegetação. Em áreas degradadas pode ser realizado o plantio de espécies arbóreas nativas pertencentes aos diferentes estádios da sucessão durante o programa de revegetação (GUARIGUATA; OSTERTAG, 2001, VANDRESEN *et al.*, 2007).

Heliocarpus americanus (jangadeiro) utilizada neste estudo, é considerada uma espécie arbórea pioneira com baixa tolerância à sombra, crescimento rápido, madeira

leve e tempo curto de vida. Sua distribuição abrange os Estados de Minas Gerais, São Paulo e o norte do Paraná (LORENZI, 1992). Esta espécie é usada para revegetação de matas ciliares (AMBIENTE BRASIL, 2008). Após inoculação de propágulos nativos de FMA, obtidos de solos nas rizosferas de plântulas de espécies arbóreas pioneiras, o jangadeiro apresentou alta colonização e elevado crescimento em casa de vegetação, sendo considerada uma espécie altamente micotrófica (ZANGARO *et al.*, 2002).

O conhecimento sobre a capacidade das espécies vegetais em formar simbioses com FMA é de grande importância para o sucesso da revegetação (JASPER *et al.*, 1991) e serve de suporte para pesquisas de produção de mudas de essências nativas formadas em viveiros florestais (CARNEIRO *et al.*, 1998). O objetivo deste estudo foi verificar a eficiência de diferentes comunidades de FMA oriundas de distintos estádios da sucessão vegetal no crescimento da espécie arbórea nativa *Heliocarpus americanus*.

ARTIGO A

Influência de fungos micorrízicos arbusculares de diferentes estádios da sucessão no crescimento e na absorção de nutrientes por *Heliocarpus americanus* L. (Tiliaceae).

Adrielly Pereira Ansanelo¹ e Waldemar Zangaro Filho¹.

Resumo

O potencial de inóculo e o efeito de 15 comunidades de fungos micorrízicos arbusculares (FMA), oriundos de áreas que caracterizam as fases iniciais da sucessão herbácea e arbustiva, floresta secundária e floresta madura, no crescimento e na absorção de nutrientes da espécie arbórea *Heliocarpus americanus* foram investigados. Esta espécie arbórea é pioneira na sucessão vegetal, altamente micotrófica e muito utilizada em projetos de revegetação. Plântulas foram inicialmente crescidas em solos das diferentes fases da sucessão a fim de que a comunidade de FMA nativa as colonizassem e depois foram transplantadas para recipientes de cultivo que continham solo esterilizado de baixa e alta fertilidade. As plantas crescidas em solo fértil apresentaram maior altura, maior massa seca da parte aérea e da raiz do que as plantas mantidas em solo de baixa fertilidade. A colonização das raízes por FMA foi alta quando a comunidade de FMA era proveniente das áreas iniciais da sucessão e florestas secundárias (90% solo fértil e 70% infértil), e baixa quando a origem dos fungos era a floresta madura (40% solo fértil e 25% infértil). Os teores de P na parte aérea foram maiores nas plantas colonizadas pela comunidade de FMA das áreas iniciais e das florestas secundárias do que da floresta madura. As comunidades de FMA das áreas iniciais e florestas secundárias foram mais eficientes em promover o crescimento das plantas de *Heliocarpus americanus* do que as comunidades da floresta madura, principalmente quando as plantas foram mantidas em solo de baixa fertilidade, demonstrando o alto potencial de inóculo daquelas áreas.

Palavras-chave: Fertilidade do solo. Micélio fúngico. *Heliocarpus americanus*. Potencial de inóculo. Simbiose micorrízica. colonização da raiz. Floresta madura. Absorção de fósforo. Hifas.

¹ Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Biológicas, Departamento de Biologia Animal e Vegetal. 86051-990, Londrina, Paraná, Brasil.

Influency of Arbuscular mycorrhizal fungi from different succession stages on growth and nutrient uptake by *Heliocarpus americanus* L. (Tiliaceae).

Abstract

The inoculum potencial and the effect of fifteen communities of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF), from areas that characterize the early stages of herbaceous succession and shrub, secondary forest, and mature forest, on growth and nutrient uptake of arboreal species *Heliocarpus americanus* were investigated. This arboreal species is pioneer in succession, mycotrophic and largely used in revegetation projects. Seedlings were grown in soils with inoculum from different stages of succession and then were planted in plastic bags containing sterilized soils of low fertility and high fertility. The plants grown in fertile soil showed greater in height, dry shoot and root biomasses than plants in low-fertility soil. The mycorrhizal root colonization was high when fungal community was obtained from areas of initial and secondary forests (90% fertile soil and 70% low-fertility), and low when the source of the fungal inoculum was a mature forest. The levels of shoot P were higher in plants inoculated with fungi from initial areas and the secondary forests than in mature forests. AMF communities of initial areas and secondary forests were more efficiency in promoting growth of *Heliocarpus americanus* than communities of mature forests, especially when plants were grown in low-fertility soil, showing us high potential of inoculum in such areas.

Key-Words: Soil fertility. Inoculum potencial. Mycorrhizal symbiosis. Root colonization. Mature forest. Phosphorus uptake. Hyphae. Growth.

Introdução

A maioria das espécies de plantas se encontra associada a determinados fungos do solo numa simbiose mutualística do tipo micorrízica. Essa simbiose amplia a capacidade de absorção de nutrientes por parte do simbionte autotrófico e, conseqüentemente, a sua competitividade interespecífica e produtividade; em contrapartida a planta fornece composto orgânico ao fungo (Berbara *et al.* 2006).

As plantas que compõem os diferentes estádios sucessionais apresentam características distintas devido às condições às quais precisam se adaptar. Plantas dos estádios iniciais da sucessão, como gramíneas e herbáceas, apresentam alta demanda por luz, requerem ambientes abertos e apresentam taxa de crescimento rápido, enquanto que plantas dos estádios tardios da sucessão são tolerantes à sombra, predominam em dosséis fechados e têm crescimento lento (Khurana e Singh 2006).

Nos estádios sucessionais iniciais, a morfologia de raízes finas das plantas facilita a colonização por fungos micorrízicos e a associação aumenta a eficiência de absorção de nutrientes do solo, facilitando a exploração de recursos. Por outro lado, as plantas dos estádios tardios apresentam raízes finas com morfologia que proporciona menor taxa de

proliferação da simbiose micorrízica e menor capacidade de exploração do solo e de aquisição de nutrientes (Eissenstat 1992). As plantas dos estádios iniciais da sucessão apresentam alto comprimento específico das raízes (Wright e Westoby 1999; Raghothama e Karthikeyan 2005), como consequência do baixo diâmetro e baixa densidade do tecido (Comas *et al.* 2002), além de apresentarem mais pêlos absorventes (Zangaro *et al.* 2005) e geralmente maior colonização por FMA (Zangaro *et al.* 2005, 2007), em comparação com espécies de crescimento lento (Zangaro *et al.* 2003; Matsumoto *et al.* 2005).

A composição das espécies de plantas durante a sucessão tem suas características morfológicas das raízes finas influenciadas pela fertilidade do solo (Eissenstat *et al.* 2000; Powers *et al.* 2005) e a resposta das plantas aos FMA (Zangaro *et al.* 2007, 2008). As plantas que crescem em solos de baixa fertilidade, presentes nas fases iniciais da sucessão vegetal, geralmente apresentam alta alocação de biomassa nas raízes finas, usam o carbono alocado mais eficientemente, e apresentam alterações na morfologia da raiz (Tilman 1994; Comas e Eissenstat 2004). Muitas espécies em ecossistemas naturais precisam de FMA para ajudar na absorção de água e nutrientes (Read e Perez-Moreno 2003), sobretudo em solos de baixa fertilidade, pois as hifas externas dos FMA aumentam o volume do solo (Smith e Read 1997; Hinsinger *et al.* 2005).

Zangaro *et al.* (2003) propuseram que a colonização das raízes e as respostas das plantas à inoculação com FMA diminuem com o avanço dos diferentes grupos ecológicos da sucessão. Acredita-se que as espécies de plantas das fases iniciais da sucessão são grandes multiplicadoras dos FMA, enquanto que as espécies das fases mais tardias podem ser fracas multiplicadoras.

O objetivo deste trabalho foi investigar a eficiência de diferentes comunidades de FMA oriundos de diferentes estádios da sucessão vegetal no crescimento da espécie arbórea *Heliocarpus americanus*. Espera-se que nos solos das áreas que se encontram nas fases iniciais da sucessão, as comunidades de FMA sejam mais abundantes e eficientes em promover o crescimento das plantas do que as comunidades de fungos das fases mais tardias da sucessão.

Materiais e Métodos

Local do experimento

O experimento foi conduzido na casa de vegetação do Departamento de Biologia Animal e Vegetal, localizada no Centro de Ciências Biológicas da Universidade Estadual de Londrina, na cidade de Londrina, Paraná.

As áreas de coleta dos solos estão localizadas nas proximidades da cidade de Londrina, Estado do Paraná, sul do Brasil (23° 27'S, 51° 15'W). O clima local é Cfa-mesotérmico de acordo com Köppen, caracterizado por verões quentes, sem estação seca definida, e uma temperatura média acima de 22 °C no mês mais quente. Totais de 1.600 mm de precipitação pluvial por ano (Chagas e Silva e Soares e Silva 2000) e o solo utilizado é classificado como Rhodic Ferrasol, segundo a FAO (1994).

Descrição das áreas de coleta

Áreas em início de sucessão: cinco áreas pertencentes às fases mais iniciais da sucessão foram escolhidas, segundo as características da vegetação que as cobre. A vegetação era de porte herbáceo ou herbáceo – arbustivo, com espécies de plantas que cresceram espontaneamente e representavam a maior diversidade possível de espécies em cada uma das áreas.

Área I (Inicial 1- I1) – localizada ao lado da Mata dos Godoy, era uma antiga plantação de café. O café foi retirado e o local abandonado, apresentando estabelecimento natural de espécies como capim colônia (*Panicum maximum*), capim braquiária (*Brachiaria decumbens*), capim amargoso (*Elionurus candidus*), capim rabo de burro (*Andropogon bicornis*), marcela (*Achyzocline satureoides*) e alecrim (*Rosmarinus officinalis*). Coordenadas: 23°26'32.8"S e 51°14'37.6"W.

Área II (Inicial 2- I2) – Essa área abrange os arredores do Condomínio de chácaras Vale do Luar, situado entre o Parque Estadual Mata dos Godoy e a UEL, em uma porção do terreno onde não apresenta fluxo de pessoas ou veículos e encontra-se relativamente distante de construções, apresentando estabelecimento espontâneo de espécies como grama mato grosso (*Paspalum notatum*), sojinha (*Cleome affinis*), alecrim (*Rosmarinus officinalis*), fumo bravo (*Solanum granuloso leprosum*), *Aegiphyla arrieira*, essas três últimas sendo espécies arbóreas pioneiras. Coordenadas: 23°21'22.9"S e 51°13'21.2"W.

Área III (Inicial 3- I3) – Essa área está localizada próxima à porção norte do fragmento conhecido como floresta do Bule, e apresenta crescimento espontâneo de espécies

como capim braquiária (*Brachiaria decumbens*), marcela (*Achyrocline satureoides*), alecrim (*Rosmarinus officinalis*), assa peixe (*Vernonia* sp), fumo bravo (*Solanum granulosum leprosum*), além de diversas espécies de Asteraceae. Coordenadas: 23°23'47.4"S e 51°13'21.2"W.

Área IV (Inicial 4- I4) - situada próxima a um fragmento florestal conhecido como floresta do Bruno Godoy. Apresenta predominantemente diversas espécies de gramíneas, como grama mato grosso (*Paspalum notatum*), grama seda (*Cynodon dactylon*) e capim amargoso (*Elionurus candidus*), além de espécies arbustivas como assa peixe (*Vernonia* sp) e arranha gato (*Acacia* sp), que é uma liana (trepadeira), bem como algumas espécies arbóreas pioneiras, como o leiteiro (*Tabernaemontana australis*), *Cestrum intermedium*, *Lueheia* sp e *Lonchocarpus* sp. Coordenadas: 23°27'41.6"S e 51°14'12"W.

Área V (Inicial 5- I5) - localizada próxima ao fragmento da floresta do Bule, estando situada mais na porção sul do fragmento. Apresenta diversas espécies de gramíneas, como capim braquiária (*Brachiaria decumbens*), capim colônia (*Panicum maximum*), além de algumas espécies arbóreas como *Trema michantra* e aroeira (*Schinus* sp). Coordenadas: 23°23'44.6"S e 51°16'00"W.

Áreas de floresta secundária: cinco florestas secundárias que apresentaram regeneração espontânea, com domínio de espécies arbóreas pioneiras e secundárias iniciais, com idade entre 15 a 30 anos, foram escolhidas para a coleta de solo.

Área I (Secundária 1- S1) - fragmento de regeneração natural com aproximadamente 20 anos, próximo ao reflorestamento do Parque Estadual Mata dos Godoy. Apresenta predominantemente espécies arbóreas como *Alchornea triplinervia*, *Anadenanthera colubrina*, *Croton floribundus*, *Parapipetadenea rigida*, *Tabernaemontana australi*, e *Cedrela fissilis*, além de diversas outras. Coordenadas: 23°26'49.7"S e 51°13'51.8"W.

Área II (Secundária 2- S2) - fragmento florestal, com idade entre 25 e 30 anos, localizada na estrada do patrimônio São Luís, próximo ao Parque Estadual Mata dos Godoy. Entre as espécies arbóreas que compõem essa paisagem estão o leiteiro (*Tabernaemontana australis*), *Croton floribundus*, ipê amarelo (*Tabebuia serratifolia*), guapuruvú (*Schizolobium parahiba*), canela preta (*Ocotea catharinensis*), sapuvinha (*Machaerium stipitatum*), tapiá (*Crateva tapia*), e algumas herbáceas, pertencentes as famílias Rubiáceas e Piperáceas. Coordenadas: 23°25'20.1"S e 51°13'52.7"W.

Área III (Secundária 3- S3) - fragmento com idade entre 25 e 30 anos, localizado atrás do ponto comercial conhecido localmente com "Bar dos Pretos", situado

próximo a estrada do Sautinho. Entre as espécies que compõem a flora dessa área estão diversas espécies predominantemente arbóreas, como *Casearia silvestris*, *Tabernaemontana australis*, *Croton floribundus*, *Solanum granuloso leprosum*, *Jacaranda puberula*, aroeirinha (*Schinus sp.*), canela preta (*Ocotea catharinensis*), jangadeiro (*Heliocarpus americanus*), açoita cavalo (*Luehea speciosa*), pessegueiro bravo (*Prunus sellowii*), plântulas jovens de *Guaria sp.*, e *Trichilia sp.*, além de algumas espécies herbáceas de Piperáceas. Coordenadas: 23°23'1.8"S e 51°14'32.7"W.

Área IV (Secundária 4- S4) - Fragmento com aproximadamente 25 anos, próximo ao reflorestamento do Parque Mata dos Godoy, apresentando em sua composição espécies como *Croton floribundus*, *Cedrela fissilis*, *Machaerium sp.*, *Tabernaemontana australis*, sapuva (*Machaerium stipitatum*), gurucaia (*Parapiptadenia rígida*), amora branca (*Rubus chamaemorus*), caviúna (*Dalbergia miscolobium*) e jangadeiro (*Heliocarpus americanus*). Coordenadas: 23°28'20.9"S e 51°15'21"W.

Área V (Secundária 5- S5) - Fragmento com aproximadamente 20 anos, próximo à floresta do Bruno Godoy, representado por espécies arbóreas como *Croton floribundus*, *Astronium sp.*, *Cestrum sp.*, *Solanum sp.*, pau d'alho (*Gallesia integrifolia*), jangadeiro (*Heliocarpus americanus*), canela preta (*Ocotea catharinensis*), ingá (*Inga sp.*) e sapuvinha (*Machaerium stipitatum*). Coordenadas: 23°28'16.4"S e 51°14'37.9"W.

Áreas de floresta madura: cinco fragmentos intactos de floresta madura pluvial e semidecidual foram escolhidos para a coleta de solo. Nas áreas descritas abaixo as espécies comumente encontradas foram: *Actinostemom concolor*, *Aspidosperma polyneuron*, *Balfourodendron riedelianum*, *Cedrela fissilis*, *Euterpe edulis*, *Gallesia integrifolia*, *Sorocea bonplandii*, *Gêneros de Guarea e Trichilia*.

Área I (Madura 1- M1) – Floresta Madura do Bruno Godoy. Coordenadas: 23°28'10"S e 51°15'25.6"W.

Área II (Madura 2- M2) – localizada na parte norte da Mata dos Godoy. Coordenadas: 23°26'38"S e 51°14'49.3"W.

Área III (Madura 3- M3) – localizada na parte sul da Mata dos Godoy. Coordenadas: 23°27'7"S e 51°14'28.9"W.

Área IV (Madura 4- M4) - Denominada de Mata do bule – norte. Coordenadas: 23°24'35.9"S e 51°19'6.1"W.

Área V (Madura 5- M5) – Denominada de Mata do bule – sul. Coordenadas: 23°24'41.1"S e 51°19'17.1"W.

Obtenção e preparação do inóculo de FMA

Os solos utilizados como base de inóculo foram coletados nas diferentes áreas, em até 10 cm de profundidade, com auxílio de enxadão. Vinte amostras de solo de aproximadamente 200 g foram coletadas em cada sítio pertencente às diferentes áreas escolhidas. Todas as amostras coletadas em um sítio foram colocadas em um único saco plástico e posteriormente misturadas por agitação vigorosa, obtendo-se uma amostra composta e homogênea, representativa do sítio de origem. Com isso, foram obtidas amostras compostas de 15 sítios oriundos de três áreas em diferentes estádios da sucessão. Após a coleta, os solos foram passados em peneiras de malha 0,5 mm para retirada de torrões, grandes fragmentos de matéria orgânica e raízes grossas. O solo assim obtido foi designado solo-inóculo, o qual continha fragmentos de raízes finas, fragmentos de hifas e esporos de FMA representativos dos diferentes sítios.

Obtenção e transplante das plântulas para os diferentes solos-inóculos.

Sementes de *Heliocarpus americanus* foram colocadas para germinar em areia esterilizada. As plântulas com aproximadamente 7 cm de altura e aspecto saudável foram transferidas da areia para recipientes (copos) plásticos com capacidade para 50 cm³ de volume interno. Nestes recipientes foram adicionados 40 cm³ de solo-inóculo oriundos dos diferentes sítios de coleta. Transplantou-se uma plântula em cada recipiente e 14 plântulas em cada tipo de solo-inóculo. Este mesmo procedimento foi adotado para o grupo controle, onde uma mistura dos diferentes solos-inóculos foi preparada e esterilizada por três dias consecutivos em vapor fluente para eliminar os propágulos dos FMA. As plântulas permaneceram crescendo nos 16 tipos de substratos (cinco provenientes de cada fase da sucessional e um mistura esterilizada usada como controle) por dois meses na casa de vegetação, período para que haja colonização micorrízica, a partir do inóculo contido em cada sítio de origem, pudessem colonizar as raízes das plântulas.

Para testar o potencial e a efetividade dos solos-inóculos oriundos das diferentes áreas, as plântulas crescidas nestes solos-inóculos foram transplantadas em solos com dois níveis de fertilidades e ausência de propágulos de FMA. Para tanto, foi coletado subsolo a três metros de profundidade que foi misturado com 20% de areia lavada para evitar a compactação do solo. Metade desta mistura foi originalmente mantida, obtendo-se desta um substrato de baixa fertilidade. A outra metade foi fertilizada com adição de adubo orgânico, obtendo-se assim o solo denominado fértil. O resultado da análise química dos substratos é

mostrado na Tabela 1. O carbono (C) foi determinado colorimetricamente com $\text{Na}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ 2M + H_2SO_4 5M; cálcio (Ca) e magnésio (Mg) foram extraídos com KCl 1M e determinados por titulação; o fósforo (P) e potássio (K) foram extraídos com Melich 1 e determinado por colorimetria e fotometria de chama, respectivamente. O nitrogênio (N) total foi determinado após digestão sulfúrica com elevação gradativa da temperatura em bloco digestor até 350°C. Após a destilação foi realizada titulação com H_2SO_4 0,02 N na presença de solução indicadora. O pH do solo foi determinado em suspensão de solo com CaCl_2 0,01 M na proporção 1:2,5 solo-solução. Cem sacos plásticos pretos foram preenchidos com 1500 cm³ de solo infértil e outros 100 sacos, com 1500 cm³ de solo fértil. Todos os sacos foram esterilizados com brometo de metila por uma semana, para eliminação dos propágulos de FMA do solo. Os sacos de cultivo foram transferidos para a casa de vegetação e distribuídos em bancadas, onde permaneceram por uma semana, para completa eliminação do brometo. Antes de realizar o transplântio, os sacos foram molhados e receberam 50 mL de um filtrado de solo, isento de propágulos de FMA, para a recomposição da comunidade microbiana do solo.

As plântulas crescidas nos 15 tipos de solos-inóculos e no controle foram transplantadas para os dois tipos de solos com diferentes fertilidades. O transplântio foi realizado com a retirada da plântula do recipiente de crescimento. Um orifício foi aberto no centro do saco de cultivo e a plântula com o substrato de crescimento aderido às raízes foi transplantada no orifício de plantio. Foram plantadas seis plântulas em solo infértil e seis em solo fértil para cada tratamento, totalizando 192 sacos de cultivo. As plântulas permaneceram crescendo por cinco meses em casa de vegetação, coberta com tela sombrite 50%.

Crescimento e biomassa da parte aérea

Foram coletados mensalmente os dados relacionados à altura das plântulas. Após o período de crescimento das plântulas em casa de vegetação e para evitar diferenças no crescimento destas entre os diferentes tipos de solos-inóculo testados, as plantas foram desmontadas no período de uma semana, que compreende o espaço de tempo entre o começo e o final do desmonte. As plântulas foram retiradas dos sacos de cultivo e suas raízes lavadas cuidadosamente em água corrente.

Para obtenção da massa seca da parte aérea (caule e folhas) e das raízes, as plantas foram secas em estufa a 65 C° até obterem massa constante. Com os dados de biomassa seca da raiz e parte aérea foi determinada a alocação de biomassa para a raiz, que é calculada pela divisão da biomassa seca da raiz pela parte aérea, e expressa em g g⁻¹. Os dados

da massa seca da parte aérea foram usados para calcular o grau de resposta (responsividade) de *H. americanus* na presença dos FMA que foi calculada pela diferença entre a biomassa da parte aérea das plantas dos solos com e sem FMA, em porcentagem.

A concentração de macro e micro nutrientes na parte aérea das plântulas foi determinada no laboratório de análise química do solo e tecido vegetal do Instituto Agrônômico do Paraná, Londrina.

Colonização das raízes por FMA

Para estimar a colonização das raízes pelos FMA, amostras contendo aproximadamente 1 g de raízes frescas foram clarificadas em KOH 10%, lavadas em água corrente, acidificadas com HCl 1% e coradas com azul de tripano 0,05% em solução de lactoglicerol (Phillips e Hayman 1970). Segmentos de raízes finas com 1,0 cm de comprimento, previamente coradas, foram usados para determinar o total de colonização micorrízica, utilizando o método de intersecção de quadrantes descrito por Giovannetti e Mosse (1980).

Análise estatística

Os efeitos dos diferentes inóculos sobre as variáveis analisadas foram analisados pela ANOVA e posterior aplicação de teste de Tukey a 5% de probabilidade para cada solo (fértil e infértil). Os dados que não apresentaram distribuição normal foram transformados para análise estatística. As porcentagens de colonização da raiz foram transformadas para *arco seno* $(x/100)^{0,5}$; os dados de massa seca da parte aérea e da raiz foram transformados usando \log_{10} .

Resultados

Altura das plantas

Houveram grandes diferenças na altura das plantas mantidas em solo fértil em relação às plantas que cresceram em solo infértil, principalmente depois dos 60 dias (Figura 1). No solo fértil, as plantas que cresceram com FMA oriundos das áreas iniciais e da floresta secundária apresentaram maior crescimento do que aquelas crescidas em solos estéril (controle) ou com inóculo oriundo de áreas de floresta madura. De maneira semelhante, no solo infértil as plantas apresentaram as maiores alturas quando mantidas em solo com inóculo

proveniente das áreas iniciais e secundárias, enquanto que as menores plantas correspondem aos inóculos de área madura e ao controle. Vale ressaltar que plantas com inóculos das áreas de floresta madura cresceram menos que o controle até os 120 dias de crescimento, sendo que apenas após os 150 dias, o crescimento das plantas com inóculos de áreas maduras foi superior ao controle. Na figura 2 é possível observar o resultado no final do experimento, que ilustra os dados apresentados na figura 1.

Análise da biomassa

A massa seca da parte aérea das plantas mantidas em solo fértil foi elevada e não houveram diferenças entre os diferentes inóculos e o controle (Figura 3A). As plantas mantidas em solo infértil apresentaram diferenças significativas entre os tratamentos, sendo que o maior investimento de biomassa na parte aérea foi evidenciado nas plantas com inóculo proveniente das áreas S5, I2 e I5, tendo a parte aérea dessas plantas em média 0,93 g, 0,9 g e 0,85 g, respectivamente. Esses valores são aproximadamente 43 vezes maiores do que a massa seca da parte aérea das plantas do grupo controle e 3,4 vezes maiores que a das plantas inoculadas com comunidades de fungos provenientes das áreas maduras. As médias da massa seca da parte aérea das plantas inoculadas com fungos das áreas iniciais, florestas secundárias e maduras podem ser observadas na figura 3B. As plantas mantidas em solo fértil não apresentaram diferenças entre os tratamentos, sendo indiferentes ao tipo de inóculo. Entretanto, as plantas cultivadas em solo infértil apresentaram massa seca da parte aérea maior quando o inóculo era proveniente de áreas iniciais e de florestas secundárias, em detrimento do inóculo das áreas maduras, onde se notou o menor ganho em biomassa da parte aérea. A massa seca média da parte aérea das plantas inoculadas com fungos de áreas iniciais e florestas secundárias foi aproximadamente 4,7 vezes maior do que das inoculadas com fungos de áreas maduras.

A massa seca da raiz das plantas mantidas em solo fértil (Figura 4A) foi cerca de 7,5 vezes superior à das plantas crescidas em solo infértil. A massa seca da raiz das plantas mantidas em solo fértil não diferiu entre os tratamentos, apresentando em média 2,27 g, enquanto as plantas mantidas em solo infértil apresentaram em média 0,3 g de massa seca da raiz. Considerando apenas o solo infértil, podemos observar diferença entre os tratamentos. O maior investimento em raiz foi verificado nas plantas inoculadas com fungos provenientes das áreas S5, I5 e I2. Todas as plantas inoculadas com fungos oriundos da floresta madura apresentaram valores semelhantes aos das plantas controle, sendo estes, no entanto menores.

As médias de massa seca das raízes das plantas mantidas em solo fértil (Figura 4B) não foram estatisticamente diferentes. Similarmente ao observado na produção de massa seca da parte aérea, plantas cultivadas em solo infértil e inoculadas com fungos da floresta madura apresentaram valores de massa seca da raiz significativamente menores que os observados nas plantas inoculadas com fungos das áreas iniciais e secundárias.

A razão raiz:parte aérea das plantas mantidas em solo fértil foi aproximadamente de 0,5 (Figura 5) indicando que houve maior dreno de compostos assimilados para a formação de ramos e folhas. Já as plantas mantidas em solo infértil apresentaram valores próximos de 0,7, mostrando que estas investiram mais na formação de raízes. Analisando as médias das áreas iniciais, secundárias e madura (Figura 5B), verifica-se que as plantas inoculadas com comunidades de FMA naturais de áreas iniciais e de florestas secundárias investiram mais em raiz quando estavam em solo infértil. Entretanto, quando as plantas foram inoculadas com fungos procedentes de áreas maduras, essa diferença no padrão de alocação de biomassa não foi observada, sendo que a razão raiz: parte aérea entre as plantas cultivadas em solo fértil foi muito parecida com a das plantas mantidas em solo infértil. Nesta última condição, as plantas investiram menos em raiz quando inoculadas com fungos procedentes de áreas maduras.

Concentração de nutrientes nas folhas

Os teores de N, P, K, Ca, Mg, Cu, Zn, B e Mn nas folhas de *Heliocarpus americanus* são apresentados na tabela 2. Não foi possível obter o teor de nutrientes do grupo controle crescido no solo infértil devido à pequena quantidade de biomassa.

Os nutrientes N e Cu estão em maior concentração na folha das plantas que cresceram em solo infértil. Nesta condição as plantas inoculadas com fungos procedentes das áreas iniciais apresentaram teor de Mn maior do que as plantas mantidas com o mesmo inóculo em solo fértil.

Nas plantas mantidas em solo fértil os teores dos nutrientes K, Ca, Mg, B e Mn não diferiram entre os tratamentos. As concentrações de N e P foram menores nas plantas e nas inoculadas com FMA oriundos de florestas maduras. O teor de Cu diferiu apenas nas plantas com inóculo de áreas iniciais, onde se observou as maiores concentrações de Cu em relação ao controle. Para Zn a menor concentração foi observada nas plantas controle, não diferindo significativamente dos valores obtidos nas plantas do tratamento com inóculo de

áreas iniciais. A concentração deste elemento foi maior nas plantas mantidas com inóculos de áreas secundárias que não diferiu dos tratamentos com inóculos de áreas iniciais e maduras.

Nas condições de baixa fertilidade, as concentrações de K e Mg da parte aérea das plantas cultivadas sob diferentes fontes de inóculos não diferiram significativamente (Tab. 2). O nitrogênio foi encontrado em maior quantidade nas folhas das plantas crescidas em solo com inóculo de áreas maduras, diferindo entre plantas crescidas com inóculos de áreas iniciais e secundárias. As concentrações de P, Ca e Mn foram maiores nas plantas que cresceram com inóculos de áreas iniciais, seguidas pelas plantas com inoculadas com FMA de áreas secundárias, e das inoculadas com FMA de áreas maduras. Os nutrientes Cu, Zn e B estiveram em maior concentração nas folhas das plantas inoculadas com FMA das áreas maduras, enquanto os teores das plantas que receberam inóculos das áreas iniciais e secundárias não diferiram entre si.

Colonização micorrízica

A colonização das raízes foi maior nas plantas cultivadas em solo fértil (Figura 6A). Em ambos os solos, as plantas que cresceram com inóculos provenientes de áreas iniciais e das secundárias apresentaram maiores porcentagens de colonização. Nestas condições, a colonização foi significativamente superior a observada nas plantas inoculadas com FMA das florestas maduras. A colonização média das raízes (Figura 6B) com inóculo de áreas iniciais e secundárias foi quase o dobro da colonização das plantas que cresceram com inóculo de área madura, independente da fertilidade do solo.

Responsividade

O grau de resposta das plantas micorrizadas, denominado responsividade, mostra que as plantas cultivadas em solo fértil apresentaram baixo grau de resposta à inoculação e não diferiram entre os tratamentos avaliados (Figura 7A). Já as plantas crescidas em solo infértil apresentaram diferenças significativas entre os tratamentos, sendo que as plantas mantidas com inóculos das áreas iniciais e secundárias apresentaram resposta a inoculação maior do que as plantas mantidas com fungos de áreas maduras (Figura 7A). A responsividade foi muito grande entre as plantas mantidas em solo infértil e crescidas com FMA proveniente das áreas iniciais e secundárias quando comparadas com aquelas inoculadas com FMA da área madura (figura 7B). A média da responsividade das plantas cultivadas em solo fértil não diferiu entre os tratamentos.

Discussão

*Efeito dos FMA no crescimento de *Heliocarpus americanus**

A planta hospedeira respondeu positivamente à colonização por fungos micorrizicos arbusculares, o que é atribuível ao aumento na absorção dos macro e micronutrientes, principalmente o P (Read, 1991; Sanders *et al.* 1995b). Este aumento é obtido devido às ramificações do micélio fúngico que permitem a maior exploração e absorção do P disponível no solo (Newsham *et al.* 1995). A inoculação de FMA em plantas hospedeiras produz aumentos na absorção de nutrientes, incrementando o conteúdo de nutrientes na raiz e parte aérea, resultando em maior produção de biomassa vegetal (Smith & Read 1997).

As micorrizas são consideradas regra, e não exceção, pois a simbiose contribui para o estabelecimento, o crescimento e a sobrevivência das plantas. Zangaro (1997), trabalhou com 43 espécies do rio Tibagi e verificou que destas, 11 espécies pertencentes às fases finais da sucessão não foram beneficiadas pela inoculação de FMA e dessas duas não apresentaram colonização micorrízica. Redhead (1980) encontrou um padrão parecido em plantas nativas de uma floresta tropical na Nigéria. Das 51 espécies, 44 tinham FMA, três apresentavam ectomicorrizas e quatro não apresentavam a simbiose. As espécies arbóreas nativas do Sudeste do Brasil também demonstram alta colonização por FMA; Siqueira *et al.* (1998) verificaram que das 26 espécies estudadas, apenas três não apresentaram colonização micorrízica.

Neste estudo, foi possível constatar o maior crescimento das plantas mantidas em solo fértil. Nestas, as porcentagens de colonização foram altas, diferentemente do observado em estudos similares. No geral, os dados mostram que a prática de inoculação não é bem sucedida em solos muito férteis ou naqueles submetidos à elevada adubação, pois a alta disponibilidade de nutrientes inibe o estabelecimento da simbiose e, mesmo que esta se estabeleça, os benefícios para a planta são reduzidos, inexistentes ou até depressivos, porque os FMA podem atuar como parasitas (Hodge 2004; Siqueira 1994). Os dados de responsividade obtidos no presente estudo concordam com tais evidências.

Read (1991) e Grahan e Eissenstat (1994) relataram que plantas que cresceram em solos com baixa disponibilidade de nutrientes, principalmente P, apresentam porcentagens de colonização por FMA mais altas que plantas que cresceram em solos com grande disponibilidade de nutrientes. Neste estudo, as plantas mantidas em solo infértil responderam às diferentes comunidades de FMA de modos diferentes nos aspectos

colonização e responsividade. De modo geral, plantas com maior porcentagem de colonização apresentaram melhor desenvolvimento e maior acúmulo de biomassa. A fertilidade do solo, assim como a origem das comunidades de FMA influenciaram o crescimento de *Heliocarpus americanus*, sendo as comunidades de FMA das áreas iniciais e das florestas secundárias mais efetivas do que das florestas maduras.

A baixa disponibilidade de P no solo é um fator limitante para o crescimento da planta em ecossistemas tropicais (Vitousek, 1984; Brundrett 2002) e altas taxas de absorção de P são necessárias para suportar o crescimento rápido das espécies tropicais pertencentes às fases iniciais da sucessão. Siqueira e Saggin-Júnior (2001) e Zangaro *et al.* (2005, 2007) verificaram que a colonização das raízes por FMA é essencial para a aquisição de nutrientes e sobrevivência das mudas de plantas de espécies lenhosas tropicais do início da sucessão. Estas apresentam raízes com morfologia que aparenta elevada capacidade de absorção, mas não são capazes de garantir a adequada nutrição para manter a sua taxa de crescimento rápido.

A sucessão vegetal é um processo contínuo que começa quando as plântulas de espécies pioneiras colonizam as áreas progredindo para estágios tardios em que as plantas competem para se instalarem no ambiente ao longo do tempo (Guariguata e Ostertag 2001). A taxa de crescimento difere entre as espécies de plantas. Quando comparamos espécies de crescimento lento com espécies de crescimento rápido notamos que as últimas apresentam metabolismo intenso, alto requerimento nutricional (Lusk *et al.* 2008) e grande crescimento das raízes finas, com maior exploração do solo e captura de nutrientes (Comas e Eissenstat 2004). A associação micorrízica aumenta o potencial de absorção pelas raízes (Smith e Read 1997; Brundrett 2004), a associação de hifas de FMA e as características morfológicas das raízes das gramíneas e espécies lenhosas iniciais permitem que as plantas explorem um extenso volume do solo, com alta eficiência para manter o elevado crescimento.

Zangaro *et al.* (2005; 2007) encontraram nas espécies arbóreas das fases iniciais da sucessão, alta resposta e alta colonização micorrízica, raízes com baixo diâmetro, pêlos absorventes longos e abundantes. Sugeriram que a morfologia das raízes das espécies de crescimento rápido apresenta características que facilitam a colonização pelos FMA do solo. A rápida taxa de crescimento e a grande demanda por nutrientes, comum entre as espécies arbóreas pioneiras e secundárias iniciais, podem levar estas espécies a apresentarem deficiência de P na parte aérea, o que aumenta a exsudação da raiz e a colonização pelos FMA (Zangaro *et al.* 2000; 2005). Assim, as características metabólicas e morfológicas da raiz das plantas pioneiras influenciam na diversidade e abundância da comunidade FMA presentes nas

áreas do início da sucessão e florestas secundárias. As raízes finas e os pêlos absorventes agem ativamente na exsudação de polissacarídeos que atraem os simbioss. Características como alto comprimento e alto comprimento específico da raiz assim como elevada incidência de pêlos absorventes, observadas em plantas do início da sucessão, permitem que os exsudados alcancem longas distâncias no solo. Ao contrário, plantas dos estádios tardios da sucessão devem exsudar menos porque apresentam baixo comprimento da raiz e poucos pêlos absorventes (Zangaro *et al.* 2008).

Zangaro *et al.* (2008) sugeriram que existem estratégias diferentes das raízes das plantas para adaptação nos diferentes estágios sucessionais e melhor exploração do solo para a aquisição de nutrientes. Raízes finas são influenciadas pela disponibilidade de nutrientes (Eissenstat *et al.* 2000; Powers *et al.* 2005) e suas principais funções são absorção de água e nutrientes do solo (Jackson *et al.* 1997). Nos estágios sucessionais iniciais, as plantas exibem morfologia de raízes finas que facilitam a colonização por FMA e aumentam a eficiência de absorção de nutrientes do solo, facilitando a exploração de recursos. Já a morfologia das raízes finas das plantas dos estágios tardios da sucessão demonstra que estas apresentam menor taxa de proliferação da simbiose micorrízica, uma menor capacidade de exploração do solo e de aquisição de nutrientes. Alterações na morfologia do sistema de raízes, como no seu comprimento e diâmetro, podem alterar a eficiência de absorção de água e nutrientes do solo, principalmente aqueles com baixa mobilidade (Eissenstat 1992).

Para uma maior eficiência de exploração de solo, plantas dos estágios iniciais da sucessão apresentam alto comprimento específico das raízes (Wright e Westoby 1999; Raghothama e Karthikeyan 2005). As raízes finas de espécies de crescimento rápido, caracterizam-se pelo baixo diâmetro e baixa densidade do tecido (Comas *et al.* 2002), têm mais pêlos radiculares (Zangaro *et al.* 2005) e são geralmente muito mais colonizadas por FMA, em comparação com espécies de crescimento lento (Zangaro *et al.* 2003; Matsumoto *et al.* 2005).

Zangaro *et al.* (2005, 2007) observaram que espécie arbóreas com crescimento rápido apresentam níveis mais elevados de colonização das raízes por FMA quando comparadas com espécies de crescimento lento e sugeriram que isso poderia ser devido a características morfológicas da raiz que favorecem maior contato com propágulos do fungo no solo.

Comparando as características morfológicas e distribuição de raízes finas, colonização por FMA, níveis de fertilidade do solo, e concentração de nutrientes em tecidos de raízes finas em áreas em diferentes fases sucessionais: gramíneas, floresta secundária e

floresta madura no sul do Brasil, Zangaro *et al.* (2008) verificaram que a distribuição da biomassa de raízes finas para baixas profundidades (10-20 cm) do solo foi semelhante entre as diferentes áreas. Mais de 50% das raízes ocorreram na camada superficial do solo (Hendrick e Pregitzer 1996; Muthukumar *et al.* 2003; Powers *et al.* 2005), que é intensamente explorada por uma maior concentração de raízes finas que absorvem nutrientes (Hodge 2004; Lynch e Ho 2005). A biomassa e comprimento de raízes finas foram menores na floresta madura do que na floresta secundária. Estes resultados estão de acordo com outros estudos indicando que a biomassa e o comprimento de raízes finas de uma floresta secundária pode ser semelhante ou maior que a encontrada em uma floresta madura (Cavalheiro e Nepstad 1996; Cavelier *et al.* 1996).

Sugere-se, com base nos resultados relacionados ao comprimento de raízes finas, comprimento específico da raiz, diâmetro da raiz fina, comprimento dos pêlos absorventes da raiz, incidência dos pêlos da raiz e o elevado nível de colonização micorrízica, que as espécies vegetais da área de gramíneas e espécies lenhosas do início sucessional apresentam máxima eficácia no uso de carbono para a construção do sistema de raiz e são mais eficazes na exploração do solo do que espécies arbóreas de uma floresta madura. Assim, há um investimento adequado de carbono para crescimento das raízes, dos pêlos absorventes da raiz, e dos FMA, a fim de melhorar a eficácia de absorção de nutrientes necessários às espécies de crescimento rápido (Zangaro *et al.* 2008). Devido a estas características, a disponibilidade de propágulos dos FMA nas áreas iniciais da sucessão e florestas secundárias é maior do que nas florestas maduras, o que justifica maior colonização e resposta das plantas de *H. americanus* quando crescidas com FMA originários dessas áreas.

Absorção de nutrientes

Plantas colonizadas por FMA requerem menos nutrientes disponíveis no solo devido à maior eficácia na exploração do solo e absorção de nutrientes, sendo que o requerimento nutricional pode ser reduzido à metade ou até a 1/10 quando comparadas à plantas não micorrizadas (Siqueira e Franco, 1988). Esses efeitos são mais acentuados, na maioria das plantas, para nutrientes que possuem baixa mobilidade no solo, como P, Zn e Cu (Pacovsky, 1986). O favorecimento na absorção de nutrientes pelas raízes resulta, principalmente, do aumento da área de superfície das raízes micorrizadas, que podem conter até 1,5 m de hifa em cada cm de raiz colonizada. As hifas espalham-se no solo e podem representar aumentos de 10 a 60 vezes na superfície e na taxa de absorção do nutriente

(Siqueira *et al.* 1988). Assim, capacidade absorção e a utilização dos nutrientes da solução do solo será aumentada e o requerimento de fertilizantes será reduzido na mesma proporção (Silveira, 1992).

No presente trabalho foi possível observar que a colonização das plantas mantidas em solo fértil foi maior do que as mantidas em solo infértil, isso aconteceu provavelmente porque as plantas do solo fértil cresceram mais e produziram mais folhas o que pode manter mais FMA na raiz, refletindo em alta colonização. O maior crescimento de raiz e parte aérea das plantas dos inóculos das áreas iniciais e florestas secundárias do que das florestas maduras pode ser devido à maior disponibilidade dos FMA nas fases iniciais da sucessão.

As plantas de solos inférteis apresentam valores mais consistentes na concentração dos minerais nos tecidos, sendo também uma estratégia conservativa no uso desses recursos (Valladares *et al.* 2000). Ao compararmos as concentrações de P nas folhas com a porcentagem de colonização, é possível notar que à medida que diminui a taxa de colonização, independentemente do nível de fertilidade do solo, também diminui o teor de P nas folhas. Assim, as plantas mantidas com inóculo de áreas iniciais foram mais favorecidas pelos FMA, com reflexo na troca de nutrientes e conseqüentemente aumento da biomassa vegetal.

As comunidades de FMA das áreas iniciais e das áreas de florestas secundárias foram efetivas em promover maior absorção de nutrientes do que as comunidades de FMA das áreas de florestas maduras, onde a absorção foi igual às plantas que cresceram sem FMA. Resultado semelhante foi observado por Mullen e Schimdt (1993) ao estudarem *Ranunculus adoneus*, onde a concentração de P nos tecidos foi proporcional à colonização das raízes por FMA. *Paspalum conjugatum* e *Erythrina berteroana* também apresentaram maior acúmulo de P nas folhas das plantas inoculadas quando comparadas às não inoculadas (Cooperband *et al.* 1994).

Ao estudar a influência dos FMA no desenvolvimento de espécies florestais da bacia do rio Tibagi, Zangaro *et al.* (2000) observaram que a inoculação elevou o conteúdo de P, K e Ca nas folhas, especialmente das espécies pertencentes às fases iniciais da sucessão. Siqueira *et al.* (1998) observaram resultados semelhantes em plantas dos estádios iniciais da sucessão das florestas do Sudeste do Brasil. Zangaro e Andrade (2002) observaram que os teores de P, Ca e K para as espécies secundárias tardias e climáceas foram 1,8, 1,7 e 1,4 vezes maiores do que para as pioneiras e secundárias iniciais no tratamento não inoculado respectivamente, sugerindo que as espécies arbóreas pioneiras e secundárias iniciais

apresentam maior limitação na capacidade de aquisição de nutrientes minerais, em situações de baixa fertilidade do solo e na ausência de FMA, quando comparadas com outros grupos ecológicos mais avançados da sucessão. Como pode ser observado, os FMA estão envolvidos nos aumentos tanto da taxa de crescimento das plantas como nos teores de alguns nutrientes.

Alocação de biomassa em H. americanus

A determinação da razão raiz/parte aérea mostra o equilíbrio entre os órgãos da planta, uma vez que indica a existência de uma interdependência entre os órgãos no balanço por água, nutrientes e carbono (Bernardi *et al.* 2000; Cooperband *et al.* 1994; Lynch & Ho, 2005).

A diferença na alocação de biomassa entre os órgãos da planta de *H. americanus* ressalta a plasticidade da planta frente as diferentes situações a que foi submetida e que pode encontrar em ambiente natural. Plantas cultivadas em solos de baixa fertilidade, em geral, apresentam maior alocação de biomassa nas raízes, o que concorda com os dados do presente estudo (Tilman 1994; Comas e Eissenstat 2004). As mudanças morfológicas e fisiológicas em raízes finas geralmente apresentam alta plasticidade nos solos com diferentes níveis de fertilidade (Hodge, 2004). Em espécies lenhosas, a plasticidade das raízes finas é geralmente maior em espécies de crescimento rápido do que em espécies de crescimento lento (Comas *et al.* 2002; Zangaro *et al.* 2007).

Zangaro e Andrade (2002) observaram em plantas de espécies arbóreas que a razão raiz/parte aérea diminui nas plantas dos grupos ecológicos das fases iniciais da sucessão na presença dos FMA, indicando que os FMA foram importantes para o desenvolvimento de suas raízes e para aumento da fixação de C pela parte aérea. As espécies secundárias tardias e climáceas apresentaram baixa resposta a inoculação e pequenas mudanças na alocação de biomassa, indicando a limitada capacidade dos FMA em proporcionar aumento no desenvolvimento vegetativo das raízes e da parte aérea.

As plantas com inóculo de áreas das fases iniciais e das florestas secundárias apresentaram maior desenvolvimento das raízes, enquanto as plantas com inóculo de áreas de floresta maduras revelaram maior crescimento da parte aérea e menor da raiz, sendo assim a razão raiz/parte aérea diminuiu à medida que a origem dos inóculos avançam na sucessão vegetal, independentemente da fertilidade do solo. Este padrão é notório nas plantas crescidas em solo infértil, sendo que a baixa disponibilidade dos minerais no solo leva

ao menor crescimento da parte aérea e maior investimento nas raízes (Marchner 1995; Hodge 2004).

Colonização micorrízica e densidade de esporos de FMA nas diferentes fases da sucessão

Os FMA apresentam diferentes formas de propágulos, sendo assim a associação pode ser iniciada por esporos que germinam e formam hifas infectivas, capazes de diferenciar apressórios que fixam o FMA à superfície da raiz, possibilitando a penetração da hifa infectiva nas células epidérmicas e do córtex da raiz. A associação pode também ser iniciada a partir de hifas presentes no solo ou em raízes colonizadas (Sieverding, 1991). Alguns fatores bióticos, como fisiologia do hospedeiro, dos microrganismos do solo, quantidade e composição do inóculo, assim como fatores ambientais, apresentam influência no número de infectividade dos propágulos, velocidade da colonização, genótipo e fisiologia do hospedeiro, e da somatória destes fatores tem-se o potencial de inóculo (Tommerup, 1992).

Vários estudos demonstram que a colonização por fungos micorrízicos arbusculares diminui com o avanço da sucessão (Zangaro *et al.* 2000, 2003, 2005, 2007, 2008), sendo que o grau de colonização radicular é frequentemente relacionado à abundância de propágulos de FMA no solo (McGonigle *et al.* 1990; Gange *et al.* 1993).

Esporos de FMA foram mais abundantes em solo de pastagem em relação ao seco Jarrah florestais na Austrália (Jasper *et al.* 1991), floresta úmida secundária na Costa Rica (Fischer *et al.* 1994), floresta seca do México (Allen *et al.* 1998) e florestas tropicais no sul do Brasil (Zangaro e Andrade, 2002). Picone (2000) avaliou os impactos na biodiversidade de FMA em áreas convertidas à agricultura na Nicarágua e Costa Rica, comparando a abundância e diversidade de FMA em áreas de floresta e de pastagem. O número total de esporos de FMA foi maior em áreas de pastagem do que em solo florestal, assim como a diversidade dos esporos de FMA, concordando com outros estudos em áreas tropicais. Das 28 morfo espécies de fungos encontradas, 11 produziram mais esporos na pastagem e apenas uma produziu mais esporos na floresta. Cordeiro *et al.* (2005) avaliaram a colonização micorrízica e a densidade de esporos de FMA no entorno do Parque Nacional das Emas e verificaram que as áreas sob cultivo de gramíneas apresentaram maiores colonização micorrízica e densidade de esporos de FMA. As interferências no solo provocadas pela introdução de plantas exóticas e pelo manejo do solo promoveram aumentos no número de esporos de FMA e alterações na colonização micorrízica quando comparadas às áreas sem interferência antrópica (Cerrado), onde houve menor colonização micorrízica. De acordo com Bethlenfalvay e Linderman (1992), isso indica que o estabelecimento da simbiose

micorrízica é uma estratégia dessas plantas para superar estresses bióticos e abióticos que ocorrem no solo.

Fisher *et al.* (1994) pesquisaram o potencial de inóculo de quatro áreas, em La Selva, Costa Rica através da quantidade de propágulos em 100 g de solo. Encontraram 62,8, 10,2, 7,0 e 10,4 propágulos em áreas de pastagem, no interior da floresta secundária e em solos descobertos de vegetação de seis e quatro anos, respectivamente. O baixo potencial de inóculo da área secundária foi justificado como sendo resultado da perturbação da rede de hifas durante a coleta do solo e preparação do bioensaio. O alto potencial de inóculo das áreas de pastagem foi atribuído à quantidade de esporos, que devem ter sido a principal forma de inóculo.

Na floresta madura foram encontrados poucos esporos de FMA, sendo isto justificado pelo fato de que na floresta, a infecção pode se dar através das hifas, entre as plantas micotróficas vizinhas, visto que a esporulação requer uma maior quantidade de carbono. Assim, a grande quantidade de hospedeiros compensa a pequena produção de esporos (Janos 1992, 1996).

Através da diluição de solos, Jasper *et al.* (1991) determinaram a infectividade do solo perturbado de três tipos diferentes de vegetação nativa, na Austrália. Foi constatado que a floresta madura e da Charneca apresentaram de dez a vinte e cinco vezes menos propágulos do que as áreas dominadas por gramíneas. Os autores concluíram que a alta quantidade de propágulos em solo com gramíneas garantem que a associação seja mantida após a perturbação, enquanto que na floresta madura e na Charneca a perturbação possa limitar a formação de associação com FMA.

Zangaro *et al.* 2000 avaliaram o potencial de inóculo de fungos retirados da floresta madura do Parque Estadual Mata dos Godoy, de uma área de clareira na mesma floresta e em uma área desmatada e abandonada para regeneração natural e inoculados em *Cecropia pachystachya*. Eles observaram que o potencial de inóculo de FMA oriundo da área em início de sucessão foi cinco vezes maior do que Floresta madura e da área de clareira da mesma floresta. As plantas inoculadas com fungos da área em início de sucessão apresentaram 63% de colonização micorrízica, enquanto as inoculadas com fungos da área de clareira apresentou 14% e da floresta madura 11%.

Assim, acredita-se que as maiores porcentagens de colonização das raízes por FMA oriundos das fases iniciais e das florestas secundárias estão ligadas com o maior potencial de inóculo encontrado no solo destas áreas do que nos solos das florestas maduras.

Diminuição do potencial de inóculo de FMA com o avanço da sucessão

A abundância de FMA no solo é frequentemente relacionada com o grau de colonização radicular (McGonigle *et al.* 1990; Gange *et al.* 1993). Assim, ocorre maior investimento na simbiose por plantas das fases iniciais da sucessão em relação às espécies das fases finais. Portanto, os inóculos provenientes de áreas em início de sucessão e de florestas secundárias possuem maior conteúdo de FMA, o que reflete no maior crescimento de *H. americanus* em relação às florestas maduras. Os estádios iniciais da sucessão são locais onde as espécies de plantas favorecem a simbiose, multiplicando os propágulos dos FMA.

A colonização das raízes das plantas e a quantidade de esporos no solo diminuem com o progresso na sucessão (Aidar *et al.* 2004, Zangaro *et al.* 2000, 2003, 2008, Powers *et al.* 2005). As gramíneas e espécies lenhosas de início de sucessão (espécies de crescimento rápido) investem mais na simbiose com FMA do que as espécies arbóreas nativas de uma floresta madura, que normalmente possuem crescimento mais lento (Zangaro *et al.* 2008). Aidar *et al.* (2004) encontraram reduções de colonização por FMA nas raízes de espécies na mata Atlântica, no sudeste do Brasil e sugeriram que a colonização fúngica diminui com o aumento da fertilidade do solo. Zangaro *et al.* (2000) encontraram baixa densidade de esporos e baixa colonização radicular por FMA em plantas de uma floresta madura no sul do Brasil e sugeriram que as espécies de crescimento lento são menos capazes de manter os fungos, por causa de características fisiológicas, como baixa atividade metabólica, e condições próprias do sistema como fertilidade do solo e o sombreamento.

Zangaro *et al.* (2003) propuseram que a colonização das raízes e as respostas das plantas à inoculação com FMA diminui com o avanço entre os diferentes grupos ecológicos da sucessão. Possivelmente, as espécies de plantas das fases iniciais são grandes multiplicadoras dos FMA, enquanto que as espécies das fases mais tardias podem ser fracas multiplicadoras. Assim, nos solos das áreas que se encontram nas fases iniciais da sucessão, as comunidades de FMA podem ser mais abundantes e mais eficientes em promover o crescimento das plantas do que as comunidades e fungos das fases mais tardias da sucessão.

Powers *et al.* (2005) relataram que a quantidade de hifas de FMA no solo de quatro florestas tropicais na América Central e América do Sul foi bastante baixa, e sugeriram que as plantas daqueles sistemas podem ter investido mais na formação de raízes finas do que na simbiose com FMA para a absorção de nutrientes. Durante o avanço da sucessão é observado aumento da fertilidade do solo, que é atribuído ao acúmulo de matéria orgânica e a decomposição de fragmentos orgânicos que levam ao aumento da matéria orgânica no solo e nutrientes que são mineralizados (Guariguata e Ostertag 2001). O aumento da fertilidade do

solo das florestas maduras pode reduzir ou aumentar a colonização por FMA em uma grande variedade de espécies vegetais (Gamage *et al.* 2004), sugerindo que os baixos níveis de fungos da floresta madura poderiam ser devidos ao custo elevado de carbono para a manutenção da simbiose, ao invés da disponibilidade de nutrientes do solo. A baixa taxa metabólica da planta e a baixa disponibilidade de luz parecem ser fatores importantes na determinação da baixa colonização e esporulação do FMA na floresta madura. Além disso, esporos ricos em lipídios, e hifas dos fungos podem estar sujeitos à predação por uma grande variedade de organismos do solo (Rabatin & Stinner 1988; Stürmer *et al.* 2006) os quais aumentam durante a sucessão (Coleman *et al.* 2004), contribuindo para a diminuição da população de FMA em solos de florestas maduras.

Nos últimos estádios sucessionais ocorrem mudanças na arquitetura do sistema radicular, como aumento do diâmetro da raiz e redução do comprimento total das raízes, comprimento específico radicular, comprimento e incidência dos pêlos absorventes, a colonização das raízes e densidade de esporos no solo. Essas características morfológicas da raiz e níveis de colonização por FMA pode resultar em menor potencial para a aquisição de recursos do solo e menor capacidade de proliferação da raiz, diferente do observado nas gramíneas e nas espécies arbóreas no início de sucessão. Várias características como sombreamento, taxa de crescimento lento das espécies lenhosas, menor demanda metabólica, baixa interface da raiz para entrar em contato com os fungos, a alta fertilidade do solo, e o investimento de grande parte do carbono fixado na fotossíntese para órgãos estruturais podem resultar em menos carboidratos disponíveis para os FMA nas raízes e, conseqüentemente, menos colonização radicular micorrízica e esporulação na floresta madura. As espécies de plantas de floresta madura em condições de pouca luz podem estar limitadas pelo carbono, diminuindo os carboidratos para o abastecimento dos FMA (Zangaro *et al.* 2008).

O padrão de alocação de biomassa muda durante o avanço da sucessão. As plantas do início da sucessão investem mais na formação de órgãos que capturam recursos, como folhas e raízes finas, do que em órgãos estruturais como tronco e raízes grossas (Guariguata e Ostertag 2001). O alto investimento para a produção de folhas nas espécies de início de sucessão proporciona aumento da produção de fotoassimilados, que podem ser exportados para as raízes (Lynch e Ho 2005) possibilitando altas porcentagens de colonizações dos FMA. A produção de órgãos estruturais requer investimento de carbono que pode limitar os carboidratos disponíveis aos FMA, e assim a colonização micorrízica e a densidade de esporos podem diminuir nas florestas maduras. A baixa colonização observada nas plantas dos estádios tardios da sucessão pode estar relacionada também com a menor

exsudação de polissacarídeos que atraem os simbioses (Grayston *et al.* 1996). Características anatômicas das raízes, como por exemplo alta suberização e lignificação (Eissenstat, 1992) também podem limitar a colonização, por funcionarem como um obstáculo para a exsudação e a penetração das hifas fúngicas (Zangaro *et al.* 2005, 2007).

Características morfológicas e fisiológicas das raízes de espécies de crescimento rápido facilitam a interceptação dos FMA no solo. A rápida taxa de crescimento e a grande demanda por minerais entre as espécies de crescimento rápido podem levar à deficiência de P, o que pode aumentar a exsudação da raiz e a colonização pelos FMA (Zangaro *et al.* 2008). A abundância dos FMA presentes nas áreas em início de sucessão e florestas secundárias, também parece estar ligados a uma maior produção de raízes finas (Picone 2000).

Como as plantas de início de sucessão e de florestas secundárias iniciais apresentam crescimento rápido e metabolismo intenso, requerem mais nutrientes, e a taxa de absorção e transporte de P pelas raízes é maior que sua taxa de difusão no solo formando uma zona de depleção, tornam-se necessários mecanismos para absorver este nutriente, sendo que a associação micorrízica pode ser uma alternativa. Já as plantas dos estádios mais tardios da sucessão, por apresentarem crescimento lento e menor demanda por nutrientes, podem formar uma zona de acúmulo de nutrientes ao redor da raiz (Séguin *et al.* 2004). A baixa demanda por P permite que o nutriente fique em excesso na rizosfera, assim a necessidade da simbiose micorrízica fica reduzida. Além disso, em floresta madura a decomposição da matéria orgânica sendo mais rápida, os níveis de P disponíveis no solo serão maiores do que em áreas iniciais e secundárias.

Os inóculos retirados das áreas que apresentam plantas com as características acima descritas (áreas iniciais e florestas secundárias) foram mais efetivos em promover o crescimento e a absorção de nutrientes de *Heliocarpus americanus*.

Conclusões

As comunidades de FMA das fases iniciais da sucessão foram mais eficientes em promover o crescimento das plantas do que as comunidades de fungos das fases mais tardias da sucessão. A fertilidade do solo influenciou na colonização das raízes e no desenvolvimento das plantas, sendo a efetividade dos fungos mais pronunciada quando as plantas foram mantidas em solo com baixa fertilidade.

Referências

- AIDAR, M.P.M.; CARRENHO, R. & JOLY, C.A. Aspects of arbuscular mycorrhizal fungi in an Atlantic Forest chronosequence. *Biota Neotropica*, v. 4, p.1–15. 2004.
- ALLEN, E.B.; RINCON, E.; ALLEN, M.F.; PEREZ-JIMENEZ, A. & HUANTE, P. Disturbance and seasonal dynamics of mycorrhizae in a tropical deciduous forest in Mexico. *Biotropica*, v. 30, p.261–274. 1998.
- BERBARA, R.L.L.; SOUZA, F. A. & FONSECA, H.M.A.C. Fungos micorrízicos arbusculares: muito além da nutrição. In: *Nutrição mineral de plantas*. Fernandes, M. S. (Eds). Sociedade Brasileira de Ciência do Solo. Viçosa, 2006.
- BERNARDI, A.C.C.; CARMELLO, Q.A.C. & CARVALHO, S.A. Desenvolvimento de mudas de *Citrus* cultivadas em vasos em resposta a adubação NPK. *Scientia Agrícola*, v. 57, p.733-738, 2000.
- BETHLENFALVAY, G.S. & LINDERMAN, R.G. eds.: *Mycorrhizae in sustainable agriculture*. Madison, ASA Special Publication, p.101-124, 1992.
- BRUNDRETT, M.C. Coevolution of roots and mycorrhizas of land plants. *New Phytologist*, v. 154, p. 275–304, 2002.
- BRUNDRETT, M. Diversity and classification of mycorrhizal associations. *Biological Reviews Cambridge Philosophical Society*, v.79, p.473–495, 2004.
- CAVALHEIRO, K.O. & NEPSTAD, D.C. Deep soil heterogeneity and fine root distribution in forest and pastures of eastern Amazonia. *Plant Soil*, v.182, p. 279–285, 1996.
- CAVELIER, J.; ESTEVEZ, J. & ARJONA, B. Fine root biomass in three successional stages of an Andean cloud forest in Colombia. *Biotropica*, v. 28, p. 728–736, 1996.
- CHAGAS E SILVA, F. & SOARES-SILVA L.H. Arboreal flora of the Godoy Forest State Park, Londrina, PR. Brazil. *Edinburgh Journal of Botany*, v. 57, p.107–120, 2000.
- COLEMAN, D.C.; CROSSLEY, D.A. JR.; & HENDRIX, P.F. *Fundamentals of soil ecology*. Elsevier Academic, San Diego. 2004.
- COMAS L.H, EISSENSTAT D.M. Linking fine root traits to maximum potential growth rate among 11 mature temperate tree species. *Functional Ecology*, v.18, p. 388-397, 2004.
- COMAS, L.H., BOUMA, T.J. & EISSENSTAT, D.M. Linking root traits to potential growth rate in six temperate tree species. *Oecologia*, v.132, p. 34-43, 2002.
- COOPERBAND, L.R.; BOENER, R.E.J. & LOGAN, T.J. Humid tropical leguminous tree and pasture grass responsiveness to vesicular-arbuscular mycorrhizal infection. *Mycorrhiza*, v.4, p. 233-239, 1994.
- CORDEIRO, M. A. S.; CARNEIRO, M.A.C.; PAULINO,H.B. & SAGGIN JUNIOR, O. J. Colonização e densidade de esporos de fungos Micorrízicos em dois solos do cerrado sob diferentes sistemas de manejo. *Pesquisa Agropecuária Tropical*, v. 35, n.3, p. 147-153, 2005.

- EISSENSTAT, D.M. Costs and benefits of constructing roots of small diameter. *Journal of Plant Nutrition*, v 15, p. 763–782, 1992.
- EISSENSTAT, D.M, WELLS C.E., YANAI R.D., WHITBECK J.L. Building roots in a changing environment: implications for root longevity. *New Phytologist*, v.147, p. 33-42, 2000.
- FAO. Soil map of the world. FAO-UNESCO, Rome. 1994.
- FISCHER, C.R.; JANOS D.P.; PERRY, D.A. & LINDERMAN, R.G. Mycorrhiza inoculum potentials in tropical secondary succession. *Biotropica*, v.26, p. 369–377, 1994.
- GAMAGE, H.K.; SINGHAKUMARA, B.M.P. & ASHTON, M.S. Effects of light and fertilization on arbuscular mycorrhizal colonization and growth of tropical rain-forest *Syzygium* tree seedlings. *J Trop Ecol*, v. 20, p. 525–534, 2004.
- GANGE, A.C.; BROWN, V.K. & SINCLAIR, G.S. Vesicular–arbuscular mycorrhizal fungi: a determinant of plant community structure in early succession. *Functional Ecology*, v. 7, p. 616–622, 1993.
- GIOVANNETTI M. & MOSSE B. An evaluation of techniques for measuring vesicular-arbuscular mycorrhizal infections in roots. *New Phytologist*, v.84, p.489-500, 1980.
- GRAHAN, J.H. & EISSENSTAT, D.M. Host genotype and the formation and function of VA mycorrhizae. *Plant and soil*, v. 159, p.179-185, 1994.
- GRAYSTON, S.J.; VAUGHAN, D. & JONES, D. Rhizosphere carbon flow in trees, in comparison with annual plants: the importance of root exudation and its impact on microbial activity and nutrient availability. *Applied Soilcology*, v.5, p. 29-56, 1996.
- GUARIGUATA, M.R. & OSTERTAG, R. Neotropical secondary forest succession: changes in structural and functional characteristics. *Forest Ecology and Management*, v.148, p.185-206. 2001.
- HENDRICK, R.L. & PREGITZER, K.S. Temporal and depth-related patterns of fine root dynamics in northern hard wood forests. *Ecology*, v.84, p. 167–176, 1996.
- HINSINGER P., GOBRAN G.R., GREGORY P.J., WENZEL W.W. Rhizosphere geometry and heterogeneity arising from root-mediated physical and chemical processes. *New Phytologist*, v.168, p.293-303, 2005.
- HODGE, A. The plastic plant: root responses to heterogeneous supplies of nutrients. *New Phytologist* 162:9–24, 2004.
- JACKSON, R.B.; MOONEY, H.A. & SCHULZE, E.D. A global budget for fine root biomass, surface area, and nutrient contents. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, v. 94, p. 7362–7366, 1997.
- JANOS, D. P. Mycorrhizas, succession, and the rehabilitation of deforested lands in the humid tropics. In: Frankland, J. C.; Magan, N.; Gadd, G. M. (Ed.). *Fungi and environmental change*. Cambridge: Cambridge University Press. p. 129-162. (British Mycological Society Symposium, 20). 1996.

- JANOS, D.P. Heterogeneity and scale in tropical Vesicular-arbuscular mycorrhizal formation. In: *Mycorrhizal in ecosystems*. D.J Read; D.H. Lewis.; A.H. Fitter & I.J. Alexander (eds.). CAB International, Wallingford. PP.276-282, 1992.
- JASPER, D. A.; ABBOT, L. K.; ROBSON, A. D. The effect of soil disturbance on vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi, in soils from different vegetation types. *New Phytologist*, Cambridge, v. 118, n. 3, p. 471-476, 1991.
- KHURANA, E. & SINGH, J.S. Impact of life-history traits on response of seedlings of Five tree species of tropical dry Forest to shade. *Journal of Tropical Ecology*, v. 22, p. 653-661, 2006.
- LUSK, C.H.; REICH, P.B.; MONTGOMERY, R.A.; ACKERLY, D.D. & CAVENDER-BARES, J. Why are evergreen leaves so contrary about shade? *Trends in Ecology & Evolution*, v 23, p 299–303, 2008.
- LYNCH, J.P. & HO, M.D. Rhizoeconomics: Carbon costs of phosphorus acquisition. *Plant and Soil*, v. 269, p. 45-56, 2005.
- MARCHNER, H. *Mineral nutrition of higher plant*. 2. ed. London, Academic Press. 1995.
- MATSUMOTO, L.S., MARTINNES, A.M., AVANZI, M.A., ALBINO, U.B., BRASIL, C.B., SARIDAKIS, D.P., RAMPAZO, L.G.L., ZANGARO, W. & ANDRADE, G. Interactions among functional groups in the cycling of, carbon, nitrogen and phosphorus in the rhizosphere of three successional species of tropical woody trees. *Applied Soil Ecology*, v.28, p. 57-65, 2005.
- MCGONIGLE, T.P.; EVANS, D.G. & MILLER, M.H. Effect of degree of soil disturbance on mycorrhizal colonization and phosphorus absorption by maize in growth chamber and field experiments. *New Phytologist*, v. 116, p. 629–636, 1990.
- MULLEN, R.B. & SCHIMDT, S.K. Mycorrhizal infection, phosphorus uptake, and phenology in *Ranunculus odoneus*: implications for the functioning of mycorrhizae in alpine systems. *Oecologia*, v 94, p. 229-234, 1993.
- MUTHUKUMAR, T.; SHA, L.; YANG, X.; CAO, M.; TANG, J. & ZHENG, Z. Distribution of roots and arbuscular mycorrhizal associations in tropical forest types of Xishuangbanna, southwest China. *Applied Soil Ecology*, v. 22, p. 241–253, 2003.
- NEWSHAM, K.K., FITTER, A.H. & WATKINSON, A.R. Multi-functionality and biodiversity in arbuscular mycorrhizas. *Trends in Ecology & Evolution*, v 10, p. 407–411, 1995.
- PACOVSKY, R.S. Micronutrient uptake and distribution in mycorrhizal or phosphorus-fertilized soybeans. *Plant Soil*, v.95, p.379-388, 1986.
- PERRY, D. L.; MOLINA, R. & AMARANTHUS, M. P. Mycorrhizae, mycorrhizospheres, and reforestation: current knowledge and research needs. *Canadian Journal of Forest Research*, Ottawa, v. 17, n. 8, p. 929-940, 1987.
- PHILLIPS J.M. & HAYMAN D.S. Improved procedures for clearing roots for rapid assessment of infection. *Transactions of British Mycological Society*, v.55, p.158-161, 1970.

PICONE, C. Diversity and abundance of arbuscular-mycorrhizal fungus spores in tropical forest and pasture. *Biotropica*, v. 32, p. 734–750, 2000.

POWERS J.S., TRESEDER K.K. & LERDAU M.T. Fine roots, arbuscular mycorrhizal hyphae and soil nutrients in four neotropical rain forests: patterns across large geographic distance. *New Phytologist*, v. 165, p. 913-921, 2005.

RABATIN, S.C. & STINNER, B.R. Indirect effects of interactions between VAM fungi and soil-inhabiting invertebrates on plant processes. *Agriculture Ecosystems Environment*, v. 24, p. 135–146, 1988.

RAGHOTHAMA, K.G. & KARTHIKEYAN, A.S. Phosphate acquisition. *Plant Soil*, v. 274, p. 37–49, 2005.

READ, D.J. & PEREZ-MORENO, J. Mycorrhizas and nutrient cycling in ecosystems a journey towards relevance? *New Phytology*, v.157, p.475-492, 2003.

READ, D.J. Mycorrhizas in ecosystems. *Experientia*, 47:376-390, 1991.

REDHEAD, J.F. Mycorrhizal in natural tropical Forest. In: *Tropical mycorrhizal research*. P. Mikola (Eds). Clarendon Press, Oxford. pp. 127-142. 1980.

SANDERS, I.R.; KOIDE, R.T. & SHUMWAY, D.L. Community - level interactions between plants and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. In: *Mycorrhiza: structure, function, molecular biology and biotechnology*. A. Varma & B. Hock (Eds). Springer-verlag, Berlin/heidelberg. pp. 607-625, 1995.

SÉGUIN, V.; GAGNON, C. & COURCHESNE, F. Changes in water extractable metals, pH and organic carbon concentrations at the soil-root interface of Forest soils. *Plant and soil*, v. 260, p. 1-17, 2004.

SIEVERDING, E. Vesicular-arbuscular mycorrhizal Management in tropical agrosystems. Deutsche Gesellschaft für Technische Zusammenarbeit (GTZ) GmbH. Eschbon. 1991.

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

SIQUEIRA, J.O. & FRANCO, A.A. *Biotecnologia do solo – fundamentos e perspectivas*. Lavras, ABeas, v.1. 234 pp. 1998.

SIQUEIRA, J.O. & FRANCO, A.A. *Biotecnologia do solo, fundamentos e perspectivas*. MEC/ABEAS/ESAL/FAEPE, Brasília, 1988.

SIQUEIRA, J.O. & SAGGIN-JÚNIOR, O.J. Dependency on arbuscular mycorrhizal fungi and responsiveness of some Brazilian native woody species. *Mycorrhiza*, v. 11, p. 245–255, 2001.

SIQUEIRA, J.O. Micorrizas arbusculares. Pp.151-194. In: Araújo, R.S. & Hungria, M. (eds.). *Microrganismos de importância agrícola*. Brasília, Embrapa-CNPAF. 1994.

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

- SMITH, S.E. & READ, D.J. Mycorrhizal symbiosis. Academic, London. 1997.
- STÜRMER, S.L.; KLAUBERG FILHO, O.; QUEIROZ, M.H. & MENDONÇA, M.M. Occurrence of arbuscular mycorrhizal fungi in soils of early stages of a secondary succession of Atlantic Forest in South Brazil. *Acta Botônica Brasilica*, v. 20, p. 513–521, 2006.
- TILMAN, D. Competition and biodiversity in spatially structured habitats. *Ecology*, v.75, p. 2-16, 1994.
- TOMMERUP, I.C. Methods for the study of population biology vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. In: *Methods in microbiology*. V.24. J.R. Norris; D.J Read & A.K. Varma (eds). Academic Press, London, pp. 23-51, 1992.
- VALLADARES, R; MARTINEZ-FERRI, E.; BALAGUER, L., PÉREZ-CORONA, E. & MANRIQUE, E. Mediterranean evergreen oaks: a conservative resource-use strategy? *New Phytologist*, v. 148, p. 79-9,. 2000.
- VITOUSEK, P.M. Litterfall, nutrient cycling, and nutrient limitation in tropical forests. *Ecology*, v. 65, p. 285–298. 1984.
- WRIGHT, I.J.; WESTOBY, M. Differences in seedling growth behavior among species: trait correlations across species, and trait shifts along nutrient compared to rainfall gradients. *Journal Ecology*, v. 87, p. 85–97, 1999.
- ZANGARO, W. & ANDRADE, G. Micorrizas arbusculares em espécies arbóreas nativas da bacia do rio Tibagi. In: Medri ME, Bianchini E, Pimenta JA, Shibata O (eds) *A bacia do rio Tibagi*. Edição dos editores, Londrina, pp 171–210, 2002.
- ZANGARO, W. Micorrizas arbusculares em espécies arbóreas nativas da bacia do Rio Tibagi (PR) e suas relações com os grupos sucessionais. 171 p. Tese– Universidade de São Paulo, São Paulo. 1997.
- ZANGARO, W., BONONI, V. L. R. & TRUFEN, S. B. Mycorrhizal dependency, inoculum potential and habitat preference of native woody species in South Brazil. *Journal of Tropical Ecology*, v. 16, p. 603– 622, 2000.
- ZANGARO, W., NISHIDATE F.R., CAMARGO, F.R.S., ROMAGNOLI, G.G. & VANDRESEN, 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.
- ZANGARO, W., NISIZAKI, S.M.A., DOMINGOS, J.C.B. & NAKANO, E.M. Mycorrhizal response and successional status in 80 woody species from south Brazil. *Journal of Tropical Ecology*, v.19, p. 315-324, 2003.
- ZANGARO, W.; ASSIS, R.L; ROSTIROLA, L.V.; SOUZA, P.B.; GONÇALVES, M.C.; ANDRADE, G. & NOGUEIRA, M.A. Changes in arbuscular mycorrhizal associations and fine root traits in sites under different plant successional phases in southern Brazil. *Mycorrhiza*, v 19, p 37–45. 2008.
- ZANGARO, W.; NISHIDATE, F.R.; VANDRESEN, J.; ANDRADE, G & NOGUEIRA, M.A. Root mycorrhizal colonization and plant responsiveness are related to root plasticity, soil fertility and successional status of native woody species in southern Brazil. *Journal of Tropical Ecology*, v. 23, p. 53-62. 2007.

<http://www.ambientebrasil.com.br>, acessado em 30 de maio de 2008

Tabela 1- Resultado da análise química dos substratos onde foram cultivadas as plântulas de *H. americanus* inoculadas com FMA oriundos de diferentes estádios da sucessão.

	P	C	M O	pH	Al	H+Al	Ca	Mg	K
	mg/dm ³	g/dm ³		CaCl ₂			Cmol _c /dm ³ de solo		
Infértil	1,6	1,12	17,2	5,9	0,0	2,35	2,27	1,43	0,05
Fértil	328,1	13,07	46,2	6,3	0,0	2,18	5,7	3,04	0,33

Tabela 2- Concentração dos nutrientes (\pm DP) nas folhas de plântulas de *Heliocarpus americanus* crescidas em solo fértil e infértil inoculados com FMA oriundos de diferentes estádios da sucessão vegetal: inicial, secundária e tardia. Médias seguidas pela mesma letra (linhas) não diferem pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Solo Fértil				
	Controle	Inicial	Secundária	Madura
N (g kg ⁻¹)	12,9 \pm 0,52bc	14,5 \pm 0,5a	13,8 \pm 0,76ab	12,6 \pm 0,35c
P (g kg ⁻¹)	4,9 \pm 0,16b	7,3 \pm 0,45a	7,2 \pm 0,95a	5,9 \pm 0,13b
K (g kg ⁻¹)	28,2 \pm 1,64a	29,0 \pm 1,85a	28,5 \pm 2,2a	28 \pm 1,6a
Ca (g kg ⁻¹)	25,7 \pm 1,47a	27,8 \pm 2,26a	27,8 \pm 2,52a	24,5 \pm 1,17a
Mg (g kg ⁻¹)	9,4 \pm 0,95a	9,2 \pm 1,29a	10,0 \pm 0,41a	9,8 \pm 0,7a
Cu (mg kg ⁻¹)	6,5 \pm 1,22b	8,9 \pm 1,3a	8,3 \pm 1,48 ab	8,4 \pm 0,9 ab
Zn (mg kg ⁻¹)	40,2 \pm 3,05b	52,7 \pm 9,04ab	66,6 \pm 6,8a	57,9 \pm 11,5a
B (mg kg ⁻¹)	137 \pm 11,3a	138,2 \pm 12,1a	145,0 \pm 9,79a	144,7 \pm 16,1a
Mn (mg kg ⁻¹)	479,6 \pm 54,08a	417,4 \pm 51,1a	441,6 \pm 94,1a	482,6 \pm 55,8a
Solo Infértil				
	Controle	Inicial	Secundária	Madura
N (g kg ⁻¹)	-----	17,1 \pm 1,82b	17,24 \pm 0,61b	20,9 \pm 1,99a
P (g kg ⁻¹)	-----	1,6 \pm 0,084a	1,39 \pm 0,068 b	1,2 \pm 0,072c
K (g kg ⁻¹)	-----	19,4 \pm 2,96a	18,1 \pm 1,51a	20,8 \pm 1,52 a
Ca (g kg ⁻¹)	-----	18,4 \pm 0,54a	16,7 \pm 0,66b	13,4 \pm 1,01c
Mg (g kg ⁻¹)	-----	10,4 \pm 1,63a	12,7 \pm 1,3a	10,4 \pm 2,3a
Cu (mg kg ⁻¹)	-----	12,1 \pm 1,57b	13,55 \pm 0,96b	27,2 \pm 4,4a
Zn (mg kg ⁻¹)	-----	28,8 \pm 6,51b	41,5 \pm 7,59b	76,1 \pm 11,6 a
B (mg kg ⁻¹)	-----	128,2 \pm 9,08b	130,3 \pm 10,44b	182,3 \pm 22,7a
Mn (mg kg ⁻¹)	-----	513,1 \pm 37,01a	425,3 \pm 28,20b	352,22 \pm 25,38c

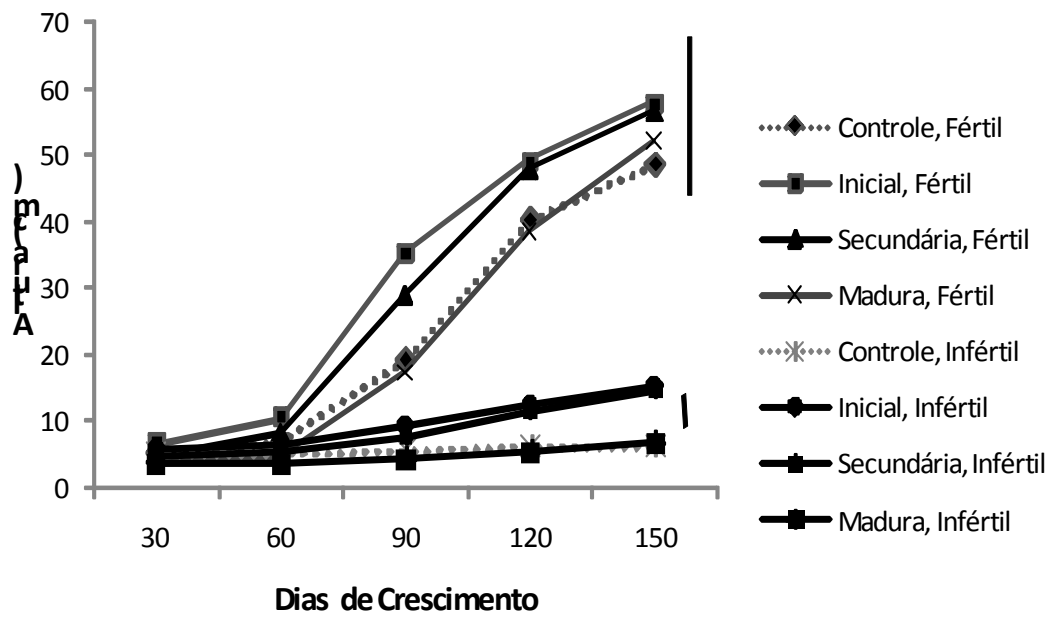


Figura 1- Dias de Crescimento



Figura 2- Experimento

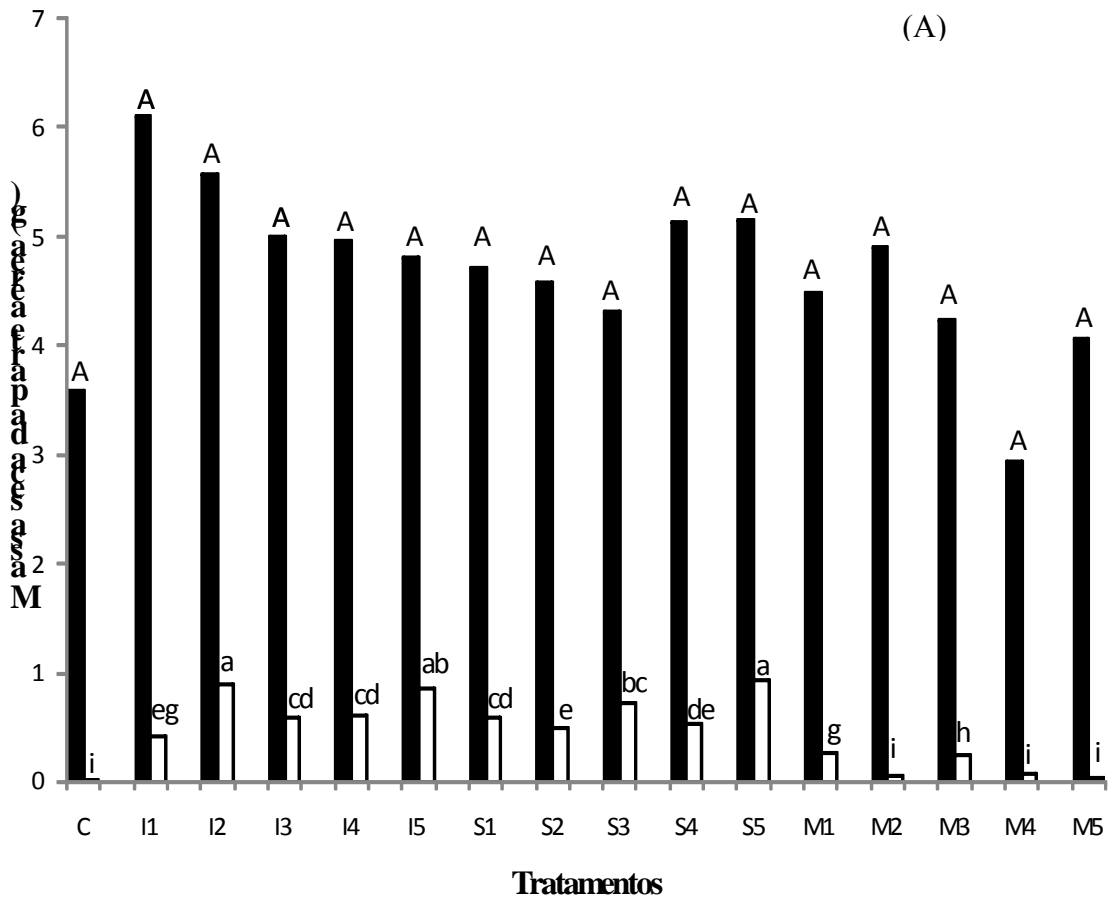


Figura 3- Tratamentos

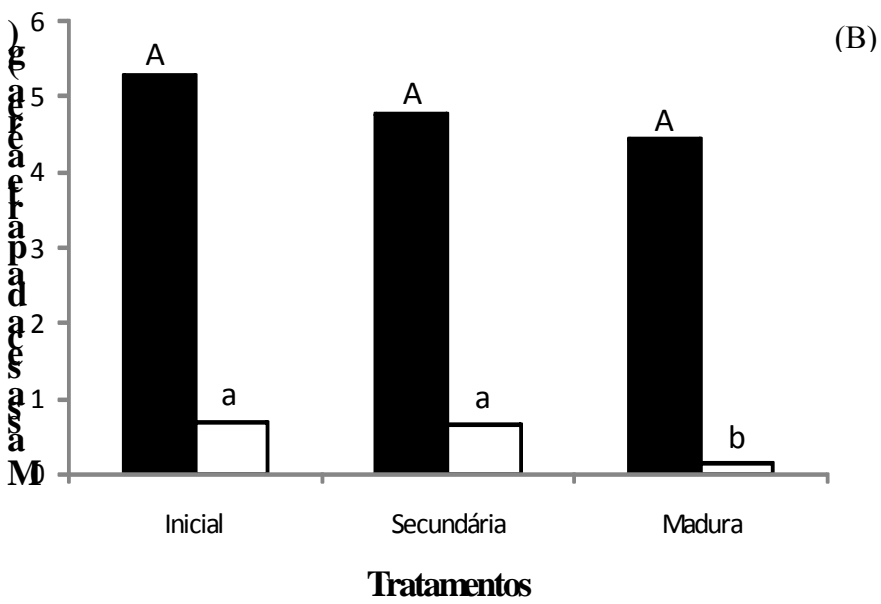
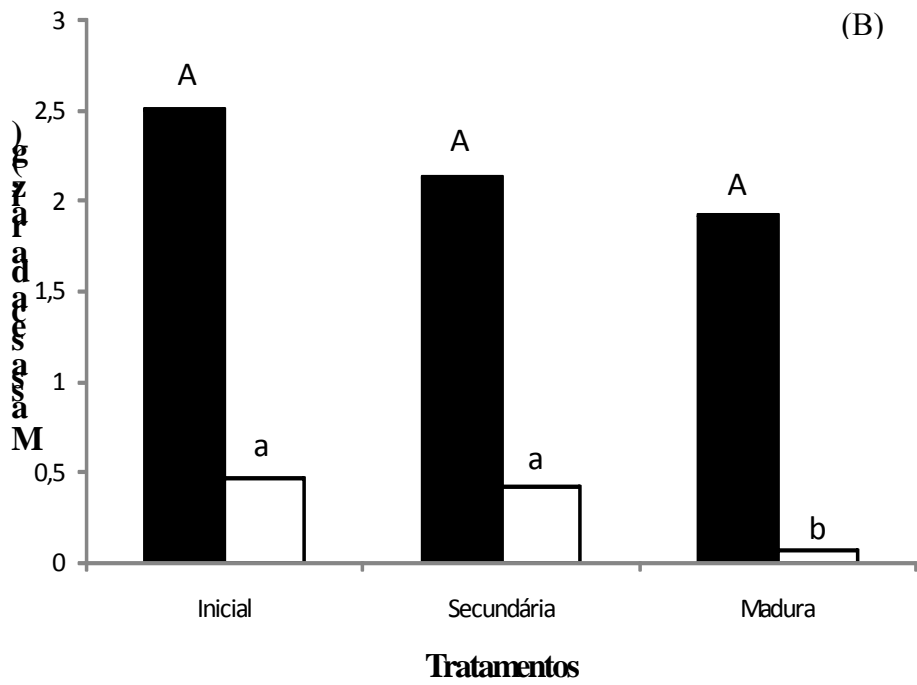
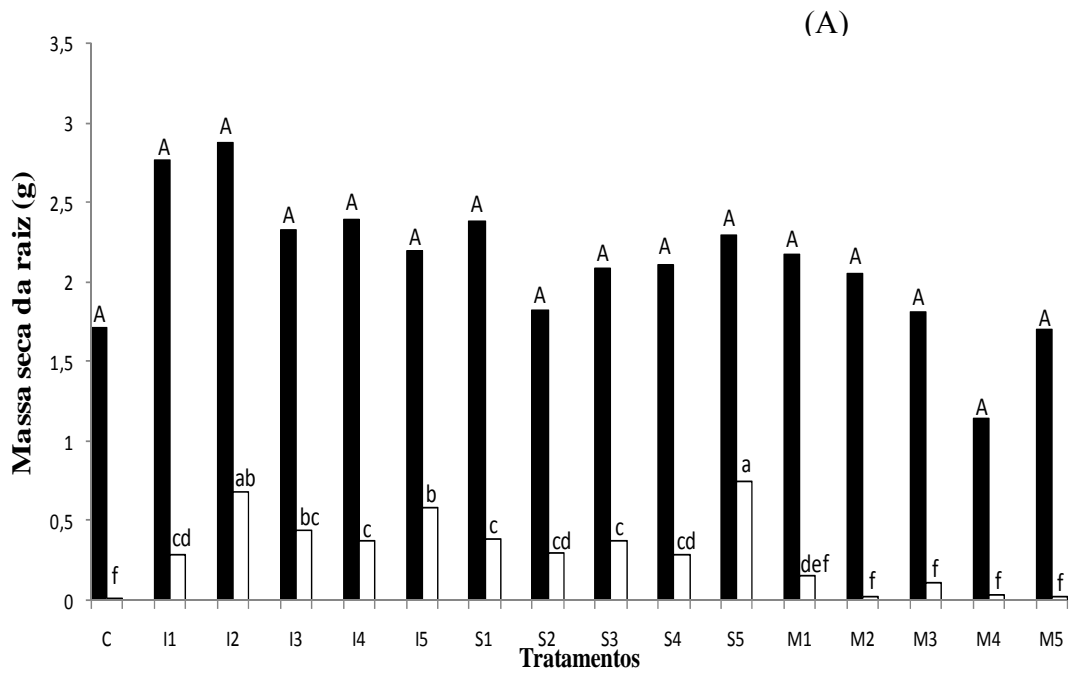


Figura 4- Tratamentos



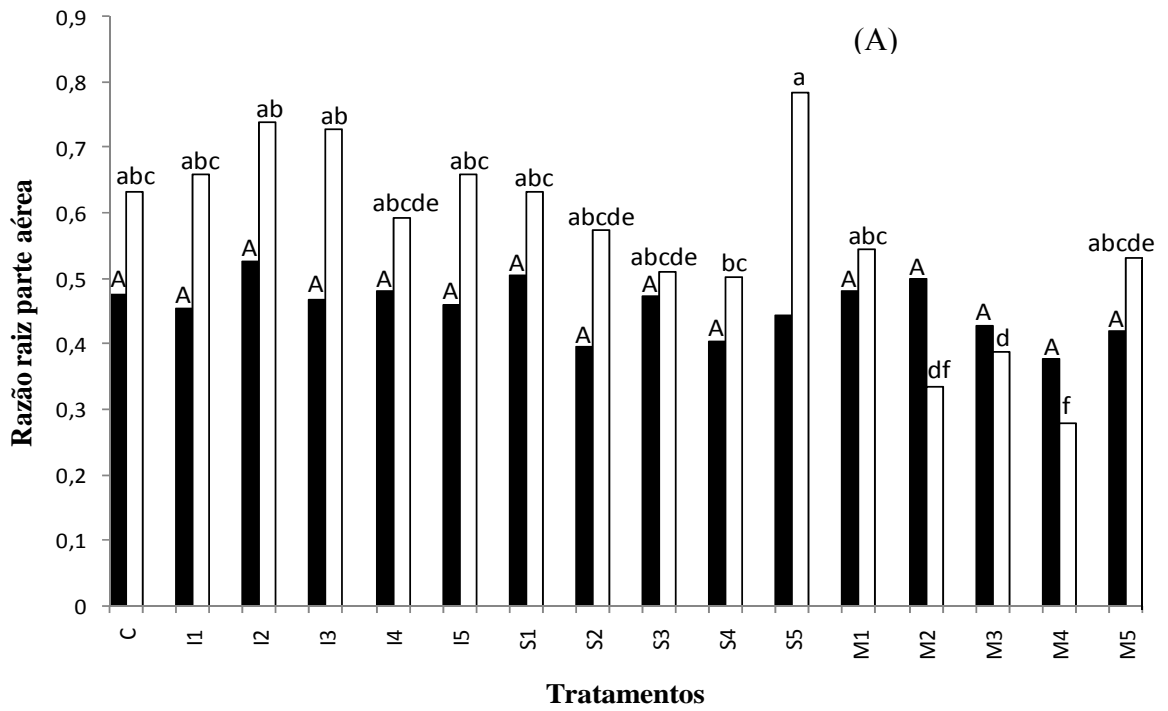


Figura 5- Tratamentos

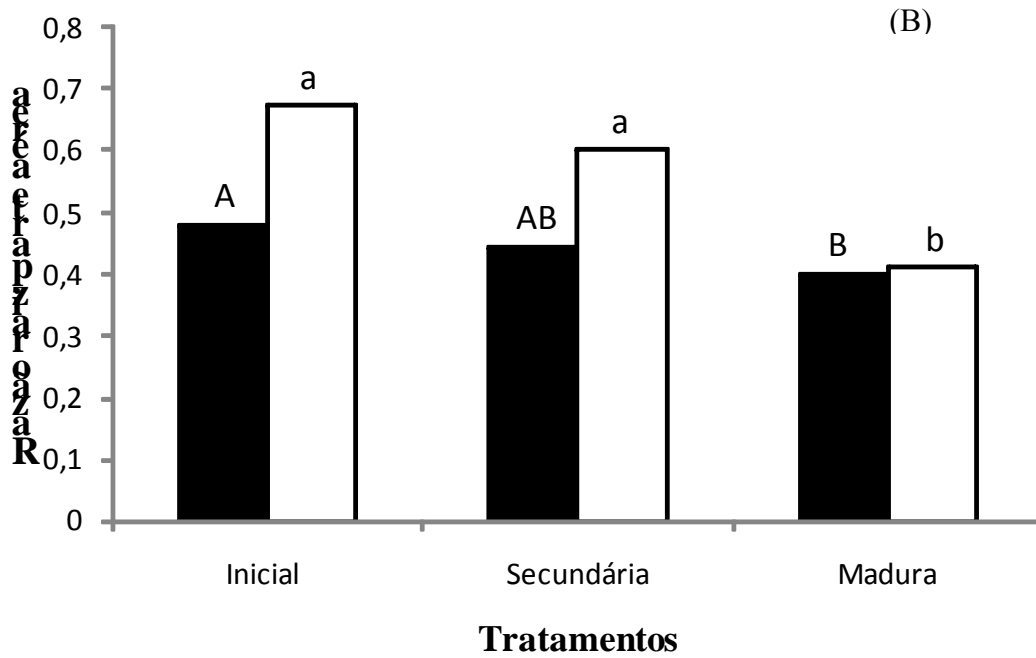


Figura 6- Tratamentos

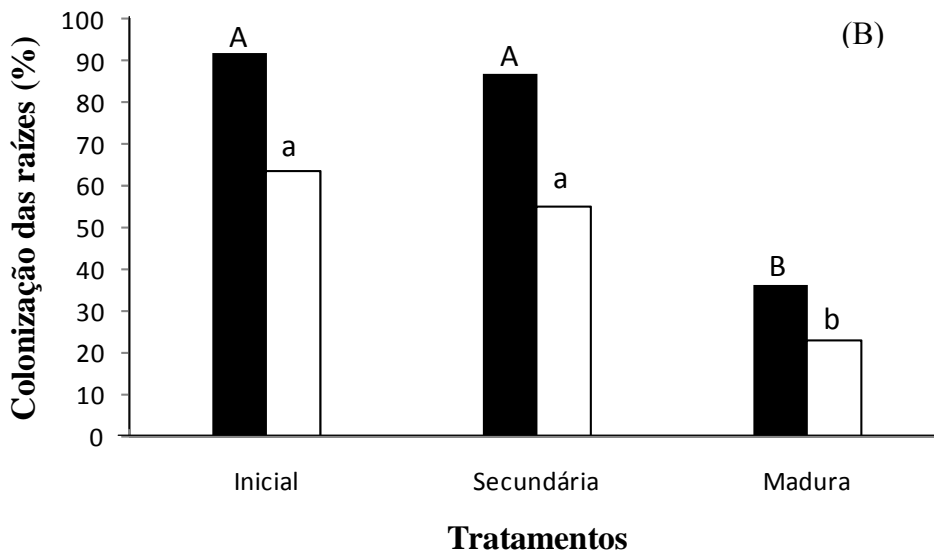
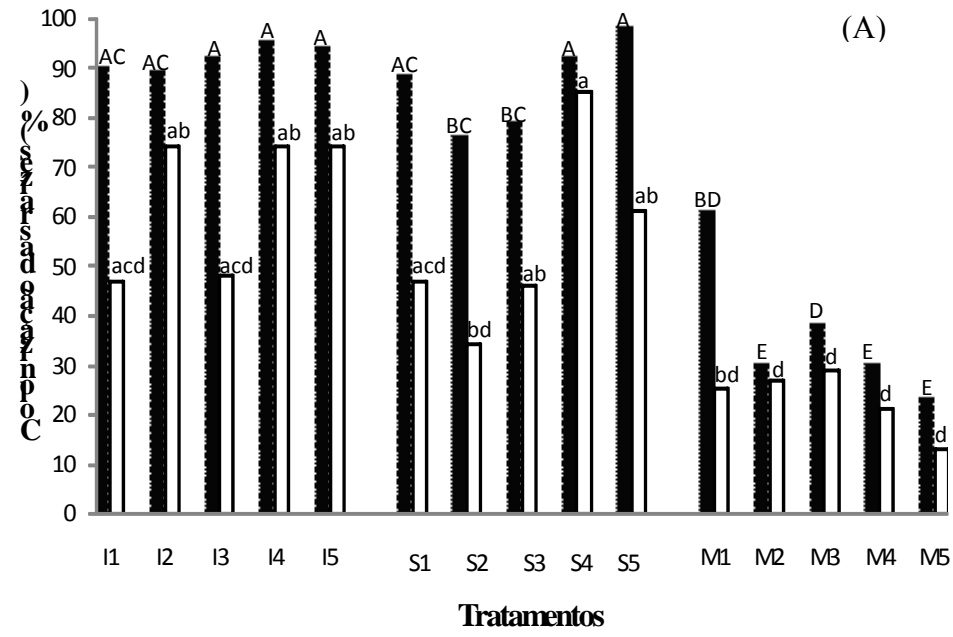
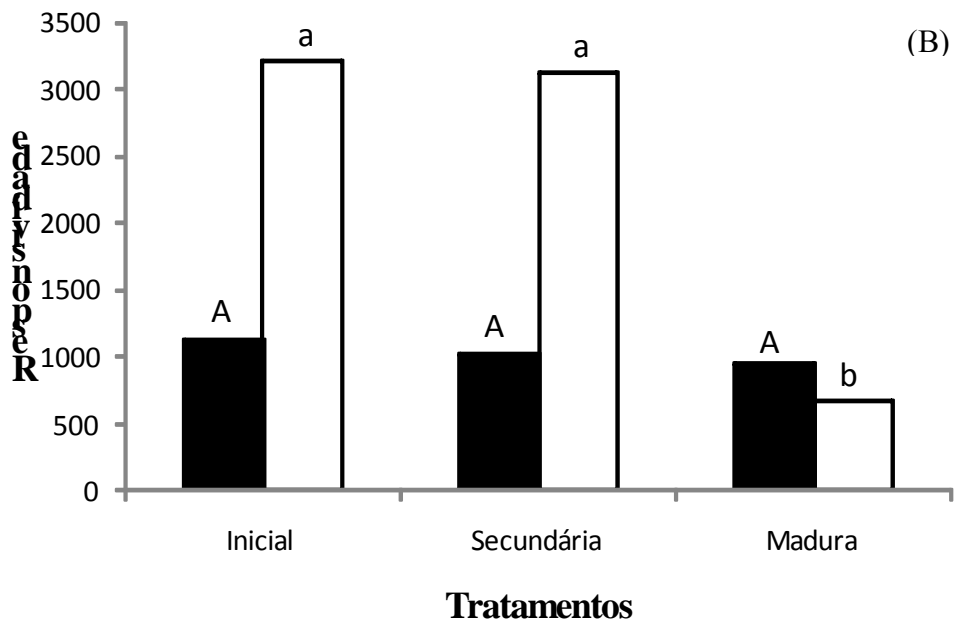
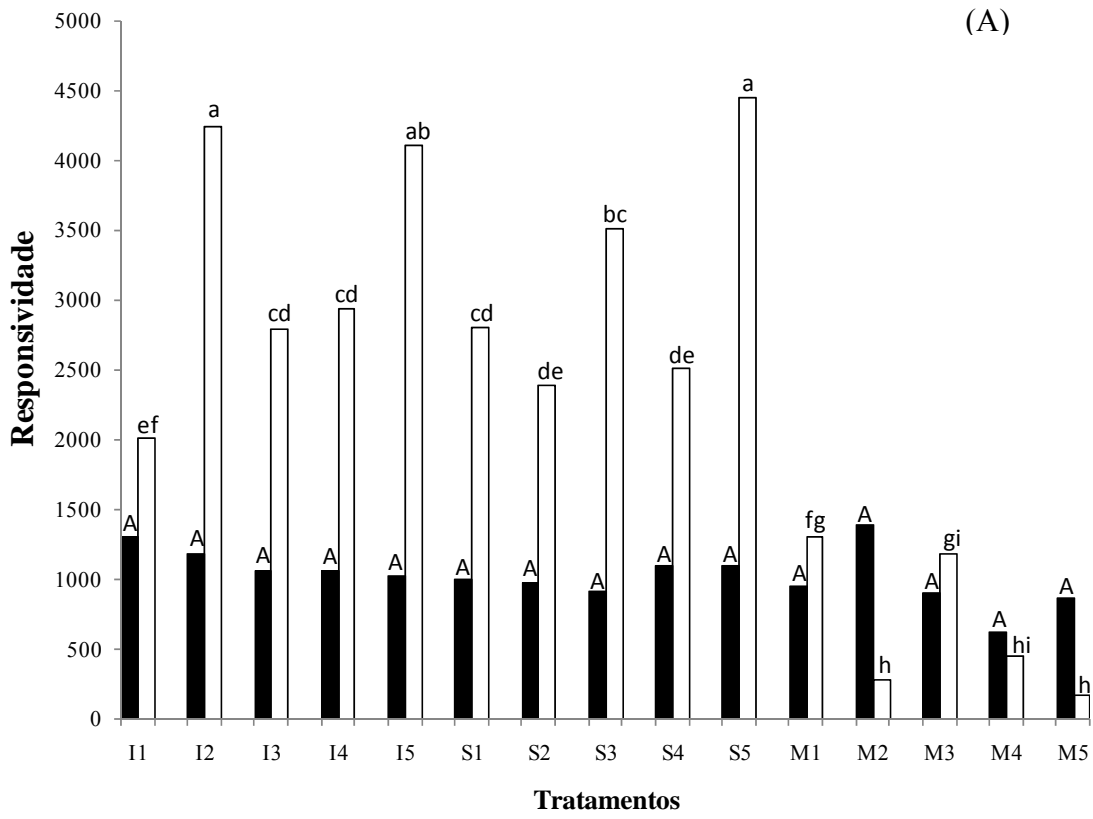


Figura 7- Tratamentos



Lista de Figuras

- Figura 1** - Altura de plântulas de *Heliocarpus americanus* mantidas em solo fértil e infértil e colonizadas por diferentes comunidades de FMA oriundas de áreas da sucessão inicial, das florestas secundárias e das florestas maduras e grupo controle (não inoculadas com FMA). Barras indicam a DMS para solo fértil e infértil.
- Figura 2** – Plântulas de *Heliocarpus americanus* mantidas em solo Fértil (atrás) e solo infértil (frente) inoculados com comunidades fúngicas provenientes de cinco áreas da sucessão inicial (H1,H2,H3,H4 e H5), da floresta secundária (S1,S2,S3,S4 e S5) e da floresta madura (M1,M2,M3,M4 e M5). Grupo controle (C) não apresenta FMA.
- Figura 3** - Biomassa seca da parte aérea (A) de plântulas de *Heliocarpus americanus* crescidas em solo fértil (■) e infértil (□) com inóculos de FMA provenientes de cinco áreas da sucessão inicial (I1,I2,I3,I4 e I5), das florestas secundárias (S1,S2,S3,S4 e S5) e das florestas maduras (M1,M2,M3,M4 e M5). Médias da massa seca da parte aérea (B) das plântulas crescidas com inóculos provenientes de áreas iniciais, florestas secundárias e maduras. Letras maiúsculas comparam os efeitos dos inóculos no solo fértil. Letras minúsculas comparam os efeitos dos inóculos no solo infértil. (Tukey $p < 0,05$).
- Figura 4** - Biomassa seca da raiz (A) de plântulas de *Heliocarpus americanus* crescidas em solo fértil (■) e infértil (□) com inóculos de FMA provenientes de cinco áreas da sucessão inicial (I1,I2,I3,I4 e I5), das florestas secundárias (S1,S2,S3,S4 e S5) e das florestas maduras (M1,M2,M3,M4 e M5). Médias da massa seca da raiz (B) das plântulas crescidas com inóculos provenientes de áreas iniciais, florestas secundárias e maduras. Letras maiúsculas comparam os efeitos dos inóculos no solo fértil. Letras minúsculas comparam os efeitos dos inóculos no solo infértil. (Tukey $p < 0,05$).
- Figura 5** - Razão raiz:parte aérea (A) de plântulas de *Heliocarpus americanus* crescidas em solo fértil (■) e infértil (□) com inóculos provenientes de cinco áreas da sucessão inicial (I1,I2,I3,I4 e I5), das florestas secundárias (S1,S2,S3,S4 e S5) e das florestas maduras (M1,M2,M3,M4 e M5). Médias da razão raiz:parte aérea (B) das plântulas inoculadas com comunidades de FMA provenientes de áreas iniciais, florestas secundárias e maduras. Letras maiúsculas comparam os efeitos dos inóculos no solo fértil. Letras minúsculas comparam os efeitos dos inóculos no solo infértil. (Tukey $p < 0,05$).
- Figura 6** - Colonização das raízes (A) de plântulas de *Heliocarpus americanus* crescidas em solo fértil (■) e infértil (□) com inóculos provenientes de cinco áreas da sucessão inicial (I1,I2,I3,I4 e I5), das florestas secundárias (S1,S2,S3,S4 e S5) e das florestas maduras (M1,M2,M3,M4 e M5). Médias da colonização das raízes (B) das plântulas inoculadas com comunidades de FMA provenientes de áreas iniciais, florestas secundárias e maduras. Letras maiúsculas comparam os efeitos dos inóculos no solo fértil. Letras minúsculas comparam os efeitos dos inóculos no solo infértil. (Tukey $p < 0,05$).

Figura 7 - Responsividade (A) de plântulas de *Heliocarpus americanus* crescidas em solo fértil (■) e infértil (□) com inóculos provenientes de cinco áreas da sucessão inicial (I1,I2,I3,I4 e I5), das florestas secundárias (S1,S2,S3,S4 e S5) e das florestas maduras (M1,M2,M3,M4 e M5). Médias da colonização das raízes (B) das plântulas inoculadas com comunidades de FMA provenientes de áreas iniciais, florestas secundárias e maduras. Letras maiúsculas comparam os efeitos dos inóculos no solo fértil. Letras minúsculas comparam os efeitos dos inóculos no solo infértil. (Tukey $p < 0,05$).

REFERÊNCIAS

- ALLEN, M.F. *The ecology of mycorrhizae*. San Diego: Cambridge University Press, 1991.
- ANDRADE, S.A.L.; ABREU, C.A.; ABREU, M.F.; SILVEIRA, A.P.D. Influence of lead additions on arbuscular mycorrhiza and Rhizobium symbioses under soybean plants. *Applied Soil Ecology*, v.26, p. 123-131, 2004.
- BARBOSA, L. M. Ecological significance of gallery forests, including biodiversity. In: International Symposium on Assessment and Monitoring of Forest in Tropical Dry Regions. Brasília. *Anais...* Brasília: CNPq / UNB / GTZ, 1997. p. 157-181, 1997.
- BAREA, J.M.; AZCÓN, R.; AZCÓN-AGUILAR, C. Mycorrhiza and crops. *Advances in Plant Pathology*, v.9, p.167-189, 1993.
- BERBARA, R.L.L.; SOUZA, F. A.; FONSECA, H.M.A.C. Fungos micorrízicos arbusculares: muito além da nutrição. In: FERNANDES, M. S. (Eds). *Nutrição mineral de plantas*. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2006.
- BETHLENFALVAY, G.S.; LINDERMAN, R.G. (Eds.): *Mycorrhizae in sustainable agriculture*. Madison: ASA Special Publication, 1992. p.101-124.
- BETHLENFALVAY, G.J. Mycorrhizae in agriculture plant-soil system, v.14, p. 413-425. 1992.
- BROWN, S.; LUGO, A. E. Rehabilitation of tropical lands: a key to sustaining development. *Restoration Ecology*, v. 2, n. 1, p. 97-111, 1994.
- CARDOSO, E.J.B.N. Efeito de micorriza vesículo-arbuscular e fosfato-de-rocha na simbiose soja-Rhizobium. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, v.9, p.125-30, 1985.
- CARNEIRO, M. A. C.; SIQUEIRA, J. O.; MOREIRA, F. M. S.; CARVALHO, D.; BOTELHO, S. A.; SAGGIN-JUNIOR, O. J. Micorriza arbuscular em espécies arbóreas e arbustivas de ocorrência no sudeste do Brasil. *Cerne*, Lavras, v. 4, n. 1, p. 129-145, 1998.
- COMAS L.H.; EISSENSTAT D.M. Linking fine root traits to maximum potential growth rate among 11 mature temperate tree species. *Functional Ecology*, v.18, p. 388-397, 2004.
- COMAS, L.H., BOUMA, T.J.; EISSENSTAT, D.M. Linking root traits to potential growth rate in six temperate tree species. *Oecologia*, v.132, p. 34-43, 2002.
- DUFF, S.M.G.; MOORHEAD, C.G.B.; LEFEBVRE, D.D.; PLAXTON, W.C. Phosphate starvation inducible 'bypasses' of adenylate and phosphate dependent glycolytic enzymes in *Brassica nigra* suspension cells. *Plant Physiology*, v.90, p.1275-1278, 1989.
- EISSENSTAT, D.M.; WELLS C.E.; YANAI R.D.; WHITBECK J.L. Building roots in a changing environment: implications for root longevity. *New Phytologist*, v.147, p. 33-42, 2000.
- GADKAR, V.; DAVID, S.R.; KUNIK, T. ; KAPULNIK, Y. Arbuscular mycorrhizal fungal colonization. Factors involved in host recognition. *Plant Physiology*, v 127, p. 1493-1499. 2001.

- GAMPER, H.; PETER, M.; JANSÁ, J.; LUSCHER, A.; HARTWIG, U.A.; LEUCHTMANN, A. Arbuscular mycorrhizal fungi benefit from 7 years of free air CO₂ enrichment in wellfertilized grass and legume monocultures. *Global Change Biology*, v. 10, p.189-199, 2004.
- GARCIA-GARRIDO, J.M.; OCAMPO, A.J. Effect of VA mycorrhizal infection of tomato on damage caused by *Pseudomonas syringae*. *Soil Biology and Biochemistry*, v.21, n.1, p.165-7, 1989.
- GUARIGUATA, M.R.; OSTERTAG, R. Neotropical secondary forest succession: changes in structural and functional characteristics. *Forest Ecology and Management*, v.148, p.185- 206. 2001.
- HARRISON, M.J. Biotrophic interfaces and nutrient transport in plant fungal symbioses. *Journal Experimental Botany*, v.50, p.1013-1022, 1999.
- HINSINGER P., GOBRAN G.R., GREGORY P.J., WENZEL W.W. Rhizosphere geometry and heterogeneity arising from root-mediated physical and chemical processes. *New Phytologist*, v.168, p. 293-303, 2005.
- HOLTZ, G.P.; SÁ, J.C. Resíduos culturais: reciclagem de nutrientes e impacto na fertilidade do solo. In: CURSO SOBRE MANEJO DO SOLO NO SISTEMA DE PLANTIO DIRETO. *Anais*. Castro, Paraná: Fundação ABC, 1995. p. 21-36.
- HUNGRIA, M.; ANDRADE, D.S.; BALOTA, E.L.; COLOZZI-FILHO, A. Importância do sistema de semeadura na população microbiana do solo. *Comunicado Técnico/Embrapa-Soja*, Londrina, n 56, p.1-9,1997.
- JAKOBSEN, I. Transport of phosphorus and carbon in VA Mycorrhizas. In: VARMA, A.; HOCK, B. (Ed.). *Mycorrhiza: structure, function, molecular biology and biotechnology*. Berlin: Springer-Verlag, 1995. p. 297-324.
- JANOS, D. P. Mycorrhizas, succession, and the rehabilitation of deforested lands in the humid tropics. In: FRANKLAND, J. C.; MAGAN, N.; GADD, G. M. (Ed.). *Fungi and environmental change*. Cambridge: Cambridge University Press. 1996. p. 129-162. (British Mycological Society Symposium, 20).
- JASPER, D. A.; ABBOT, L. K.; ROBSON, A. D. The effect of soil disturbance on vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi, in soils from different vegetation types. *New Phytologist*, Cambridge, v. 118, n. 3, p. 471-476, 1991.
- JASTROW, J.D.; MILLER, R.M. & LUSSENHOP, J. Contributions of interacting biological mechanisms to soil aggregate stabilization in restored prairie. *Soil Biology Biochemistry*, v. 30, p. 905-916, 1998.
- LEHNINGER, A.L.; NELSON, D.L.; COX, M.M. *Princípios de bioquímica*. Tradução de W.R. Loodi e A.A. Simões. São Paulo: Sarvier, 1995. 839p.
- LORENZI, H. *Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil*. Nova Odessa: Ed. Plantarum, 1992.
- MARSCHNER, H.; DELL, B. Nutrient-uptake in mycorrhizal symbiosis. *Plant Soil*, v.159, p. 89- 102, 1994.

- MARSCHNER, H. *Mineral nutrition of higher plants*. London: Academic Press, 1986.
- MARX, D.H.; BRYAN, W.C. Growth and ectomycorrhizal development of loblolly pine seedlings in fumigated soil infested with the fungal symbiont *Pidolium tinctorius*. *Forest Science*, v.21, p.245-254, 1975.
- MATSUMOTO, L.S., MARTINNES, A.M., AVANZI, M.A., ALBINO, U.B., BRASIL, C.B., SARIDAKIS, D.P., RAMPAZO, L.G.L., ZANGARO, W.; ANDRADE, G. Interactions among functional groups in the cycling of, carbon, nitrogen and phosphorus in the rhizosphere of three successional species of tropical woody trees. *Applied Soil Ecology*, v.28, p. 57-65, 2005.
- MILLER, M.; MCGONIGLE, T.; ADDY, H. An economic approach to evaluate the role of mycorrhizas in managed ecosystems. *Plant and Soil*, v. 159, p. 27-35, 1994.
- MOREIRA, F.M.S.; SIQUEIRA, J.O. *Microbiologia e bioquímica do solo*. Lavras: Ed. UFLA, 2002.
- NIELSEN, J.S.; JONER, E.J.; DECLERCK, S.; OLSSON, S. ; JAKOBSEN, I. Phospho-imaging as a tool for visualization and noninvasive measurement of P transport dynamics in arbuscular mycorrhizas. *New Phytologist*, v. 154, p.809-819, 2002.
- PACOVSKY, R.S. Micronutrient uptake and distribution in mycorrhizal or phosphorus-fertilized soybeans. *Plant Soil*, v.95, p.379-388, 1986.
- PERRY, D. L.; MOLINA, R.; AMARANTHUS, M. P. Mycorrhizae, mycorrhizospheres, and reforestation: current knowledge and research needs. *Canadian Journal of Forest Research*, Ottawa, v. 17, n. 8, p. 929-940, 1987.
- POWERS J.S., TRESEDER K.K.; LERDAU M.T. Fine roots, arbuscular mycorrhizal hyphae and soil nutrients in four neotropical rain forests: patterns across large geographic distance. *New Phytologist*, v. 165, p. 913-921, 2005.
- RAVEN, J.A. ; EDWARDS, D. Roots: evolutionary origins and biogeochemical significance. *Journal Experimental Botany*, v 52, p. 381-401, 2001.
- READ, D.J.; PEREZ-MORENO, J. Mycorrhizas and nutrient cycling in ecosystems a journey towards relevance? *New Phytology*, v.157, p.475-492, 2003.
- REDECKER, D.; MORTON, J.B.; BRUNS, T.D. Ancestral lineages of arbuscular mycorrhizal fungi (Glomales). *Molec. Phylog. Evol.*, v.14, p.276-284, 2000.
- SANDERS, I.R.; CLAPP, J.P.; WIEMKEN, A. The genetic diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in natural ecosystems - a key to understanding the ecology and functioning of the mycorrhizal symbiosis. *New Phytologist*, v.133, p.123-134.1996.
- SANDERS, I.R.; GROPE, T.; BOILER, K. ; WIEMKEN, A. Identification of ribosomal DNA polymorphisms among and within spores of the Glomales: application to studies on the genetic diversity of arbuscular mycorrhizal fungal communities. *New Phytologist*, v. 130, p. 419-427.1995.
- SCHUBLER, A.; SCHWARZOTT, D. ; WALKER, C. A new fungal phylum, the glomeromycota: phylogeny and evolution. *Mycological Research*, v.105, p.1413-1421, 2001.

- SIMON, L. Phylogeny of the glomales – deciphering the past to understand the present. *New Phytol.*, v. 133, p. 95-101, 1996.
- SIMON, L.; BOUSQUET, J.; LEVESQUE, R.C.; LALONDE, M. Origin and diversification of endomycorrhizal and coincidence with vascular land plants. *Nature*, v. 363, p. 67-69, 1993.
- SIQUEIRA, J.O.; FRANCO, A.A. *Biotecnologia do solo, fundamentos e perspectivas*. Brasília: MEC/ABEAS/ESAL/FAEPE, 1988.
- SMITH, S.E.; READ, D.J. *Mycorrhizal symbiosis*. London: Academic, 1997.
- SYLVIA, D.M.; WILLIAMS, S.E. Vesicular-arbuscular mycorrhizae and environmental stress. In: BETHLENFALVAY, G.S.; LINDERMAN, R.G. (Eds). *Mycorrhizae in sustainable agriculture*. Madison: ASA Special Publication, 1992. p.101-124.
- VANDRESEN, J., NISHIDATE, F.R., TOREZAN, J.M.D.; ZANGARO, W. Inoculação de fungos micorrízicos arbusculares e adubação na formação e pós-transplante de mudas de cinco espécies arbóreas nativas do sul do Brasil. *Acta Botânica Brasílica*, v.21, p. 753-765. 2007.
- ZANGARO, W. Micorrizas arbusculares em espécies arbóreas nativas da bacia do Rio Tibagi (PR) e suas relações com os grupos sucessionais. 1997. 171 p. Tese (Doutorado) - Universidade de São Paulo, São Paulo. 1997.
- ZANGARO, W., NISHIDATE F.R., CAMARGO, F.R.S., ROMAGNOLI, G.G. ; VANDRESEN, 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.
- ZANGARO, W., NISIZAKI, S.M.A., DOMINGOS, J.C.B.; NAKANO, E.M. Micorriza arbuscular em espécies arbóreas nativas da bacia do rio Tibagi, Paraná. *Cerne*, v. 8, p.77-87, 2002.
- ZANGARO, W., NISIZAKI, S.M.A., DOMINGOS, J.C.B.; NAKANO, E.M. Mycorrhizal response and successional status in 80 woody species from south Brazil. *Journal of Tropical Ecology*, v.19, p. 315-324, 2003.
- ZANGARO, W.; ASSIS, R.L; ROSTIROLA, L.V.; SOUZA, P.B.; GONÇALVES, M.C.; ANDRADE, G.; NOGUEIRA, M.A. Changes in arbuscular mycorrhizal associations and fine root traits in sites under different plant successional phases in southern Brazil. *Mycorrhiza*, v.19, p 37–45. 2008.
- ZANGARO, W.; NISHIDATE, F.R.; VANDRESEN, J.; ANDRADE, G.; NOGUEIRA, M.A. Root mycorrhizal colonization and plant responsiveness are related to root plasticity, soil fertility and successional status of native woody species in southern Brazil. *Journal of Tropical Ecology*, v. 23, p. 53-62. 2007.
- <http://www.ambientebrasil.com.br>, acessado em 30 de maio de 2008.