

ESTABELECIMENTO E CAPACIDADE INFECTIVA DE *GIGASPORA MARGARITA* E *GLOMUS CLARUM* EM SOLO SOB EROSÃO¹

Anselmo Lúcio dos Santos²
Francisco Adriano De-Souza^{3,4}
Ricardo Luiz Louro Berbara⁵
José Guilherme Marinho Guerra³

Recebido em 13/01/1999. Aceito em 04/02/2000

RESUMO – (Estabelecimento e capacidade infectiva de *Gigaspora margarita* Becker & Hall e *Glomus clarum* Nicol. & Gerd. em solo sob erosão). O processo de recuperação de áreas degradadas pode ser favorecido pela inoculação de plantas com fungos micorrízicos arbusculares (FMA), selecionados para efetividade e competitividade. Com o objetivo de avaliar o estabelecimento e a capacidade infectiva (CI) de fungos introduzidos em relação à comunidade de fungos autóctones (FA), foram conduzidos dois experimentos em casa-de-vegetação. No primeiro, foram cultivadas 10 espécies de plantas (três gramíneas e sete leguminosas) com três tratamentos de inoculação [controle; *G. margarita* (CNPAB 001); *G. clarum* (CNPAB 005)]. No segundo, a CI dos FMA foi avaliada no solo após o primeiro experimento, em bioensaio com plantas-iscas repicadas semanalmente para vasos contendo solo autoclavado. O estabelecimento e a CI dos FMA foi baseada na presença de esporos após os cultivos. Os FMA introduzidos e as espécies vegetais influenciaram de modo diferenciado a esporulação dos FMA (*Acaulospora rugosa*, *Entrophospora colombiana*, *Gigaspora margarita* e *Glomus macrocarpum*). A inoculação possibilitou o estabelecimento dos fungos inoculados em todas as plantas avaliadas. No entanto, somente *G. clarum* apresentou CI frente a população de fungos autóctones. Foi constatado que a CI destes isolados não está relacionada com o número de esporos. A produção de inoculantes comerciais a partir destes fungos é discutida.

Palavras-chave – Glomales, endomicorriza, esporos, área degradada, inoculação, competitividade

ABSTRACT – (Establishment and infective capacity of *Gigaspora margarita* Becker & Hall and *Glomus clarum* Nicol. & Gerd. in eroded soil). The processes of recovering degraded lands may be benefited by the inoculation of selected arbuscular mycorrhizal fungi (AMF), for effectivity and competitiveness. Two greenhouse experiments were carried out, with the aim of evaluating the establishment and infective capacity (IC) of introduced fungi in relation to community of autochthonous fungi (AF). In the first study, 10 plant species were cultivated (three grasses and seven legumes) with three inoculum treatments [control; *G. margarita* (CNPAB 001); *G. clarum* (CNPAB 005)]. In the second study, the IC of the AMF was evaluated in the soil after the first experiment in bioassays, with

¹ Parte da Dissertação de Mestrado do primeiro Autor. Trabalho apresentado no II Congresso Brasileiro de Micologia, Rio de Janeiro, RJ, 1998

² Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ

³ Embrapa Agrobiologia, C. Postal 74505, CEP 23851-970, Seropédica, Rio de Janeiro, Brasil

⁴ Autor correspondente e-mail: fdesouza@usa.net; endereço atual: Plant Research International, Binnenhaven 5, P.O.Box 16, 6700 AA Wageningen, The Netherlands

⁵ Departamento de Solos, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, CEP 23851-970, Seropédica, RJ, Brasil

trap plants transplanted weekly to pots containing autoclaved soil. The establishment and IC of AMF were based on the presence of spores after harvest. The introduction of AMF and the plant species influenced the sporulation of AF (*Acaulospora rugosa*, *Entrophospora colombiana*, *Gigaspora margarita* and *Glomus macrocarpum*) in a differentiated way. The inoculation made the establishment of the inoculated fungus in all tested plants possible. However, only *G. clarum* presented IC to compete with the autochthonous fungi. The IC of these isolates showed no relationship to number of spores. The production of commercial inoculum using these fungi is discussed.

Key words – Glomales, endomycorrhiza, spores, degraded land, inoculation, competitiveness

Introdução

A contribuição dos fungos micorrízicos arbusculares (FMA) para o crescimento de plantas já está bem caracterizada, principalmente quanto ao aumento da capacidade de absorção de nutrientes, em especial o fósforo (Smith & Read 1997). Atualmente sabe-se que estes fungos são componentes importantes no processo de sucessão vegetal por contribuírem para a diversificação e a estabilidade de ecossistemas (van der Heijden *et al.* 1998), papel demonstrado em estudos conduzidos em áreas impactadas submetidas a processo de revegetação (Miller & Jastrow 1992; De-Souza & Silva 1996) e em ecossistemas naturais (van der Heijden *et al.* 1998).

O processo de degradação, em geral, remove o horizonte superficial do solo, camada rica em matéria orgânica, e que contém a maioria dos propágulos de organismos responsáveis pelo processo de revegetação natural. A baixa disponibilidade de recursos bióticos, aliada a condições físicas e químicas desfavoráveis ao crescimento de plantas, faz com que a recuperação destas áreas só se torne possível quando recursos (sementes, microrganismos, fertilizantes, etc.) são aplicados de modo a permitir a retomada do processo de sucessão vegetal (De-Souza & Silva 1996).

Modelos tecnológicos, baseados no emprego de leguminosas arbóreas noduladas e micorrizadas, para revegetação de áreas degradadas vêm sendo utilizados com sucesso (Franco *et al.* 1994; Franco & Faria 1997). Este sistema está fundamentado na simbiose tríplice leguminosa - bactéria diazotrófica - fungo micor-

rízico, onde a associação da planta com estes dois microrganismos a torna apta a sobreviver em condições adversas. O caráter autotrófico da planta, associado à capacidade de fixar nitrogênio atmosférico da bactéria e a maior eficiência do micélio fúngico em absorver nutrientes e água, além de atuar na estruturação do solo, fazem desta tecnologia uma das melhores e mais econômicas maneiras de recuperar áreas impactadas (De-Souza & Silva 1996; Franco & Faria 1997). Um dos grandes impedimentos para o estabelecimento de plantas micotróficas em áreas degradadas, onde os FMA foram eliminados ou reduzidos, pode ser contornado através da inoculação destes fungos durante o preparo de mudas.

Com o intuito de selecionar fungos para a produção de inoculantes comerciais, são conduzidos testes de efetividade para a seleção de organismos promissores. Em seguida, os isolados selecionados são avaliados, sob condições próximas às naturais, quanto à capacidade de estabelecimento e competitividade, para que possam ser testados a campo e, posteriormente, recomendados para uso em larga escala.

Os fungos *Gigaspora margarita* Becker & Hall (CNPAB 001) e *Glomus clarum* Nicol. & Gerd. (CNPAB 005) vêm sendo empregados na produção de mudas de diversas espécies de leguminosas arbóreas, face aos benefícios que essas duas espécies proporcionam ao crescimento destas plantas (De-Souza não publicados). No entanto, pouco se conhece sobre a capacidade de estabelecimento e competitividade destes fungos após serem introduzidos em áreas impactadas. Este trabalho teve por objetivos avaliar o estabelecimento e a capacidade infec-

tiva destes fungos, através da inoculação em gramíneas e leguminosas em um substrato natural, contendo a comunidade de fungos autóctones, oriundo da erosão de um solo Podzólico Vermelho.

Material e métodos

Localização e caracterização do local de coleta das amostras de solo - Em março/1997, foi coletada amostra de um solo Podzólico Vermelho (Brasil 1983), depositado por erosão em uma praça de sedimentos de um corte de estrada intensamente erodido, localizado no Município de Barra do Piraí, RJ. O solo apresentava textura argilosa e minerais primários, pH em água (1:2,5) 5,4; matéria orgânica 0,14 g.dm⁻³ e nitrogênio 0,19 g.dm⁻³; Al, Ca e Mg, respectivamente 1, 8 e 12 mmol_c.dm⁻³ extraído por KCl 1N; e 12,8 e 48,1 mg.dm⁻³, respectivamente, de P e K extraídos por Mehlich I (Embrapa 1979).

Na ocasião da coleta, a área apresentava vegetação esparsa composta por sapê (*Imperata brasiliensis* Trin) e capim gordura (*Melinis minutiflora* Pal. De Beauv.), e continha 466 esporos de FMA por 100cm⁻³ de solo, entre os quais predominavam *Acaulospora rugosa* Morton, (238), seguida de *Entrophospora colombiana* Spain & Schenck, (164), *Glomus macrocarpum* Tul. & Tul., (46) e *Gigaspora margarita*, (18). Os esporos foram determinados após extração por peneiramento via úmida (Gerdemann & Nicolson 1963), seguido de centrifugação em solução de sacarose a 45% (Daniels & Skipper 1982), e contados sob microscópio estereoscópico após identificação. Para identificação, os esporos foram separados em microscópio estereoscópico, montados em lâminas e observados em microscópio óptico. Foram preparadas lâminas contendo esporos intactos e quebrados, em álcool polivinílico e lacto-glicerol (PVLG) e com solução de Melzer + PVLG 1:1. Para a identificação, foram utilizados o Manual de Shenck & Pérez (1988) e outras referências pertinentes.

Experimento 1 - Avaliação do estabelecimento de *G. margarita* e *G. clarum* em solo erodido contendo a comunidade de fungos autóctones - O experimento foi conduzido em condições de casa-de-vegetação na Embrapa Agrobiologia, em solo nativo, oriundo do sítio de coleta e que continha a comunidade de FMA autóctone anteriormente relacionada. Foi utilizado o delineamento de blocos casualizados em arranjo fatorial, com 10 espécies de plantas, três tratamentos de inoculação de FMA e quatro repetições. As plantas utilizadas foram: braquiária (*Brachiaria decumbens* Stapf), milheto (*Pennisetum glaucum* L.), sorgo (*Sorghum bicolor* L.), amendoim-forrageiro (*Arachis pintoi* Krapovickas & Gregory), crotalária (*Crotalaria juncea* L.), desmódio (*Desmodium ovalifolium* Wall), estilosantes (*Stylosanthes guianensis* Aubl.), kudzu tropical (*Pueraria phaseoloides* Benth & Hook), mucuna-cinza (*Mucuna pruriens* Steph & Bart) e soja perene (*Neonotonia wrightii* Lackey). Os tratamentos de inoculação de FMA foram: (1) controle não inoculado; (2) 100g de inóculo de solo do acesso CNPAB 001 *Gigaspora margarita* e (3) 100g de inóculo de solo de *Glomus clarum*, ambos inoculados a 5cm da superfície do solo no momento do plantio.

Os inóculos dos FMA foram produzidos a partir de solo inóculo dos acessos CNPAB 001 *Gigaspora margarita* e CNPAB 005 *Glomus clarum* depositados no Banco de Germoplasma de Glomales da Embrapa Agrobiologia. Os acessos foram multiplicados, individualmente, em cubas plásticas contendo 20kg de substrato, composto pela mistura de solo e areia na proporção de 1:1 (v:v) e tendo como planta hospedeira *Brachiaria decumbens*. Durante o período de crescimento, as plantas foram adubadas com solução nutritiva segundo Brundrett *et al.* (1994). Cinco meses após o plantio cessou-se a irrigação dos vasos, permitindo a secagem das plantas e do substrato. Posteriormente, o substrato foi retirado dos vasos, destorroadado, peneirado e as raízes foram removidas, cortadas em fragmentos menores que um centímetro e novamente

misturadas ao substrato. Os inóculos produzidos continham, 490 e 4.300 esporos por 100g de solo, respectivamente, para *Gigaspora margarita* (CNPAB 001) e *Glomus clarum* (CNPAB 005), bem como hifas e raízes colonizadas.

Na preparação do experimento foram empregados vasos com 5kg de solo não desinfestado. O solo do sítio de coleta foi seco, destorroado e passado em peneira com malha de 4mm de abertura. Em seguida foi adubado com rocha fosfática de Araxá, na dose de 5,5 g.kg⁻¹ de substrato (Manjunath *et al.* 1989). O fosfato apresentou 4% de P₂O₅ solúvel em ácido cítrico a 2%, e 24% de P₂O₅ total. Aplicou-se também enxofre (S) sob a forma de MgSO₄.7H₂O equivalente a 57,7 Kg.ha⁻¹, e micronutrientes (solução de Hoagland & Arnon 1938). Nas gramíneas, foi aplicado o equivalente a 80 Kg.ha⁻¹ de N, com a solução 1M de NH₄NO₃. As leguminosas foram inoculadas com *Rhizobium* específico (1mL.vaso⁻¹ na forma líquida colocado sobre as sementes pré-germinadas) oriundo da coleção de culturas da Embrapa Agrobiologia. As sementes de soja perene, kudzu e estilosantes foram escarificadas com H₂SO₄ concentrado por cinco minutos. Com exceção da braquiária, que foi desinfestado com hipoclorito de sódio a 5%, as sementes das outras espécies foram tratadas com H₂O₂ (30%) por três minutos. As sementes foram pré-germinadas em câmara de germinação a 25°C com umidade controlada até a emissão das radículas, sendo logo após transplantadas para os vasos definitivos e, aos 20 dias após a emergência (DAE), realizou-se o desbaste, permanecendo duas plantas por unidade experimental.

Após o cultivo das plantas, um período de 100 DAE, as raízes foram retiradas de forma a deixar somente esporos no solo. Em seguida, o substrato de cada vaso foi homogeneizado e utilizado para avaliar a capacidade infectiva (experimento 2). Em cada unidade experimental foram coletadas amostras de terra e de raízes, para quantificar a densidade de esporos e a colonização radicular. A extração dos esporos de

FMA foi realizada conforme descrito anteriormente. As amostras de raízes foram coletadas e armazenadas em etanol 50% (Koske & Gemma 1989). Na determinação da colonização micorrízica, as raízes foram clarificadas e coradas com azul-de-metila (Koske & Gemma 1989). A avaliação da percentagem de colonização foi realizada sob microscópio estereoscópico com aumento de 40x, pela técnica da intersecção de quadrantes (Giovannetti & Mosse 1980).

Experimento 2 - Avaliação da capacidade infectiva (CI) dos fungos autóctones e introduzidos - Para determinar a CI dos fungos nos substratos provenientes do sítio de coleta e do experimento I, empregou-se a metodologia da planta isca, de acordo com Thomson *et al.* (1994), com modificações. Este bioensaio é conduzido em condições de casa-de-vegetação e é composto por duas fases. Na primeira fase, a planta isca é semeada em solo teste, onde fica exposta à colonização por períodos crescentes. Na segunda fase, as plantas são transferidas para vasos com solo livre de FMA, onde ocorre a esporulação dos fungos que colonizaram a planta na fase I, permitindo a identificação e a avaliação da CI.

Na fase I, sementes de sorgo BR 005R foram semeadas em substrato oriundo da amostra coletada à campo e das amostras provenientes dos tratamentos do experimento I. Na fase II, as plântulas de sorgo crescidas nestes substratos foram transplantadas para vasos contendo 1kg de substrato autoclavado. Este substrato era oriundo do sítio de coleta, preparado conforme descrito anteriormente, sendo em seguida desinfestado (autoclavado duas vezes a 120°C e pressão de 1,5 Kg.cm⁻³ durante uma hora, em dias alternados). As repicagens foram realizadas com intervalos de sete dias, a contar da data da emergência das plântulas, adotando-se seis épocas (7, 14, 21, 28, 35 e 42 dias após a emergência). Na repicagem, as plântulas foram cuidadosamente retiradas do substrato, lavadas com água destilada para retirar partículas de solo

aderidas, e transplantadas para vasos. Cada vaso recebeu duas plântulas por tratamento. As plantas foram cultivadas até a produção de grãos, aproximadamente cinco meses, quando se coletaram amostras do substrato para a identificação das espécies de FMA. Na identificação e avaliação dos esporos de FMA foram adotados os mesmos critérios e técnicas já citados.

Análise estatística - Os dados foram submetidos a testes preliminares para verificar a normalidade e a homogeneidade de variância. No experimento I, a análise estatística das variáveis "densidade de esporos" e "comprimento de raiz colonizada" foi feita com os dados transformados, respectivamente para $\log(x + 1)$ e arco seno ($\sqrt{x / 100}$), sendo analisados através da análise de variância, avaliando-se o efeito de cada fator isoladamente e da interação entre eles. Quando o teste F de Fischer-Snedecor foi significativo para a interação, a mesma foi desmembrada e o teste de Tukey ($p < 0,05$) foi aplicado para comparar as médias entre os tratamentos.

Resultados e discussão

A comunidade de FMA autóctones, avaliada com base na ocorrência de esporos no solo, apresentou-se pouco diversificada e com distribuição que refletia o estágio de degradação da área. A população distribuiu-se segundo o modelo de abundância da série geométrica (De-Souza dados não publicados), que é típico de ecossistemas em estádios iniciais de sucessão ou comunidades perturbadas, onde ocorrem poucas espécies com grande diferença de abundância entre elas (Magurran 1988). As espécies encontradas são comuns em solos de regiões tropicais (Sieverding 1991) e a ocorrência destas tem sido reportada no Brasil. *E. colombiana* foi encontrada em solos sob cerrado (Miranda & Miranda 1997) e *G. macrocarpum* é mais comum, tendo sido identificado em diversos ecossistemas (Trufem & Viriato 1990; Trufem *et al.* 1990; Grandi & Trufem 1991; De-Souza *et al.* 1999). *Acaulospora rugosa* Morton é

sinônimo de *A. longula* Spain & Schenck de *A. morrowiae* Spain & Schenck (INVAM 1998), sendo também comum (Grandi & Trufem 1991; Melo *et al.* 1997). *Gigaspora margarita* sinônimo *G. ramisporophora* (Bentivenga & Morton 1995), a qual foi descrita a partir de solo coletado no Brasil (Spain *et al.* 1989) e também tem sido reportada com frequência (Trufem *et al.* 1994; De-Souza *et al.* 1999).

A taxa de colonização radicular foi mais elevada em gramíneas e leguminosas anuais quando contrastadas com as perenes, com exceção da soja perene que apresentou resultados semelhantes aos da crotalária (Tab. 1). Nos tratamentos inoculados com *G. clarum*, a inoculação promoveu aumento na taxa de colonização radicular, em relação ao controle, para milho, sorgo e crotalária, sendo estas as plantas que apresentaram as maiores taxas de colonização. A introdução de *G. margarita* seguiu a mesma tendência, porém de modo menos acentuado. Estes resultados indicam que os fungos introduzidos foram capazes de estimular a micorrização de algumas plantas no solo estudado. Esta afirmativa é reforçada pela correlação positiva obtida entre o acúmulo de fósforo na parte aérea das plantas testadas e o número de esporos de *G. clarum* encontrados após o cultivo destas plantas (Santos 1998).

Os dois fungos introduzidos foram capazes de estimular a taxa de colonização de algumas plantas, porém, as maiores respostas foram obtidas com a inoculação de *G. clarum* em relação a *G. margarita*. As variações na taxa de colonização entre as plantas inoculadas com estes fungos podem ser reflexo das diferenças na densidade de propágulos nos inóculos empregados, que foi maior para *G. clarum*, ou também, a capacidade infectiva destes fungos. A produção de inóculo para estas espécies é feita em vasos de cultivo e a densidade de esporos obtidas para *G. clarum* é sempre superior à obtida para *G. margarita* (De-Souza dados não publicados). Técnicas mais eficientes de produção de inóculo têm sido propostas (Jarstfer & Silvia 1995), no

Tabela 1. Colonização radicular por FMA em gramíneas e leguminosas, inoculadas ou não com *Gigaspora margarita* ou *Glomus clarum* e cultivadas por 100 dias em substrato oriundo da erosão de um solo Podzólico Vermelho.

Espécies vegetais	Tratamentos de Inoculação						Média geral
	<i>G. margarita</i>		<i>G. clarum</i>		Controle		
	Colonização radicular (%)						
Braquiária	40	BC a	41	CDE a	30	ABC a	37 CD
Milheto	63	A ab	75	A a	48	A b	62 A
Sorgo	66	A a	67	AB a	37	AB b	57 AB
Crotalária	49	AB b	66	AB a	29	BC c	48 BC
Mucuna-cinza	37	BCD a	41	CD a	33	AB a	37 CD
Amendoim-forrageiro	12	E a	12	F a	10	D a	11 F
Desmódio	24	DE a	24	EF a	21	BCD a	23 E
Estilosantes	21	DE a	24	DEF a	16	CD a	20 E
Kudzu tropical	25	CD a	30	CDE a	26	BC a	27 DE
Soja perene	34	BCD a	44	BC a	37	AB a	39 C
Média	37	b	42	a	29	c	

Valores seguidos de mesma letra, minúsculas nas linhas e maiúsculas nas colunas, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5%.

entanto o sistema de produção em vasos de cultivo ainda é o mais utilizado.

O efeito da inoculação sobre o crescimento e a produção de plantas pode refletir ação direta do fungo introduzido, ao colonizar as raízes da planta hospedeira, ou indireta, através de suas interações com as populações de fungos autóctones, tais como sinergismo, antagonismo e competição. A análise feita com base nos esporos obtidos por extração pode dar idéia da capacidade de estabelecimento de fungos (Fernandes & Siqueira 1989), contudo, sabe-se que estes resultados nem sempre refletem a situação das populações de FMA no ecossistema. Isto se verifica, principalmente, nos casos onde o fungo não apresenta esporos no solo mas está colonizando a planta hospedeira (Clapp *et al.* 1995). O estabelecimento dos FMA está mais relacionado à capacidade competitiva e infectiva do que à produção de esporos (Gravina 1998).

A densidade de esporos totais, após o crescimento das plantas (Tab. 2), variou com o tratamento de inoculação e com a espécie de planta empregada. Ao comparar os efeitos dos tratamentos de inoculação com o número total de esporos após o cultivo das plantas (Tab. 2), verificou-se que os valores mais expressivos foram encontrados nos tratamentos onde foram in-

roduzidos *G. margarita* e *G. clarum*. Com a introdução de *G. margarita*, o sorgo e o milho foram as plantas que, em geral, promoveram os maiores aumentos no número total de esporos. Nos tratamentos com o *G. clarum*, as maiores densidades de esporos foram encontradas após o cultivo do milho, do sorgo e da soja perene. Ao testar apenas as espécies autóctones, os resultados foram mais expressivos com o sorgo e o amendoim-forrageiro.

Dentre as plantas utilizadas neste estudo, a braquiária tem sido empregada na revegetação de taludes em rodovias e é muito empregada como planta hospedeira para multiplicação de FMA. De modo geral, a densidade de esporos após o cultivo desta gramínea perene foi similar ao das leguminosas avaliadas (Tab. 2). As gramíneas anuais sorgo e milho apresentaram melhor desempenho. Neste estudo, estas espécies foram empregadas com finalidade comparativa, por serem espécies comprovadamente eficientes para a multiplicação de FMA (Simpson & Daft 1990). As leguminosas forrageiras amendoim-forrageiro, desmódio, kudzu tropical e soja perene apresentam hábito de crescimento prostrado, assim como o estilosantes, e têm grande potencial para revegetação de encostas e para a recuperação

Tabela 2. Número total de esporos de FMA em diferentes gramíneas e leguminosas, inoculadas ou não com *Gigaspora margarita* ou *Glomus clarum* e cultivadas por 100 dias em substrato oriundo da erosão de um solo Podzólico Vermelho.

Espécies vegetais	Tratamentos de Inoculação										
	<i>G. margarita</i>			<i>G. clarum</i>			Controle		Média geral		
	Número de esporos em 50cm ³ de solo										
Braquiária	300	B	a	142	D	b	127	C	b	189	BC
Milheto	533	A	a	497	A	a	148	BC	b	393	A
Sorgo	641	A	a	364	AB	b	270	A	b	425	A
Crotalária	145	D	ab	219	BCD	a	121	C	b	161	C
Mucuna-cinza	281	BC	a	196	CD	a	200	ABC	a	225	B
Amendoim-forrageiro	219	BCD	ab	172	D	b	265	A	a	219	BC
Desmódio	165	CD	a	170	D	a	137	BC	a	157	C
Estilosantes	209	BCD	a	133	D	b	165	ABC	ab	169	BC
Kudzu tropical	163	CD	a	159	D	a	213	AB	a	178	BC
Soja perene	205	BCD	ab	293	ABC	a	173	ABC	a	224	B
Média	286		a	234		b	182		c		

Análise de variância feita a partir de dados transformados para $\log(x + 1)$.

Valores seguidos de mesma letra, minúsculas nas linhas e maiúsculas nas colunas, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5%.

de pastagens degradadas. Essas espécies apresentaram bom desempenho principalmente quanto à multiplicação dos fungos autóctones (Tab. 2). As leguminosas anuais crotalária e mucuna-cinza são empregadas como adubos verdes e, juntamente com as gramíneas anuais, podem ser empregadas como culturas antecessoras de espécies micotróficas obrigatórias, visando o aumento da densidade de propágulos infectivos de FMA autóctones, conforme demonstrado para batata-doce (Espindola *et al.* 1998) e mandioca (De-Souza *et al.* 1999).

Com base na densidade de esporos de cada espécie presente nas amostras de solo (Tab. 3), pode-se verificar que os dois fungos introduzidos foram capazes de se estabelecer, produzindo novos esporos. Como o tratamento controle apresentava um isolado de *G. margarita* indígena, a distinção entre ambos não foi possível através das técnicas empregadas neste trabalho. No entanto, a introdução da *G. margarita* promoveu aumento médio de 19% no número de esporos desta espécie em relação ao tratamento controle, o que evidencia o provável estabelecimento do fungo introduzido. Foi constatado que o sorgo foi a planta que mais estimulou a esporulação de *G. margarita* introduzido. Na

comunidade indígena, foram o kudzu tropical e a mucuna-cinza, para os tratamentos *G. clarum* e controle, respectivamente. Estes resultados podem ser indicativos de diferenças entre os isolados de *G. margarita* introduzida e autóctone.

O isolado *G. clarum* também apresentou esporulação em todas as plantas avaliadas, sendo o milho, o sorgo e a mucuna-cinza as que mais estimularam (Tab. 3). Quando comparado com a da *G. margarita* introduzida, a esporulação de *G. clarum* foi inferior, apresentado em média 39 esporos 100.cm⁻³ aos 100 obtidos para *G. margarita*.

A introdução dos fungos e as espécies de plantas utilizadas influenciaram de modo diferenciado a esporulação dos fungos autóctones. Este tipo de resposta é comum e foi relatado no Brasil por Balota & Lopes (1996) em plantas de café inoculadas com *G. margarita*, e em sistemas de rotação com adubos verdes e mandioca, por De-Souza *et al.* (1999). De forma geral, *Acaulospora rugosa* apresentou as maiores densidades de esporos, sendo seguida por *Entrophospora colombiana* e por *Glomus macrocarpum*. A densidade de esporos obtida por *G. margarita* autóctone apresentou o mesmo patamar da produzida por *Glomus*

Tabela 3. Número de esporos de FMA introduzidos e autóctones, após o cultivo por 100 dias com diferentes espécies de gramíneas e leguminosas inoculadas ou não com *Gigaspora margarita* ou *Glomus clarum* em substrato oriundo da erosão de um Podzólico Vermelho.

Plantas	Tratamentos de inoculação																
	<i>Gigaspora margarita</i>						<i>Glomus clarum</i>						Controle				
	Gm	Ar	Ec	Glm	Gm	Ar	Gc	Ar	Ec	Glm	Gm	Ar	Ec	Gm	Ar	Ec	Glm
	Número de esporos em 50 cm ³ de solo						Número de esporos em 50 cm ³ de solo						Número de esporos em 50 cm ³ de solo				
Braquiária	154 ABCa	52 CDa	47 BCa	47 ABa	3 Dc	23 CD	71 CDa	32 Aa	13 Ab	23 BCb	48 Ca	45 Aa	11 Ab				
Milheto	143 ABCa	276 Aa	74 ABa	41 AB a	4 CDc	89 A	349 Aa	40 Aa	15 Ab	13 CDb	75 BCb	47 Aa	14 Ab				
Sorgo	202 Aa	266 Aa	117 Aa	56 Aa	18 ABb	72 A	214 ABa	43 Ab	18 Ab	39 ABb	177 Aa	36 Ab	19 Ab				
Amendoim-forrageiro	55 CDa	101 BCb	40 BCa	24 ABCa	18 ABb	36 BC	56 Dc	41 Aa	21 Aa	17 BCb	194 Aa	40 Aa	14 Aa				
Crotalária	63 BCDA	31 Db	28 Ca	22 BCa	19 ABb	32 BC	114 BCa	37 Aa	18 Aa	35 ABa	47 Cb	28 Aa	12 Aa				
Desmódio	65 BCDA	66 BCa	26 Ca	16 Ca	15 ABb	21 CD	89 CDa	30 Aa	17 Aa	14 BCb	77 BCa	27 Aa	19 Aa				
Estilosantes	67 ABCDA	91 BCa	40 BCa	12 Ca	9 BCb	28 CD	58 CDa	27 Aa	13 Aa	5 Db	94 ABCa	48 Aa	19 Aa				
Kudzu tropical	64 BCDA	56 BCDB	31 Ca	13 Cab	36 Aab	15 D	58 CDb	28 Aa	22 Aa	24 BCb	135 ABa	44 Aa	11 Ab				
Mucuna-cinza	162 ABa	53 CDa	49 BCa	16 Ca	24 ABb	55 AB	79 CD a	27 Aa	13 Aa	82 Aa	52 Ca	50 Aa	16 Aa				
Soja perene	31 Da	123 Bb	33Ca	18 BCab	18 ABab	16 D	207 ABa	34 Aa	19 Aa	13 CDb	118 ABb	33Aa	10 Ab				
Media	100 a	111 ab	49 a	26 a	16 c	39	129 a	34 b	17 b	26 b	101 b	40 ab	14 b				
CV	8,5	4,7	6,0	7,8	8,5	4,7	6,0	7,8	8,5	4,7	6,0	7,8	8,5	4,7	6,0	7,8	8,5

Valores seguidos de mesma letra, minúsculas nas linhas e maiúsculas nas colunas, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5%, sendo que letras minúsculas compararam médias dentro de um mesmo fungo e entre fontes de inóculo.

Fungos autóctones - *Gigaspora margarita* (Gm); *Acaulospora rugosa* (Ar); *Entrophospora colombiana* (Ec); *Glomus macrocarpum* (Gim).

Fungos introduzidos - CNPAB 001 - *Gigaspora margarita* (Gm) e CNPAB 005 - *Glomus clarum* (Gc).

CV= Coeficiente de variação (%).

macrocarpum.

As plantas que mais favoreceram o aumento da densidade de esporos de *A. rugosa*, nos tratamentos inoculados, foram o milho e o sorgo e, no controle, o sorgo e o amendoim-forrageiro. A crotalaria reduziu a densidade de esporos deste fungo nas fontes de inóculo de *G. margarita* e controle. Por outro lado, a introdução de *G. clarum* favoreceu a esporulação desta espécie quando associada ao milho, soja, pereira e sorgo. Quanto a *E. colombiana* e *G. macrocarpum*, verificou-se que ocorreram variações entre plantas somente nos tratamentos inoculados com *G. margarita*, os quais favoreceram a esporulação destas espécies, principalmente quando associadas ao sorgo e ao milho. Neste tratamento ocorreu redução na esporulação de *A. rugosa* e aumento das demais espécies, evidenciando efeito negativo da introdução da *G. margarita* sobre a esporulação de *A. rugosa*. O parâmetro densidade de esporos pode caracterizar a maior adaptabilidade da espécie às condições edafoclimáticas dominantes (Fernandes & Siqueira 1989) e a compatibilidade com a planta hospedeira (Simpson & Daft 1990).

A avaliação da capacidade infectiva do substrato oriundo diretamente do local de coleta revelou que os fungos autóctones *A. rugosa*, *E. colombiana* e *G. macrocarpum* apresentavam alta capacidade infectiva, sendo capazes de colonizar as plantas de sorgo já na primeira semana de exposição ao substrato (Tab. 4). Dentre os fungos autóctones, *G. margarita* não demonstrou capacidade infectiva até 42 dias de exposição no solo (Tab. 4). O substrato apresentava 18 esporos de *G. margarita* por 100.cm³ e estes foram multiplicados após o experimento 1, demonstrando a viabilidade dos esporos. Assim, conclui-se que esta espécie apresenta baixa capacidade infectiva quando comparada às demais espécies autóctones.

O bioensaio permitiu detectar a presença de mais uma espécie na comunidade, *Acaulospora appendicula* Spain, Sieverding & Schenck, que

infectou as plantas entre 22 e 28 dias de exposição ao solo teste (Tab. 4 e 5). Esta espécie não produziu esporos no experimento 1, como também não foram detectados esporos no material original. No entanto, sabe-se que cultivos sucessivos ou mais prolongados favorecem a esporulação de número maior de espécies, especialmente as mais raras (Stutz & Morton 1996). Há vários relatos de ocorrência de *A. appendicula* em ecossistemas brasileiros (Fernandes & Siqueira 1989; Siqueira *et al.* 1989; Maia & Trufem 1990; Barbosa & Silva 1991; Trufem 1995), sendo considerada conespecífica à *Acaulospora gerdemannii* (Morton *et al.* 1997).

Tabela 4. Efeito do tempo de exposição (dias) sobre a colonização de FMA autóctones de um solo erodido, proveniente do Município de Barra do Pirá, RJ, em plantas de sorgo.

Espécies de FMAs observadas	Tempo de exposição para infecção da planta teste em dias após a emergência					
	7	14	21	28	35	42
<i>A. appendicula</i>	-	-	-	+	+	+
<i>A. rugosa</i>	+	+	+	+	+	+
<i>E. colombiana</i>	+	+	+	+	+	+
<i>G. margarita</i>	-	-	-	-	-	-
<i>G. macrocarpum</i>	+	+	+	+	+	+

(+) presença; (-) ausência de colonização

Os resultados do bioensaio para as amostras provenientes do experimento 1 (Tab. 5), no tratamento não inoculado, foram semelhantes aos obtidos para o solo antes do cultivo das plantas (Tab. 4), com exceção da *A. appendicula*. Esta espécie apresentou maior capacidade infectiva, ocorrendo após o cultivo de 3, 8 e 10 plantas a partir, respectivamente, da segunda, terceira e quinta semana de exposição ao solo. A detecção de *G. margarita* ocorreu somente no tratamento resultante do cultivo de estilozantes, inoculado com essa espécie, a qual foi observada de forma esparsa entre o 15º e o 35º dia de exposição. Por outro lado, *G. clarum* foi detectado em sete das 10 plantas já na primeira semana do bioensaio, e a partir da segunda semana estava

Tabela 5. Efeito do tempo de exposição (dias) sobre a colonização de FMA introduzidos (*Gigaspora margarita* e *Glomus clarum*) e autóctones, em plantas de sorgo cultivadas em solo erodido, após o cultivo com diferentes espécies de gramíneas e leguminosas por um período de 100 dias.

Espécies de FMA observadas	Tratamentos de inoculação																	
	<i>Gigaspora margarita</i>						<i>Glomus clarum</i>						Não inoculado					
	Tempo de exposição para infecção da planta teste em dias após a emergência																	
	7	14	21	28	35	42	7	14	21	28	35	42	7	14	21	28	35	42
<i>G. margarita</i>	0*	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>G. clarum</i>	**	-	-	-	-	-	7	10	10	10	10	10	-	-	-	-	-	-
<i>A. appendicula</i>	0	5	10	10	10	10	0	0	9	10	10	10	0	3	8	8	10	10
<i>A. rugosa</i>	7	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
<i>E. colombiana</i>	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
<i>G. macrocarpum</i>	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
Total de espécies	2-3	3-4	4-5	4	4-5	4	3-4	4	4-5	5	5	5	3	3-4	3-4	3-4	4	4

* números de 0 a 10 representam o número de espécies de plantas onde a presença do fungo foi positiva.

** (-) não inoculado

presente em 100% das plantas, em todas as demais épocas avaliadas, demonstrando alta capacidade infectiva em relação a *G. margarita* (Tab. 5). As espécies autóctones *E. colombiana* e *G. macrocarpum* foram as mais infectivas, estando presentes em todos os tratamentos e épocas avaliadas (Tab. 4 e 5). *A. rugosa* apresentou o mesmo padrão que estas espécies no substrato antes e após os cultivos, nos tratamentos controle e inoculado com *G. clarum*. A inoculação de *G. margarita* reduziu a capacidade infectiva da *A. rugosa* após o cultivo do sorgo, milho e da soja perene. Estes resultados confirmam o efeito deletério da inoculação da *G. margarita* sobre *A. rugosa* após o cultivo do sorgo e do milho (Tab. 3 e 5) e demonstram que a capacidade infectiva desta espécie não está ligada à densidade de esporos na amostra, visto que a maior densidade de esporos de *A. rugosa* foi obtida após o cultivo do sorgo e do milho inoculado com *G. margarita* (Tab. 3). Por outro lado, a inoculação de *G. margarita* aumentou a capacidade infectiva da *A. appendicula* em relação aos demais tratamentos de inoculação (Tab. 5) e a amostra inicial (Tab. 4). Nos tratamentos onde *G. clarum* foi inoculado, a capacidade infectiva de *A.*

appendicula foi menor, evidenciando possível efeito negativo da introdução de *G. clarum* sobre esta espécie.

O conhecimento das interações positivas e negativas entre macro e microssimbiontes pode contribuir para a introdução e/ou manejo direcionado da população de fungos em agroecossistemas, de forma a estimular populações de espécies mais efetivas para plantas de interesse econômico e reduzir aquelas pouco eficientes (Sieverding 1991; De-Souza *et al.* 1999). Neste sentido, o isolamento e a avaliação da efetividade de populações de FMA autóctones para culturas-alvo é fundamental, bem como o desenvolvimento e a validação de métodos para estudo da ecologia de Glomales. Neste sentido, o emprego do bioensaio da capacidade infectiva permitiu avaliar o comportamento dos FMA introduzidos e autóctones. Este trabalho é o primeiro a empregar esta técnica para avaliar o estabelecimento de fungos introduzidos. O bioensaio da capacidade infectiva é uma técnica simples e fornece resultados que permitem avaliar o comportamento e a interação entre espécies de FMA, facilitando ainda o isolamento e a identificação de fungos, pois funciona como planta-armadilha, permitindo a obtenção de

grande número de esporos.

A análise conjunta dos dois experimentos evidenciou que a densidade de propágulos não tem relação com a capacidade infectiva. Apesar da diferença de densidade de propágulos entre os inóculos de *G. margarita* e *G. clarum* utilizados, *G. margarita* apresentou maior densidade de esporos após o cultivo das plantas testadas (Tab. 3) do que *G. clarum*. Sabe-se que esporos de *G. margarita* germinam entre dois a quatro dias e produzem grande quantidade de micélio (Paula & Siqueira 1990), enquanto os esporos de *G. clarum* levam mais tempo para germinar (De-Souza & Berbara 1999) e produzem menor quantidade de micélio (Paula *et al.* 1994). No entanto, a capacidade infectiva da *G. margarita* foi muito baixa em relação à de *G. clarum*, que obteve resultado semelhante ao das espécies autóctones mais infectivas em 70% das plantas testadas, após a primeira semana, e em 100%, após a segunda.

A inoculação localizada favorece a introdução de organismos selecionados. No entanto, se o organismo introduzido não apresentar competitividade frente aos organismos autóctones, pode desaparecer em pouco tempo, necessitando ser reintroduzido, o que pode ser inviável técnica e economicamente. Para a condição avaliada, o isolado de *G. margarita* não apresentou boa capacidade infectiva, o que pode restringir os benefícios na planta inoculada e contribuir para o desaparecimento deste fungo após algumas gerações.

O isolado de *G. clarum* apresentou alta capacidade infectiva e pode competir com a comunidade de fungos autóctones, que apresenta um número total de esporos por vaso 5,4 vezes maior do que a quantidade inoculada. Para o solo estudado, que é dominante no Estado do Rio de Janeiro, os resultados obtidos justificam o emprego do isolado *G. clarum* (CNPAB 005) na produção de inoculantes comerciais, visando a inoculação de plantas que sejam beneficiadas por este fungo.

Agradecimentos

À Embrapa Agrobiologia pelo auxílio financeiro (SEP n. 01.0.96.032 e 11.0.96.041) e pela permissão de uso de suas instalações; à CAPES e ao CNPq, pela concessão de bolsas de estudo, respectivamente, ao primeiro, o segundo e o terceiro autores. Ao técnico Itamar Garcia Ignácio, pela produção dos inoculantes de FMA empregados neste estudo.

Referências bibliográficas

- Bentivenga, S. P. & Morton, J. B. 1995. A monograph of the genus *Gigaspora*, incorporating developmental patterns of morphological characters. *Mycologia* **87**: 719-731.
- Balota, E. L. & Lopes, E. S. 1996. Introdução de fungo micorrízico arbuscular no cafeeiro em condições de campo: I. Persistência e interação com espécies nativas. *Revista Brasileira de Ciência do Solo* **20**: 217-223.
- Barbosa, L. M. & Silva, M. R. O. 1991. Estudos quali-quantitativos da ocorrência de fungos micorrízicos vesículo-arbusculares (MVA) na cultura do amendoimzeiro (*Arachis hypogaea* L.) sob competição. *Hoehnea* **18**: 189-200.
- Brasil. 1983. Geografia, geomorfologia, pedologia, vegetação e uso potencial da terra. Pp. 780. **Projeto RADAM Brasil**. Ministério das Minas e Energia. Secretaria Geral. Folha SF 23/24. Rio de Janeiro/Vitória, Rio de Janeiro.
- Brundrett, M.; Melville, L. & Peterson, L. 1994. Isolating and propagating glomalean fungi. Pp. 71-80. In: **Practical methods in mycorrhiza research**. Mycologue Publications, Guelph, Canada.
- Clapp, J. P.; Young, J. P. W.; Merryweather, J. W. & Fitter, A. H. 1995. Diversity of fungal symbionts in arbuscular mycorrhizas from a natural community. *New Phytologist* **130**: 259-265.
- Daniels, B. A. & Skipper, H. D. 1982. Methods for the recovery and quantitative estimation of propagules from soil. Pp.29-35. In: N. C. Schenck (Ed.), **Methods and principles of mycorrhizal research**. American Phytopathological Society, St. Louis.
- De-Souza, F. A. & Berbara, R. L. L. 1999. Ontogeny of *Glomus clarum* in Ri T-DNA transformed roots. *Mycologia* **91**: 343-350.

- De-Souza, F. A. & Silva, E. M. R. 1996. Micorrizas arbusculares na revegetação de áreas degradadas. Pp. 255-290. In: J. O. Siqueira (Ed.), **Avanços em fundamentos e aplicação de micorrizas**. Universidade Federal de Lavras, DCS/DCF, Lavras.
- De-Souza, F. A.; Trufem, S. F. B.; Almeida, D. L.; Silva, E. M. R. & Guerra, J. G. M. (1999). Efeito de pré-cultivos sobre o potencial de inóculo de fungos micorrízicos arbusculares e produção da mandioca. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** 34: 1913-1923.
- EMBRAPA. 1979. **Manual de métodos de análise de solo**. Serviço Nacional de Levantamento e Conservação de Solos. SNLCS, Rio de Janeiro.
- Espíndola, J. A. A.; Almeida, D. L.; Guerra, J. G. M.; Silva, E. M. R. & De-Souza, F. A. 1998. Influência da adubação verde sobre a simbiose micorrízica e a produção de batata-doce. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** 33: 339-347.
- Fernandes, A. B. & Siqueira, J. O. 1989. Micorrizas vesículo-arbusculares em cafeeiros da Região Sul do Estado de Minas Gerais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** 24: 1489-1498.
- Franco, A. A.; Campello, E. F. C.; Dias, L. E. & Faria, S. M. 1994. Revegetation of acidic residues from bauxite mining using nodulated and mycorrhizal legume trees. Pp. 313-320. In: **Proceedings nitrogen fixing trees for acid soil**. Turrialba, Costa Rica.
- Franco, A. A. & Faria, S. M. 1997. The contribution of N_2 -fixing tree legumes to land reclamation and sustainability in the tropics. **Soil Biology and Biochemistry** 29: 897-903.
- Gerdemann, J. W. & Nicolson, T. H. 1963. Spores of mycorrhizal *Endogone* species extracted from soil by wet-sieving and decanting. **Transactions of the British Mycological Society** 46: 235-244.
- Giovannetti, M. & Mosse, B. 1980. An evaluation of techniques for measuring vesicular arbuscular mycorrhizal infection in roots. **New Phytologist** 84: 489-500.
- Grandi, R. A. P. & Trufem, S. F. B. 1991. Fungos micorrízicos vesículo-arbusculares em Marantaceae cultivadas no Instituto de Botânica, São Paulo, SP. **Revista Brasileira de Botânica** 14: 89-95.
- Gravina, G. A. 1998. **Densidade de propágulos infectivos e capacidade infectiva de fungos micorrízicos arbusculares (FMA), em solo sob leguminosas herbáceas perenes**. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica.
- Hoagland, D. R. & Arnon, D. I. 1938. The water culture method of growing plants without soil. **Circular n. 347**. Agricultural Experimental Station, California.
- INVAM 1998. International Culture Collection of Vesicular and Arbuscular Mycorrhizal Fungi. Species Description. Morgantown, West Virginia Agriculture and Forestry Experimental Station. Home Page. [<http://invam.caf.wvu.edu>]
- Jarstfer, A. G. & Sylvia, D. M. 1995. Aeroponic culture of VAM fungi. Pp. 427-441. In: A. Varma; B. Hock (Eds.), **Mycorrhiza: structure, function, molecular biology and biotechnology**. Springer-Verlag, Berlin.
- Koske, R. E. & Gemma, J. N. 1989. A modified procedure for staining roots to detect VA mycorrhizas. **Mycological Research** 92: 488-505.
- Magurran, A. E. 1988. **Ecological diversity and its measurement**. Princenton University Press, Princenton, New Jersey.
- Maia, L. C. & Trufem, S. F. B. 1990. Fungos micorrízicos vesículo-arbusculares em solos cultivados no Estado de Pernambuco, Brasil. **Revista Brasileira de Botânica** 13: 89-95.
- Manjunath, A.; Hue, N. V. & Habte, M. 1989. Response of *Leucaena leucocephala* to vesicular-arbuscular mycorrhizal colonization and rock phosphate fertilization in an oxisol. **Plant and Soil** 114: 127-133.
- Miller, R. M. & Jastrow, J. D. 1992. The application of VA mycorrhizae to ecosystem restoration and reclamation. Pp. 438-467. In: M. A. Allen (Ed.), **Mycorrhizal functioning, an integrative plant-fungal process**. Chapman & Hall, New York.
- Miranda, J. C. C. & Miranda, L. N. 1997. Micorriza arbuscular. Pp. 67-111. In: M. A., Vargas & M., Hungria (Eds.), **Biologia dos solos dos cerrados**. Embrapa - CPAC, Planaltina.
- Melo, A. M. Y.; Maia, L. C. & Morgado, L. B. 1997. Fungos micorrízicos arbusculares em bananeiras cultivadas no vale do submédio São Francisco. **Acta Botanica Brasílica** 11: 115-121.
- Morton, J. B.; Bever, J. D. & Pflieger, F. L. 1997. Taxonomy of *Acaulospora gerdemannii* and *Glomus leptotichum*, synanamorphs of an arbuscular mycorrhizal fungus in Glomales. **Mycological Research** 101: 625-631.
- Paula, M. A. & Siqueira, J. O. 1990. Stimulation of hyphal growth of the VA mycorrhizal fungus *Gigaspora margarita* suspension-cultured *Pueraria phaseoloides* cells and cell products. **New Phytologist** 115: 69-75.
- Paula, M. A.; Siqueira, J. O. & Döbereiner, J. 1994. Crescimento micelial de fungos micorrízicos vesículo-arbusculares na presença de células vegetais e de bactérias diazotróficas *in vitro*. **Revista Brasileira de Biologia** 54: 631-639.

- Santos, A. L. 1998. **Estabelecimento de *Gigaspora margarita* e *Glomus clarum* por gramíneas e leguminosas e esporulação de fungos micorrízicos arbusculares indígenas**. Dissertação de Mes-trado. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica.
- Schenck, N. C. & Pérez, Y. 1988. **Manual for the identification of VA mycorrhizal fungi**. 2.ed. INVAM, Plant Pathology Department. Gainesville, Florida.
- Sieverding, E. 1991. **Vesicular-arbuscular mycorrhiza management in tropical agrosystems**. Eschborn, Friedland Bremer.
- Simpson, D. & Daft, M. J. 1990. Spore production and mycorrhizal development in various tropical crop host infected with *Glomus clarum*. **Plant and Soil** **121**: 171-178.
- Siqueira, J. O.; Colozzi-Filho, A. & Oliveira, E. 1989. Ocorrência de micorrizas vesículo-arbusculares em agro e ecossistemas do Estado de Minas Gerais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** **24**: 1499-1506.
- Smith, S. E. & Read, D. J. 1997. **Mycorrhizal symbiosis**. Academic Press, San Diego.
- Spain, J. L.; Sieverding, E. & Schenck, N. C. 1989. *Gigaspora ramisporophora*: a new species with novel sporophores from Brazil. **Mycotaxon** **34**: 667-677.
- Stutz, J. C. & Morton, J. B. 1996. Successive pot cultures reveal high species richness of arbuscular endomycorrhizal fungi in arid ecosystems. **Canadian Journal of Botany** **74**: 1883-1889.
- Thonson, T. E.; Manian, S. & Udaiyan, K. 1994. The effect of vesicular-arbuscular mycorrhizal exposure period on their colonization and spore production in tomato seedlings (*Lycopersicon esculentum* Mill.), and on host biomass. **Agriculture, Ecosystems and Environment** **51**: 287-292.
- Trufem, S. F. B. 1995. Aspectos ecológicos de fungos micorrízicos arbusculares na rizosfera de plantas de restinga da Ilha do Cardoso, SP, Brasil. **Revista Brasileira de Botânica** **18**(1): 51-60.
- Trufem, S. F. B.; Malatinszky, S. M. M. & Otomo, H. S. 1994. Fungos micorrízicos arbusculares em rizosferas de plantas no litoral arenoso do Parque Estadual da Ilha do Cardoso, SP, Brasil. 2. 1994. **Acta Botanica Brasilica** **8**: 219-229.
- Trufem, S. F. B. & Viriato, A. 1990. Fungos micorrízicos vesículo-arbusculares da Reserva Biológica do Alto da Serra de Paranapiacaba, São Paulo, Brasil. **Revista Brasileira de Botânica** **13**: 49-54.
- Trufem, S. F. B.; Grandi, R. A. P. & Silveira, R. B. A. 1990. Fungos micorrízicos vesículo-arbusculares em plantas ornamentais do Jardim Botânico de São Paulo, SP. **Hoehnea** **17**: 85-89.
- van der Heijden, M. G. A.; Boller, T.; Wiemken, A. & Sanders, I. R. 1998. Different arbuscular mycorrhizal fungal species are potential determinants of plant community structure. **Ecology** **79**(6): 2082-2091.