

III - FUNGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES: MUITO ALÉM DA NUTRIÇÃO

Ricardo L.L. Berbara ^{1/}, Francisco A. Souza ^{2/} & Henrique M.A.C. Fonseca ^{3/}

^{1/} Departamento de Solos, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro – UFRRJ. BR 465, km 47, Seropédica, 23890-000, Rio de Janeiro (RJ).
berbara@ufrj.br

^{2/} Embrapa Agrobiologia, Seropédica, CEP 23851-970, Itaguaí (RJ).

^{3/} Centro de Biologia Celular, Departamento de Biologia, Universidade de Aveiro, 3810-193, Aveiro, Portugal.

Conteúdo

INTRODUÇÃO	54
EVOLUÇÃO E CARACTERIZAÇÃO	55
CARACTERÍSTICAS GENÉTICAS E MORFOLÓGICAS	61
Aspectos Genéticos	61
Morfotipos	61
Hifas Extra-Radiculares	63
CLASSIFICAÇÃO E NOMENCLATURA	64
FUNGOS MA COMO DETERMINANTES DA DIVERSIDADE DE PLANTAS	68
MICORRIZAS E A DINÂMICA DO CARBONO	69
Glomalina	71
NUTRIÇÃO MINERAL	72
MANEJO DE FMA	77
CONCLUSÕES	78
LITERATURA CITADA	79

INTRODUÇÃO

“Plantas não têm raízes, elas têm micorrizas”. Essa sentença foi proferida décadas atrás por J.L. Harley com o intuito de alertar ecologistas e biólogos para o fato de que, em condições naturais, a maioria das espécies de plantas se encontra associada a determinados fungos de solo numa simbiose mutualística do tipo micorrízico, do grego mico [fungo] e riza [raiz]. Indo além das relações funcionais que se estabelecem entre plantas e esses fungos, van der Heijden et al. (1998a,b) enfatizaram que “associações micorrízicas devem sempre ser consideradas quando se busca entender a ecologia e evolução de plantas, suas comunidades e ecossistemas”. Essa consideração está baseada em experimentos que demonstram o papel dessa simbiose no resultado da competição e sucessão de plantas, bem como na hipótese de que a evolução de plantas terrestres tem sido dependente da presença dessa simbiose (van der Heijden et al., 1998a,b; Kiers et al., 2000; Klironomos et al., 2000; Cairney, 2000; Brundrett, 2002; Allen et al., 2003).

Atualmente, são reconhecidos seis tipos diferentes de associações micorrízicas, sendo algumas delas muito específicas, encontradas em apenas algumas famílias de plantas terrestres (Arbuscular-, Arbutóide-, Ericóide-, Ecto-, Monotropóide- e Orquidóide). Para detalhes sobre esses tipos, ver Siqueira (1996). Neste capítulo serão enfatizadas as micorrizas arbusculares, em particular devido a seu caráter ubíquo, seu papel vital para a sustentabilidade da agricultura em regiões tropicais e seu potencial biotecnológico, com impacto na estrutura de comunidades vegetais e no dreno de C atmosférico.

O caráter cosmopolita dessa simbiose advém de levantamentos que indicam que 80 % das famílias de plantas são formadas por espécies que formam micorrizas arbusculares (MA). Ela é encontrada em todas as latitudes e em quase todos os ecossistemas terrestres (Siqueira & Franco, 1988). A simbiose micorrízica arbuscular é a mais ancestral dentre todos os tipos de micorrizas conhecidas. Evidências fósseis indicam que as primeiras plantas terrestres já estavam colonizadas por fungos que apresentavam estruturas miceliais e esporos similares aos dos atuais fungos arbusculares (FMA) (Redecker et al., 2000b). Atualmente, a maioria das angiospermas e muitas gimnospermas pteridófitas e briófitas formam associação com FMA (Smith & Read, 1997). Além disso, é provável que eles sejam os fungos de solo mais abundantes na maioria dos ecossistemas tropicais, principalmente nos sistemas agrícolas, onde eles podem representar quase 50 % da biomassa microbiana (Olsson et al., 1999). Devido a essa ubiqüidade, essa simbiose tem sido considerada a mais importante de todas as que envolvem plantas. Essa associação é simbiótica, pelo fato de os organismos co-existirem em um mesmo ambiente físico, raiz e solo, e mutualística, porque, em geral, ambos os simbiontes se beneficiam da associação. Ela é considerada como mutualista nutricional, em que a planta supre o fungo com energia para crescimento e manutenção via produtos fotossintéticos, enquanto o fungo provê a planta com nutrientes e água. Nesse sentido, essa simbiose amplia a capacidade de absorção de nutrientes por parte do simbiote autotrófico e, conseqüentemente, a sua competitividade interespecífica e produtividade.

A sustentabilidade da produção agrícola está ligada aos efeitos benéficos das micorrizas sobre a nutrição de plantas, principalmente com relação à absorção de P, que

é um recurso natural não-renovável. Várias espécies de plantas respondem positivamente à inoculação com fungos MA, entre elas café, soja, milho, batata-doce, mandioca, cana-de-açúcar, além de várias essências florestais e frutíferas brasileiras. A contribuição dos fungos MA para a nutrição fosfatada de plantas está amplamente aceita e documentada na literatura nacional e internacional. No entanto, os serviços prestados pelo fungo vão muito além da nutrição de plantas individualizadas, pois eles também contribuem para a estruturação de comunidades vegetais. O micélio de fungos MA freqüentemente interconecta o sistema radicular de plantas vizinhas da mesma espécie ou de espécies distintas. Nesse sentido, a maioria das plantas está interligada por uma rede de hifas micorrízicas comum, durante alguma fase do seu ciclo de vida (Newman, 1988). As conseqüências dessa trama micelial para a competição interespecífica em comunidades vegetais sugerem que ela seja elemento importante na definição da sucessão vegetal, conforme ainda será discutido.

Como decorrência dessa imensa quantidade de hifas produzidas por FMA, existe significativo impacto sobre a estruturação e estabilidade de agregados em solos (Jastrow et al., 1998). Essa função é importante, porque a estruturação do solo modifica a capacidade de mobilização de nutrientes, o conteúdo de água, a penetração de raízes e o potencial erosivo dos solos. Fungos MA conferem também incrementos à resistência de plantas diante do ataque patogênico (Hwang et al., 1992), à tolerância ao estresse hídrico, à eficiência fotossintética (Brown & Bethlenfalvay, 1987) e ao intemperismo de minerais (van Breemen et al., 2000). Como conseqüência, existem evidências de que FMAs colaboram no aumento do dreno de C da atmosfera, variável importante e pouco estudada diante dos processos de mudanças climáticas (Leake et al., 2004). Essas características fazem com que a simbiose micorrízica arbuscular tenha potencial biotecnológico e ecológico imenso ainda a ser explorado.

Neste capítulo serão discutidas essas associações em um contexto mais abrangente, que ultrapassa seus impactos sobre a nutrição mineral de plantas, uma vez que, por mais importante que eles sejam, aspectos relevantes estão por ser desvendados. Considerações básicas são também abordadas, de forma que possibilitem a leitura por um público mais amplo.

EVOLUÇÃO E CARACTERIZAÇÃO

Fungos MA, sem exceção, são simbioses obrigatórios; eles dependem da simbiose com plantas compatíveis para sua multiplicação. Além disso, não existem evidências comprovadas que indiquem que esses fungos se reproduzam sexualmente. Até recentemente, sugeria-se que estes fungos vinham se multiplicando clonalmente, de forma puramente assexuada, por centenas de milhões de anos (Rosendahl et al., 1997; Sanders, 2002). No entanto, sabe-se que organismos que se multiplicam clonalmente por longos períodos de tempo tendem rapidamente à extinção devido à acumulação de mutações deletérias originadas durante o crescimento somático e à incapacidade de eliminá-las e de gerar variabilidade genética, características fundamentais para a adaptação a

mudanças do ambiente. Recentemente, evidências de recombinação em fungos MA têm sido observadas pela análise de seqüências de DNA, indicando que esses fungos desenvolveram mecanismos de evolução que ainda necessitam de elucidação (ver caracterização molecular).

Quanto à origem dessa simbiose, sabe-se, pelo estudo de fósseis, que o surgimento das plantas na superfície terrestre ocorreu entre 460 e 500 milhões de anos (Figura 1), enquanto a divisão Glomeromycota (que contém todos os fungos MA) já era encontrada há 600 milhões de anos. A simbiose com plantas superiores já está perfeitamente registrada em fósseis do Ordoviciano (Redecker et al., 2000a) (há 450 milhões de anos). Especula-se, portanto, que esses fungos foram fundamentais para a conquista de ambientes terrestres pelas plantas (Simon et al., 1993b; Simon, 1996). A presença de MA em plantas primitivas (entendidas como plantas não-vasculares) sugere a possibilidade de essa associação ter evoluído de ambientes aquáticos, uma vez que as primeiras plantas terrestres encontraram um ambiente inóspito para seu desenvolvimento, ressecado e infértil (Pirozynski & Malloch, 1975). Além disso, suas raízes eram desprovidas de pêlos radiculares ou ramificações. Eram estruturas similares a rizóides, sem tecidos vasculares, semelhantes aos encontrados em briófitas e hepáticas (Malloch et al., 1980; Raven & Edwards, 2001). Assim, como essas plantas poderiam absorver nutrientes (principalmente P) e evoluir de ambientes onde esses elementos eram mobilizados facilmente (aquáticos), sem o auxílio da simbiose? Portanto, apesar de a origem da associação ser ainda matéria em debate, não se discute o papel central dessa relação mutualista na ecologia e evolução de espécies vegetais.

Outra hipótese aceita para o surgimento da simbiose micorrízica vem da relação mutualística observada entre fungos e cianobactérias. A endossimbiose formada entre o fungo *Geosiphon pyriformis* e cianobactérias tem sido apontada como uma das possíveis origens da simbiose micorrízica, principalmente porque este fungo apresenta morfologia, estrutura e função próximas às dos fungos MA, inclusive quanto ao fornecimento de P e ao papel regulador deste elemento sobre a simbiose. Ademais, a filogenia molecular

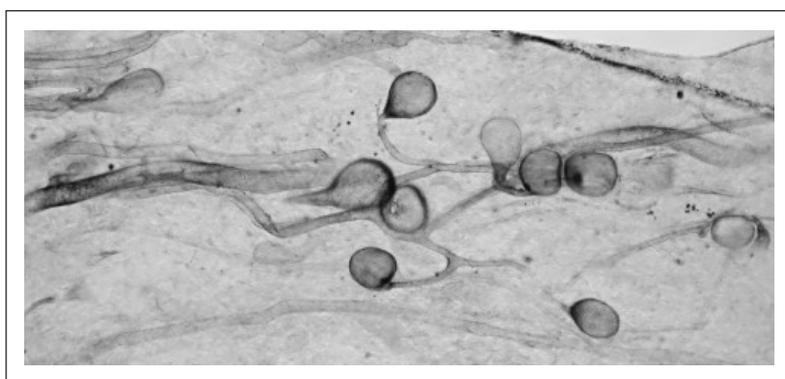


Figura 1. Fóssil de fungo micorrízico, indicando suas vesículas, associado simbioticamente a *Aglaophyton*, *Rhynia* e *Nothia*, plantas vasculares. As vesículas provavelmente se desenvolviam em esporângias.

Fonte: da página: <http://www.xs4all.nl/~steurh/engrhyn/eglomit2.html>.

confirma a relação evolutiva entre esses simbiotes (Schüßler et al., 2001). Infelizmente, não são conhecidas evidências fósseis dessa relação, e os únicos representantes conhecidos dessa simbiose foram encontrados em poucas localidades na Europa (Áustria e Alemanha). Atualmente, *G. pyriformis* é o único fungo conhecido capaz de formar simbiose com cianobactérias. Essas observações, portanto, permitem expandir o interesse da simbiose micorrízica para além das plantas vasculares e briófitas (Schüßler et al., 1996).

A relação micorrízica é expressão de um evento mutuamente benéfico: plantas suprem o fungo com compostos com C (fixado via processos fotossintéticos pelo simbionte autotrófico), enquanto fungos provêm as plantas de nutrientes (Moreira & Siqueira, 2002). A simbiose é possível graças ao fato de o fungo produzir hifas intra e extra-radulares capazes de absorver elementos minerais do solo e transferi-los ao ambiente radicular, onde são absorvidos. No espaço intra-radicular, a troca bidirecional ocorre principalmente em uma estrutura presente no córtex radicular, similar a um haustório excessivamente ramificado, os arbúsculos. Arbúsculos são estruturas formadas pela interação de hifas de fungos MA 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). Após penetrar a parede celular, a hifa se torna extremamente fina, com diâmetro menor que 1 μm , que se ramifica profusamente, formando uma matriz de troca com a plasmalema da célula vegetal sem, entretanto, ultrapassá-la. Como consequência, aumenta-se maciçamente a superfície de contato entre as membranas dos simbiotes, permitindo eficiente troca de sinais, nutrientes e compostos orgânicos entre a planta e o fungo.

Hifas extra-radulares, por sua vez, são mais eficientes que raízes na captura de nutrientes, por serem estruturas extremamente longas e finas (Figura 2). Em associações arbusculares, hifas podem se estender a vários dm 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). Portanto, hifas são capazes de absorver os elementos minerais, como uma raiz, mas de maneira mais eficiente (Figura 3).

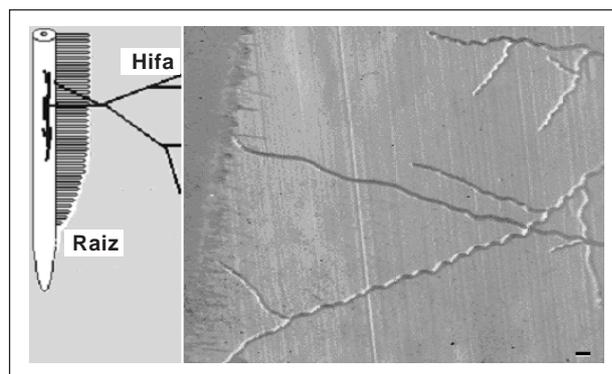


Figura 2. Fotografia e diagrama de hifas extra-radulares penetrando em raiz de trevo. Note a dimensão da hifa em relação ao pêlo radicular. Barra 1 mm.

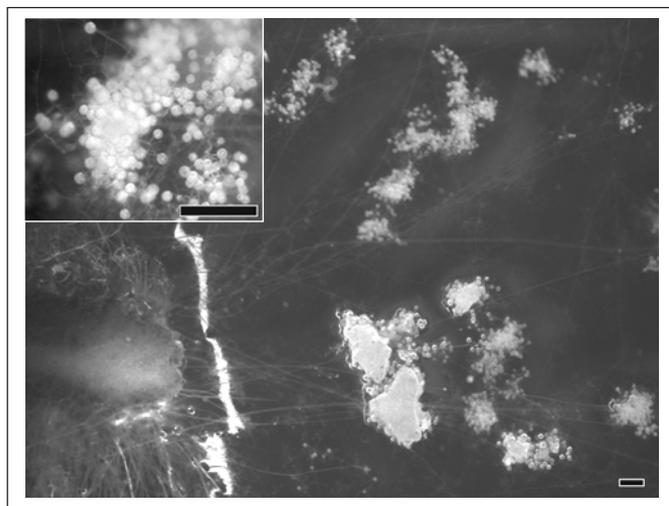


Figura 3. Cultura em placa de Petri de *Lunularia cruciata* (L.) Lindb. em simbiose com *Glomus proliferum* Dalpé & Declerck. Vista inferior do talo da hepática, mostrando extensa proliferação de hifas e esporos (ver detalhe no canto superior esquerdo). Barras 50 μ m.

Fonte: Fotografia de Fonseca & Berbara, não publicada.

Quanto aos mecanismos de absorção e mobilização de nutrientes, da mesma forma, FMAs são ainda mais eficientes que raízes. Quando se adiciona ^{32}P em meio contendo fungos micorrízicos, percebe-se que todo Pi é em geral absorvido por hifas (Nielsen et al., 2002). O transporte para as raízes, entretanto, não é total, pelo fato de o movimento bidirecional observado em hifas permitir seu deslocamento para drenos do próprio fungo. Neste estudo, a maior quantidade de Pi transportada à raiz correlacionou-se não com o comprimento da hifa, mas com o seu número total (Bago et al., 2000).

Como FMAs dependem do hospedeiro para sua própria existência, não há dúvida da importância central da simbiose para fungos micorrízicos. A condição de simbiote obrigatório advém do fato de que, ao longo de sua evolução, esses organismos perderam sua capacidade de fixar C, passando a depender exclusivamente do hospedeiro autotrófico como fonte de compostos orgânicos (Gadkar et al., 2001). No caso das plantas, no entanto, existe uma faixa grande de resposta à simbiose. Espécies vegetais têm sido classificadas quanto à dependência micorrízica em facultativas, obrigatórias ou não-micorrízicas (Smith & Read, 1997).

O caráter facultativo pode ser observado em condições de solo com alta disponibilidade de nutrientes, em que plantas não necessitam de FMA. Nessas condições, a simbiose é inibida por meio de mecanismos genéticos controlados pela planta (Lambais & Mehdy, 1998; Lambais, 2000; Lambais et al., 2003). Neste caso, o hospedeiro perde C para o micobionte de maneira desnecessária. Como exemplo, pode-se mencionar *Brachiaria decumbens*, a qual é adaptada a solos com baixos teores de nutrientes disponíveis. Esta espécie tem um sistema radicular bem desenvolvido; contudo, não é suficiente o bastante para absorver Pi em condições de baixa disponibilidade, comuns em solos brasileiros (Figura 4). Espécies facultativas usualmente se beneficiam da simbiose apenas em situações nas quais a fertilidade é baixa. Elas, em geral, apresentam um sistema radicular bem desenvolvido e alta taxa de crescimento, caso típico de gramíneas.



Figura 4. Resposta de uma espécie micorrízica facultativa – a gramínea forrageira *Brachiaria decumbens* – à inoculação com *Glomus clarum* CNPAB5 em solo sem adição de fertilizante fosfatado. Vasos da esquerda estão inoculados, e os da direita, não inoculados.

Fonte: Francisco A. Souza, não publicado.

Outras espécies vegetais desenvolvem, obrigatoriamente, simbiose com MA para poderem completar seu ciclo (Amijee et al., 1993; Peng et al., 1993; Johnson et al., 1997). Plantas micorrízicas obrigatórias não crescem na ausência de fungos MA em solos com teores frequentes de disponibilidade de nutrientes. Como exemplo, tem-se a leguminosa arbórea nativa da região amazônica, taxi-dos-campos (*Sclerolobium paniculatum*) (Figura 5). Essa característica é encontrada, com frequência, em espécies nativas de solos de baixa fertilidade natural, como em boa parte dos solos brasileiros (Siqueira & Saggin-Junior, 2001). Nestes solos, demonstrou-se que inúmeras espécies vegetais são incapazes de absorver P na ausência da MA, como mandioca e batata-doce (Sieverding, 1991; Paula et al., 1992).

Plantas que não desenvolvem MA apresentam sistema radicular bem desenvolvido, com muitas raízes finas e pêlos radiculares. Apesar disso, são plantas ruderais que se desenvolvem, em geral, em solos com altos teores de nutrientes disponíveis, apresentando baixa competitividade em solos pobres em P. A colonização nessas plantas é inibida devido à incompatibilidade genética, que impede o fungo de ultrapassar as primeiras camadas radiculares. Hifas chegam a produzir haustórios para ultrapassar a epiderme, o que não conseguem (Allen et al., 1989). Provavelmente, existem dificuldades estruturais, ou defesas químicas, que impedem a colonização, uma vez que o fungo consegue produzir haustórios. Como exemplo, podem-se mencionar as famílias Juncaceae, Caryophyllaceae e Brassicaceae.

É importante mencionar que a dependência micorrízica de uma planta varia com a espécie de fungo inoculada; para uma mesma planta, a resposta pode variar desde levemente negativa até altamente positiva (Sieverding, 1991). Assim, por parte do simbionte autotrófico, existem exceções quanto ao mutualismo da simbiose. Portanto, *stricto sensu*, micorrizas são associações simbióticas, porém nem todas mutualistas. A

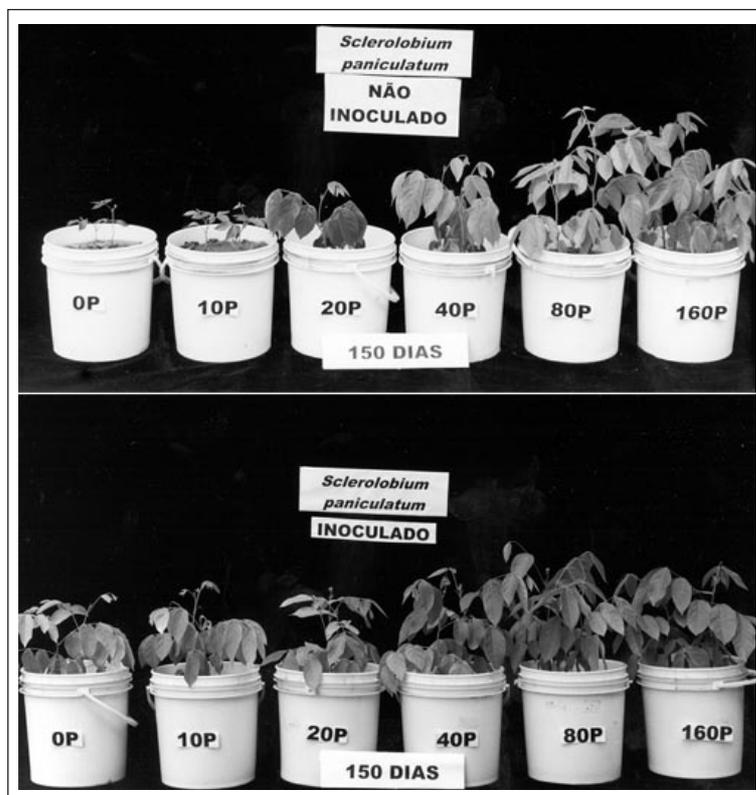


Figura 5. Resposta de uma espécie micorrízica obrigatória – a leguminosa arbórea taxi-dos-campos (*Sclerobium paniculatum*) – à inoculação com o fungo *Glomus clarum* CNPAB5 em diferentes doses de adubação com P (mg dm^{-3}). No painel superior, plantas não-inoculadas, e no inferior, plantas inoculadas. Esta leguminosa apenas se desenvolve na ausência de fungos MA quando a disponibilidade de P é alta, o que não ocorre naturalmente nos solos da região amazônica.

Fonte: Teles, Souza e Faria, não publicado.

dinâmica entre mutualismo e parasitismo na simbiose micorrízica, por sinal, tem sido apontada como um dos mecanismos que facilitam a coexistência de plantas e a diversidade florística em ecossistemas naturais (van der Heijden et al., 1998a,b; van der Heijden & Kuyper, 2003). Como resultado desses múltiplos níveis de dependência da planta ao fungo micorrízico, a associação acaba por influenciar a estrutura da paisagem, sendo um dos componentes definidores da diversidade de espécies vegetais e da produtividade primária. Inversamente, plantas influenciam a diversidade e abundância da comunidade FMA. Modificações ambientais, como na fertilidade, em especial na oferta de N, também alteram a estrutura da comunidade de fungos micorrízicos (e plantas), induzindo a predominância de espécies cujos esporos apresentam pequenas dimensões, como os *Glomus*, assim como a redução da abundância e riqueza de espécies. Dessa forma, a estrutura da comunidade FMA é um importante indicador da qualidade ambiental, bem como de alterações climáticas, como as causadas por precipitações ácidas e ricas em óxidos de N (Jeffries & Barea 2001; Corkidi et al., 2002). Esse tema será novamente abordado no item Fungos MA como Determinantes da Diversidade de Plantas.

CARACTERÍSTICAS GENÉTICAS E MORFOLÓGICAS

Aspectos Genéticos

Como já mencionado, FMAs só completam seu ciclo de vida quando associados a plantas compatíveis. Essa característica é esperada em simbioses altamente evoluídas. Provavelmente esses fungos seguem um ciclo reprodutivo assexual (Rosendahl & Taylor, 1997), formando esporos grandes, em relação a outros grupos de fungos, variando de 22 a 1.050 μm em diâmetro (Perez & Schenck, 1990). Os esporos são multinucleados e podem apresentar centenas a milhares de núcleos. Evidências moleculares indicam que o fungo é haplóide, havendo controvérsias sobre o seu caráter homo ou heterocariótico (Hijri & Sanders, 2004; Pawlowska & Taylor, 2004; Hijri & Sanders, 2005). Ambas as situações podem ser esperadas se o fungo seguir um ciclo parassexual de recombinação.

O ciclo parassexual é caracterizado pela ocorrência de anastomose seguida de troca de núcleos entre fungos geneticamente distintos, mas que apresentem compatibilidade vegetativa. Esse processo resulta em um micélio contendo núcleos geneticamente distintos (heterocariótico). No entanto, a heterocariose é uma condição instável em que, em geral, núcleos diferentes se fundem, formando um núcleo diplóide, o qual, para retornar à condição haplóide, deve sofrer perdas cromossômicas (Scharidl & Craven, 2003). Recentemente, evidências da ocorrência de recombinação parassexual em fungos do gênero *Gigaspora* foram encontradas (Souza et al., 2005a). Além disso, outros estudos de recombinação já tinham sido relatados (Pawlowska & Taylor, 2004), indicando que estes fungos, apesar de se multiplicarem clonalmente, desenvolveram mecanismos de recombinação que operam durante o crescimento somático. A elucidação desses mecanismos é de fundamental importância para que se possa compreender processos de evolução, especiação e adaptação desses fungos.

Recentemente, foram caracterizados o tamanho, a complexidade e a ploidia do genoma de três espécies de fungos MA: *Glomus intraradices*, *Glomus etunicatum* e *Scutellospora castanea* (Hijri & Sanders, 2004, 2005). Todas as espécies estudadas apresentaram condição haplóide e o tamanho aproximado do genoma foi, respectivamente, de 17, 37 e 795 Mbases (Mb). A grande diferença entre o tamanho do genoma das espécies de *Glomus* e o de *Scutellospora castanea* se deve a uma grande quantidade de seqüências repetidas: 58 % do genoma, em contraste com 1,6 % em *G. intraradices*. O genoma do fungo *G. intraradices* está sendo seqüenciado; resultados preliminares indicam que o fungo apresenta aproximadamente 30 % de conteúdo de guaninas e citosinas (GC) e presença de pequenos "introns" entre genes (Shachar-Hill - comunicação pessoal).

Morfotipos

O micélio dos fungos micorrízicos é dimórfico e não-septado, ou coenocítico (Perez & Schenck, 1990). Os septos indicam que o micélio está senescente. Apesar de cerca de 80 % das plantas superiores formarem simbiose com MA, as associações se distinguem morfológicamente em apenas dois tipos: o *Paris* e o *Arum*. Estes termos advêm do fato de

o primeiro grupo ter sido reconhecido há cerca de 100 anos na espécie vegetal *Paris quadrifolia*, e o segundo, em *Arum maculatum* (Dickson, 2004). No tipo *Arum*, as hifas crescem *intercelularmente*, de maneira linear e longitudinal ao longo do espaço cortical, formando estruturas finas e muito ramificadas nas células – os arbúsculos (Figura 6). No tipo *Paris*, hifas mais grossas enovelam-se intracelularmente, desenvolvendo hifas arbusculares (Figura 7). As estruturas arbusculares são similares para ambos os morfotipos, enquanto, funcionalmente, sugere-se que em hifas enoveladas também possa ocorrer deslocamento de fosfato para o hospedeiro. Ao que parece, essas estruturas são definidas pela planta (Gerdeman, 1965; Bedini et al., 2000; Ahulu et al., 2005; van Aarle et al., 2005), apesar de Cavagnaro et al. (2001) terem observado na mesma espécie vegetal, colonizada por seis diferentes espécies de FMA, arbúsculos tanto do tipo *Arum* como *Paris*.

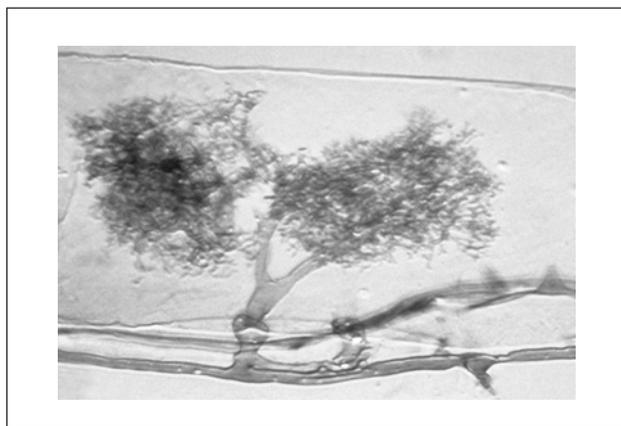


Figura 6. Colonização tipo *Arum*: hifas se desenvolvem *intercelularmente*, de maneira linear e longitudinal ao longo do espaço cortical, formando estruturas finas e muito ramificadas nas células – os arbúsculos.

Fonte: Fotografia gentilmente cedida pelo Dr. Larry R. Peterson, University of Guelph, Canadá.

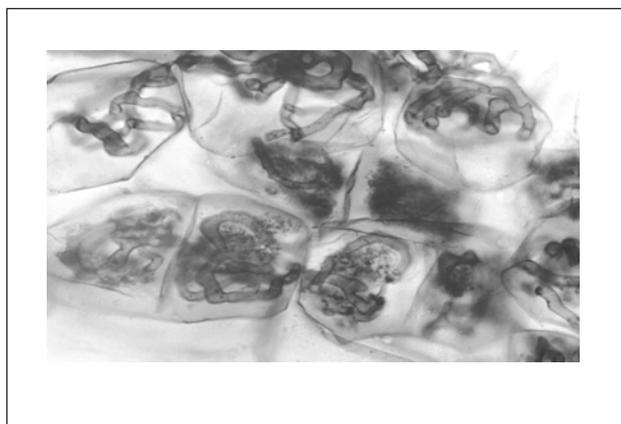


Figura 7. Colonização micorrízica tipo *Paris*: hifas mais grossas enovelam-se intracelularmente.

Fonte: Fotografia gentilmente cedida pelo Dr. Larry R. Peterson, University of Guelph, Canadá.

Diversos levantamentos têm registrado que espécies anuais e a maioria das perenes apresentam morfotipo *Arum*, como no extenso levantamento realizado por Santos et al. (2000) com monocotiledôneas da Região Nordeste do Brasil. Sugere-se, portanto, que este tipo esteja mais presente em espécies vegetais de rápido crescimento, pelo fato de essas plantas apresentarem taxas de crescimento e de colonização micorrízicas mais altas (Brundrett & Kendrick, 1990). Assim, FMAs seriam capazes de acompanhar o crescimento das raízes com elevado custo energético. Plantas com taxa de crescimento menor apresentariam a predominância do morfotipo *Paris*, apesar de Breuninger et al. (2000) terem encontrado em *Araucaria angustifolia* o morfotipo *Arum*. Existem espécies intermediárias, que apresentam os dois tipos, conforme relatado em *Anandenantera peregrina*, o angico-do-cerrado (Gross et al., 2004). O mais provável é que ocorra um *continuum* nas estruturas fúngicas de *Arum* para *Paris* em uma mesma planta (Dickson, 2004). Como pouco se conhece sobre os aspectos funcionais envolvidos em ambos os tipos, sugere-se que em estudos de identificação da colonização tente-se, para futuras referências, determinar o morfotipo do fungo e não apenas a presença ou ausência da simbiose, ao longo dos estádios sucessionais do hospedeiro (Figura 8).

Hifas Extra-Radiculares

O comprimento de hifas extra-radiculares é expresso por unidade de massa ou volume do solo, ou ainda por unidade de comprimento de raiz colonizada. A extensão e o impacto das FMAs sobre o volume do solo variam, principalmente, com as características radiculares e de textura do solo; raízes mais finas tendem a induzir maiores comprimentos de hifa (Figura 6). Por exemplo, em raízes de *Lolium perene* (monocotiledônea com raízes fibrosas e níveis elevados de colonização micorrízica),

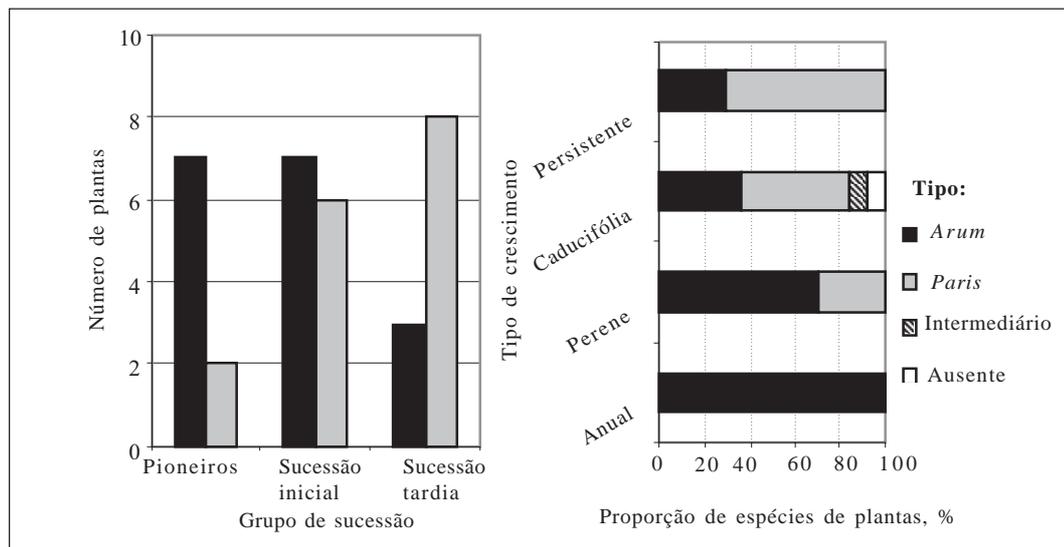


Figura 8. Diagrama sugerindo a distribuição dos morfotipos de FMA entre tipos de espécies vegetais e sua sucessão.

Fonte: de acordo com Ahlu et al. (2005).

observaram-se 14 m de hifas por m de FMA por g solo, mas apenas 1 m de hifas por m de raiz colonizada. Por sua vez, raízes de *Trifolium repens* (leguminosa-trevo, com raízes bem mais grossas) induziram a produção de 3 m de hifas por g de solo e 46 m de hifas por m de raiz colonizada (Tisdall & Oades, 1979). Normalmente, em condições de campo, observam-se maiores valores de hifas em solos sob pastagem bem conduzidas, onde a perturbação é mínima e o solo está coberto permanentemente.

Para fungos ectomicorrízicos, devido às dificuldades em distinguir suas hifas das de fungos saprofitos, os resultados obtidos são incertos, variando de 30-8.000 m de hifas por m de raiz ou 3-600 de hifas por g de solo. Finlay & Soderstrom (1989) encontraram, a partir de correlações entre micomassa e respiração, valores de 200 m g⁻¹ no solo sob floresta de coníferas, o que é um valor médio em relação aos determinados em microcosmos (Leake et al., 2001). De qualquer forma, pelas características do fungo ectomicorrízico, que graças à sua exuberante micomassa desloca maiores quantidades de C da planta que FMA, os valores devem ser superiores aos encontrados para FMA.

CLASSIFICAÇÃO E NOMENCLATURA

A taxonomia dos fungos micorrízicos vem sendo alterada significativamente. Gerdemann & Trappe (1974) propuseram a primeira classificação dos fungos MA. Esses pesquisadores utilizaram características morfológicas para agrupá-los na ordem Endogonales (Zigomicota), gênero *Endogone*. Posteriormente, Morton & Benny (1990) utilizaram cladística para analisar características morfológicas e formular uma nova

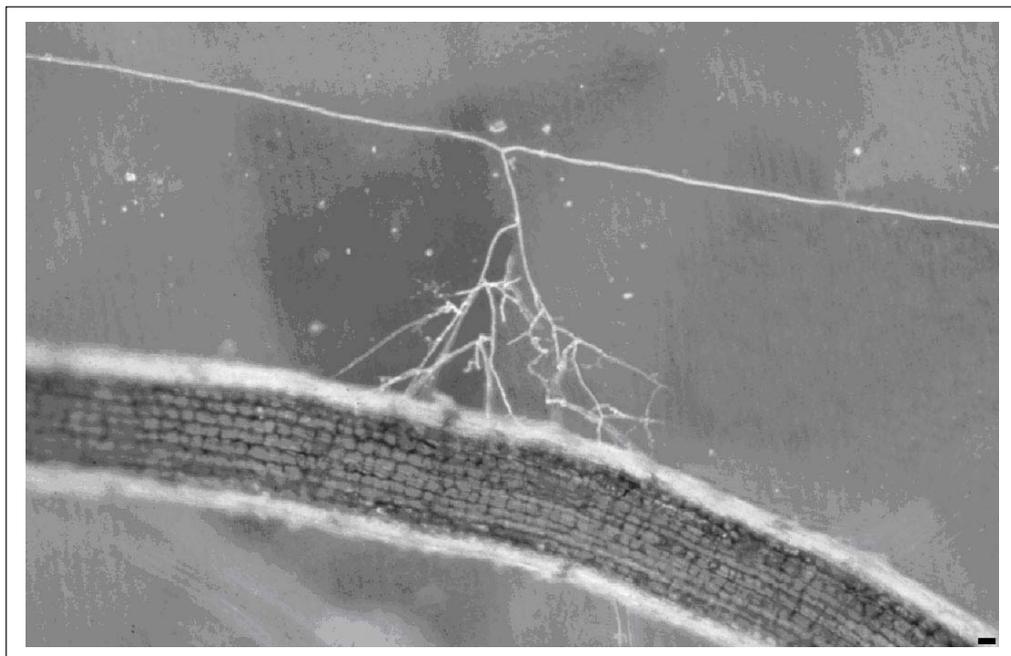


Figura 9. Raiz de *Trifolium repens* colonizada por *Gigaspora margarita*. Barra 250 μ m.

Fonte: Fotografia de Souza, não publicada.

classificação, em que os fungos MA foram reclassificados em uma nova ordem, chamada Glomales, composta por duas subordens: Glominea e Gigasporineae. Esta ordem excluía o gênero *Endogone*, que forma ectomicorrizas. No entanto, o filo Zigomicota não refletia adequadamente a filogenia dos fungos MA. Em 1998, Cavalier-Smith (1998) criou a classe Glomeromicetos para englobar os fungos MA dentro do filo Zigomicota. Morton (1999) lançou uma hipótese segundo a qual os fungos MA teriam uma origem polifilética, contrariando evidências moleculares, que indicavam claramente que os fungos MA constituíam um grupo monofilético e que Acaulosporaceae era filogeneticamente próxima da família Gigasporaceae e não de Glomeraceae (Simon et al., 1993a; Simon, 1996).

Morton (1999), com base na análise filogenética de seqüência de DNA da subunidade menor do gene ribossomal (SSU rDNA), verificou que seqüências pertencentes a espécies do gênero *Sclerocystes* se agrupavam com espécies de *Glomus*. Esse autor reclassificou então todas as espécies descritas como *Sclerocystes* para o gênero *Glomus*. A seguir, Morton & Redecker (2001) propuseram duas novas famílias (Paraglomeraceae e Archaeosporaceae e seus respectivos gêneros *Paraglomus* e *Archeospora*) com base em caracteres morfológicos e moleculares (SSU rDNA). Estas famílias são consideradas linhagens ancestrais dos fungos MA. No mesmo ano, Schwarzott et al. (2001) propuseram, com base na análise filogenética de seqüência do SSU rDNA, a polifilia do gênero *Glomus*, o gênero com maior número de espécies descritas. Esses autores agruparam as espécies do gênero *Glomus* em três grupos, denominados A, B e C. Espécies no grupo C foram posteriormente reclassificadas para o gênero *Diversispora* (Walker et al., 2004). Ainda em 2001, Schüßler et al. (2001) propuseram, com base na análise filogenética de seqüência SSU rDNA, a criação do filo Glomeromicota, o qual agrupa todos os fungos MA e o fungo *Geosiphon pyriformis* (Quadro 1). Essa análise confirma que os fungos MA formam um grupo monofilético e sugere que estes fungos compartilham o mesmo ancestral que os Basidiomicetos e Ascomicetos, e não com Zigomicota, que forma um grupamento artificial.

Recentemente, a família Pacisporaceae e o gênero *Pacispora* foram propostos (Oehl & Sieverding, 2004) com base em uma nova descrição da espécie *Glomus scinthillans* e na descoberta de novas espécies com características morfológicas similares (Walker et al., 2004), com aspectos de Glomoides (vesículas e hifa de sustentação) e com características encontradas em Acaulosporaceae e *Scutellospora* (paredes internas flexíveis e escudo de germinação ou orbe). Essas evidências morfológicas fortaleceram a criação da ordem Diversisporales, que foi criada exclusivamente com base na análise filogenética do SSU rDNA. Ela indica que características ligadas à presença de paredes flexíveis e estrutura de germinação com formação de escudo ou orbe são homólogas entre *Pacispora*, Acaulosporaceae (*Acaulospora* e *Entrophospora*) e *Scutellospora*. Buscando evidências, Souza et al. (2005b) fizeram uma avaliação filogenética do gênero *Scutellospora*, comparando resultados da análise filogenética baseada em seqüências do SSU rDNA com a análise morfológica baseada no padrão de desenvolvimento ontogênico de esporos. A análise indicou que, para algumas espécies, o padrão morfológico não coincide com o molecular, ou seja, espécies com padrão de paredes similares se agruparam separadamente na análise molecular. Esse resultado sugere que, apesar de essas características morfológicas serem úteis para diferenciar espécies, os agrupamentos feitos com base nesses critérios podem não ser adequados para reconstruir a filogenia deste grupo.

Quadro 1. Ordens, famílias e gêneros pertencentes à divisão Glomeromycota e distribuição de espécies por gênero

Ordem	Família	Gêneros	Número de espécies descritas ⁽¹⁾
Diversisporales	Diversisporaceae	<i>Diversispora</i>	3
	Gigasporaceae	<i>Gigaspora</i>	7
		<i>Scutellospora</i>	32
	Pacisporaceae	<i>Pacispora</i> ⁽²⁾	7
	Acaulosporaceae	<i>Acaulospora</i>	33
		<i>Entrophospora</i>	5
Glomerales	Glomeraceae	<i>Glomus</i> ⁽³⁾	104
Archaeosporales	Archaeosporaceae	<i>Archaeospora</i>	3
	Geosiphonaceae	<i>Geosiphon</i> ⁽⁴⁾	1
Paraglomerales	Paraglomeraceae	<i>Paraglomus</i>	2
Total: 4	8	10	197

⁽¹⁾ O número total de espécies inclui sinônimas. ⁽²⁾ Recentemente, a família Pacisporaceae e o gênero *Pacispora* foram propostos para acomodar espécies semelhantes a *Glomus*, bem como novas espécies que partilham germinação e características internas da parede e apresentam aspectos moleculares que as vinculam a espécies de *Scutellospora* e Acaulosporaceae (Oehl & Sieverding, 2004; Walker et al., 2004). *Pacispora* foi descrita na família Glomeraceae (Oehl & Sieverding, 2004) e reclassificada na ordem Diversisporales, com base em resultados morfológicos, citológicos e moleculares (Walker et al., 2004). ⁽³⁾ O gênero *Glomus* é polifilético e foi dividido em *Glomus* grupos A, B e C (Schwarzott et al., 2001). *Glomus* grupo C pertence agora ao gênero *Diversispora*, ordem Diversisporales. ⁽⁴⁾ *Geosiphon* não forma micorriza arbuscular. Esta espécie estabelece simbiose mutualística com cianobactérias, sendo considerada uma possível precursora da simbiose micorrízica.

Por sua vez, a análise filogenética baseada em um só gene também deve ser analisada com cuidado, visto que a evolução de genes nem sempre segue o processo de especiação. No caso dos fungos MA, a análise de outros genes, como betatubulina (Corradi et al., 2004), fator de alongamento alfa 1 (Helgason et al., 2003), tem comprovado o caráter monofilético dos fungos MA, porém a posição do grupo ainda continua incerta. A análise parcial do fator de alongamento alfa 1 aponta os Zigomicota como grupo irmão (Helgason et al., 2003). Já Corradi et al. (2004) verificaram que, pela análise dos genes da betatubulina, Glomeromicota se coloca como um grupo próximo ao Chitridiomicota, que engloba linhagens ancestrais dos fungos. Atualmente, o projeto AFToL ("Assembling the Fungal Tree of Life" - Lutzoni et al., 2004) está seqüenciando um conjunto de genes cromossômicos e mitocondriais de representantes de todos os grupos de fungos conhecidos, visando aprimorar a filogenia dos fungos.

A taxonomia molecular tem sido muito útil para elucidar a filogenia dos fungos MA em nível de subgênero ou níveis superiores. No entanto, pouco tem sido feito para a diferenciação de espécies. Isso se deve, principalmente, a dificuldades em se multiplicar o fungo em cultura pura. O sistema tradicional de vasos de cultivo não garante a ausência de contaminantes em esporos, que podem ser de outros fungos, como Ascomycetos (Schüßler, 1999; Fonseca et al., 2001), ou mesmo de fungos MA. Além disso, várias bactérias são comumente encontradas no citoplasma de fungos MA. Inclusive, é reconhecida uma endossimbiose entre bactérias do novo gênero e a espécie denominada

Candidatus Glomeribacter gisporararum e os esporos de diversas espécies da família Gigasporaceae (Bianciotto et al., 2003). Outra característica que dificulta a análise de fungos MA em nível de espécies é o alto grau de polimorfismo entre genes encontrados em um mesmo fungo (esporo). Recentemente, esta característica foi utilizada para diferenciar espécies ou até isolados do gênero *Gigaspora*; ela parece ser promissora, também, para diferenciar espécies de outros gêneros (Figura 10).

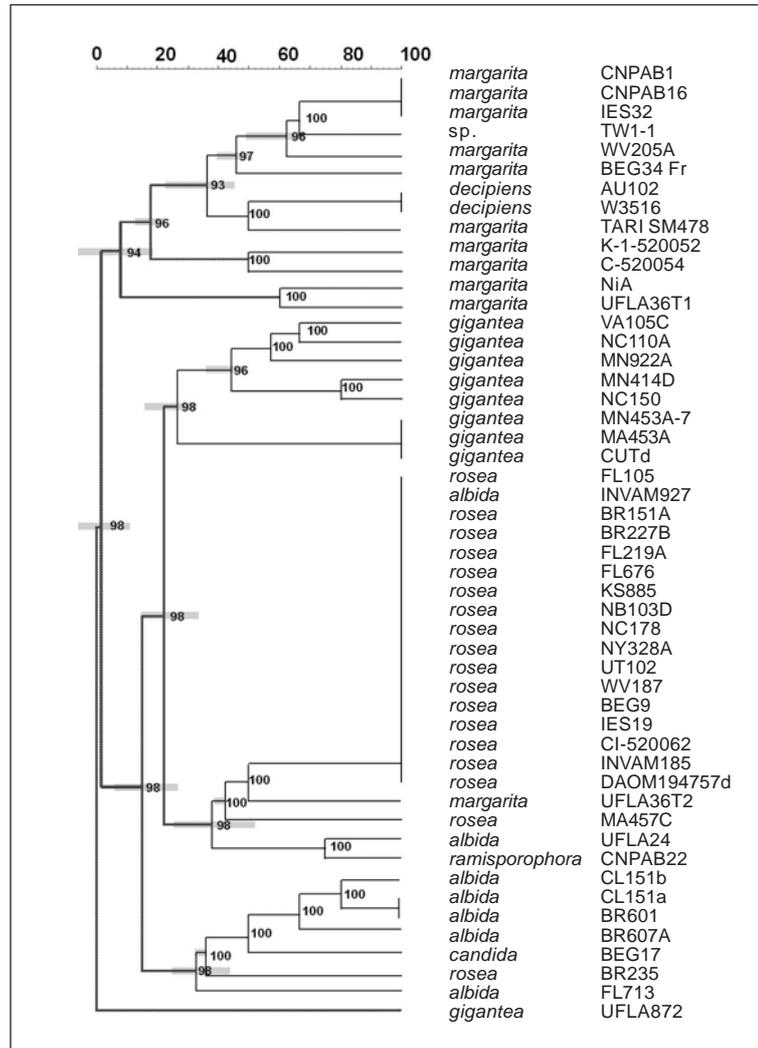


Figura 10. Identificação de espécies de *Gigaspora* por meio da diferenciação do polimorfismo inter e intra-específico entre cópias do rDNA pela técnica do PCR-DGGE (Denaturing Gradient Gel Electrophoresis). Dendrograma mostrando a similaridade (Jaccard, UPGMA) entre perfis de bandas de PCR-DGGE de 48 estirpes de *Gigaspora* e dois perfis divergentes encontrados em esporos das culturas das estirpes *Gi. albida* CL151 e *Gi. margarita* UFLA36. A escala indica a similaridade entre os perfis de bandas e os números indicam o fator cofenético de correlação.

Fonte: Modificado de Souza et al. (2004).

FUNGOS MA COMO DETERMINANTES DA DIVERSIDADE DE PLANTAS

Estudos conduzidos em condições controladas indicam que a resposta em crescimento da planta inoculada depende da compatibilidade genética e funcional entre a espécie vegetal e a estirpe do fungo utilizada, bem como das condições ambientais vigentes, como tipo de solo, pH e disponibilidade de nutrientes, em especial o P. Além dessas variáveis, em condições naturais onde mais do que uma espécie de fungo coloniza simultaneamente raízes da planta hospedeira, os benefícios da simbiose micorrízica dependerão da comunidade de fungos presentes e da competição que se estabelece entre eles (Figura 11).

Um experimento clássico conduzido em microcosmos por van der Heijden et al. (1998a) ilustra bem os efeitos desse tipo de interação sobre o desenvolvimento de comunidades de plantas. Para condução do experimento foram isoladas quatro espécies de fungos MA e 11 espécies de plantas autóctones de uma pastagem de região temperada em solo calcáreo na Europa. Os tratamentos com maior diversidade fúngica resultaram em maior diversidade de plantas.

Em síntese, fungos micorrízicos arbusculares causam impactos que vão desde suas relações com plantas (processos de absorção de nutrientes), com comunidades vegetais (influenciando sua diversidade e abundância) e, finalmente, com processos relacionados

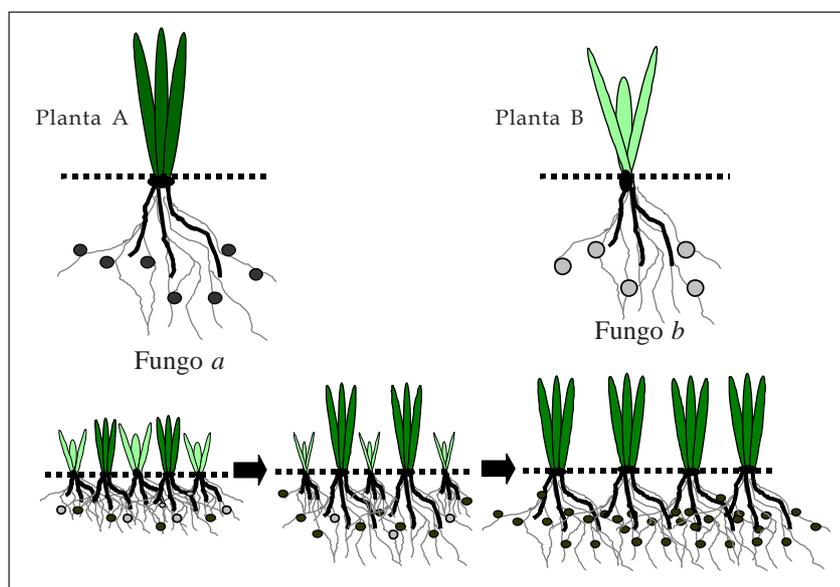


Figura 11. Coexistência hipotética entre duas espécies de plantas, uma com folhas escuras (A) e a outra com folhas claras (B). O fungo *a* favorece o crescimento da planta A, que passa a dominar a comunidade vegetal. Assim, manejos que favoreçam a manutenção do fungo *a* promoverão a exclusão da planta B.

Fonte: Modificado a partir de van der Heijden et al. (1998a).

à estabilidade de ecossistemas, ao participarem de forma ativa e significativa na dinâmica do C e agregação do solo, conforme ainda será enfatizado neste capítulo. Assim, percebida não apenas na perspectiva da planta, mas do solo em suas múltiplas relações, fungos MA são hoje reconhecidos como um componente integral e fundamental na construção e estabilidade de ecossistemas de todo o planeta (van der Heijden et al., 1998a,b; 2003).

MICORRIZAS E A DINÂMICA DO CARBONO

O ciclo do C de compostos orgânicos do solo é um componente fundamental de ecossistemas terrestres, sendo um dos elementos reguladores dos fluxos de gases entre a biosfera e a atmosfera. Os principais elementos definidores da magnitude e rapidez desse ciclo são a relação entre a produtividade primária e a distribuição do C entre a parte aérea e as raízes, assim como os processos de mineralização e imobilização (Brady, 1989). Um dos indicadores utilizados para determinar a eficiência desse processo é a biomassa microbiana e sua atividade. A quantidade de C drenada direta ou indiretamente da atmosfera pelas funções microbianas é incerta, mas certamente depende de variáveis como estrutura da cobertura vegetal, manejo, quantidade e qualidade de resíduos orgânicos adicionados, clima e fatores edáficos – não por acaso, as mesmas variáveis que regulam a abundância, riqueza e atividade de FMA (Lovelock & Ewel, 2005).

Fungos micorrízicos são um importante componente do ciclo do C no solo, devido à sua direta influência sobre: (a) a produtividade primária, graças ao seu impacto na absorção de nutrientes e água por plantas; (b) a estabilidade de agregados do solo; e (c) por sua imensa biomassa e produção de glomalinas (Zhu & Miller, 2003), proteínas de alta estabilidade produzidas por hifas de FMA, conforme discussão no próximo item. Apesar do impacto evidente, poucos são os estudos, em especial em sistemas tropicais, sobre o papel desses organismos no ciclo do C. Fungos micorrízicos são fontes (graças à sua respiração e a aumentos na taxa de respiração da raiz colonizada) ou, bem mais provável, dreno (devido à sua imensa biomassa, produção de glomalinas e modificações na produtividade primária) de C da atmosfera? Em qual escala e como esse balanço pode ser mediado pelo ambiente e manejo?

Estudos diversos usando ^{14}C têm demonstrado que fotossintetatos são deslocados da parte aérea às hifas poucas horas após este elemento ter sido marcado (Bucking & Shachar-Hill, 2005). Esses resultados confirmam que FMAs são dreno importante de C da planta, podendo impor perdas de até 20 % do C fixado pelo simbionte autotrófico. Como resposta da planta ao dreno imposto pelo sistema micorrízico, há aumentos significativos de sua taxa fotossintética, ocasionando aumentos no potencial da produtividade primária e dreno de C da atmosfera (Jakobsen et al., 2002). Estima-se que, globalmente, FMAs possam ser responsáveis pelo dreno anual de cinco bilhões de toneladas (5 Gt) de C aos solos (Bago et al., 2000). As conseqüências desse fenômeno são ainda desconhecidas, seja nas propriedades do solo, seja em escala global, nas relações referentes às mudanças globais e ao papel desta simbiose no seqüestro de C da atmosfera. Pode-se especular sobre a necessidade de ampliar as linhas de investigação das MAs para além de seus aspectos nutricionais.

Fungos micorrízicos podem, portanto, ser considerados canais de drenagem do C da atmosfera para o solo, via planta, por terem acesso direto a fontes de C da planta. Essa característica os diferencia de boa parte dos microrganismos saprófitas, que adquirem açúcares (energia) a partir de fontes diversas e espacialmente limitadas. Esses organismos são energizados por uma quantidade e qualidade de fontes orgânicas praticamente ilimitadas, desde que haja plantas metabolicamente ativas sendo colonizadas. Essa vantagem competitiva lhes confere uma significativa parcela da biomassa microbiana do solo (Bago et al., 2000; Graham, 2000). Entretanto, alguns métodos tradicionais de quantificação da biomassa microbiana baseada na técnica de respiração induzida pelo substrato não conseguem detectar essa imensa contribuição micorrízica, pelas razões expostas a seguir.

Os métodos discriminam a detecção da biomassa micelial. Isso porque a técnica da respiração induzida (Anderson & Domsch, 1978) é aplicada a amostras de terra destorroadas e peneiradas. Nesse processo, hifas micorrízicas são fragmentadas e suas conexões às plantas, ou seja, à sua única fonte de C, destruídas. Como consequência, a “indução” por adição de sacarose ao substrato é indiferente ao fungo, uma vez que este é incapaz de mobilizar açúcares que não sejam os deslocados por plantas. Dessa maneira, como os FMAs não conseguem mobilizar fontes externas de açúcares, sendo dependentes obrigatórios da planta para este fim, o método subestima a contribuição fúngica.

Os métodos de fumigação (Voroney & Winter, 1993), da mesma forma, apenas conseguem detectar a atividade de FMA se as análises forem realizadas após poucas horas da coleta.

A insensibilidade desses métodos em detectar a biomassa de hifas de FMA intactas coloca em dúvida os resultados quantitativos obtidos para biomassa microbiana (Leake et al., 2004) e os cuidados em se considerar este atributo como indicador da fertilidade biológica do solo. Apenas hifas extra-radiculares podem contribuir com até 30 % da biomassa total do solo em sistemas agropastoris (Hamel et al., 1991; Miller & Kling, 2000; Olsson & Wilhelmsson, 2000). Os valores de biomassa microbiana encontrados na literatura provavelmente estão subestimados.

A biomassa de fungos micorrízicos não deve ser desconsiderada. Apesar de boa parte do C transferido ao fungo retornar à atmosfera via respiração, cerca de 25 % deste C pode ser acumulado apenas no micélio extra-radicular, o qual pode representar 90 % da biomassa de hifas do FMA (Olsson et al., 1999). O micélio intra-radicular, por sua vez, corresponde a 3–20 % do peso das raízes (Smith & Read, 1997). Considerando-se a biomassa micelial e desconsiderando esporos, vesículas ou células auxiliares, podem ser encontrados valores de biomassa próximos aos do próprio sistema radicular. Extensões superiores a 70 m de hifas por g de solo já foram registradas em solos sob pastagem. Em solos tropicais, esses valores são em geral menores (30–50 m g⁻¹ de hifas no solo), talvez devido à maior taxa de ciclagem ou acidez (van Aarle et al., 2002, 2003). Considerando-se que mais de 50 % do comprimento de hifas no solo advêm de fungos micorrízicos (Rillig et al., 2002), correspondendo a 0,03–0,5 mg g⁻¹ em peso de hifas extra-radiculares secas, conclui-se que FMAs representam uma grande e funcionalmente significativa parcela da biomassa microbiana, podendo, apenas as hifas extra-radiculares, chegar a 1 t ha⁻¹, considerando-se os 20 cm superficiais do perfil. Ainda mais, se o solo não for perturbado

e os agregados mantidos intactos, a meia-vida de hifas ricas em quitina, uma molécula recalcitrante e de difícil decomposição, pode chegar a 25 anos (Rillig et al., 2001).

Hifas são, portanto, um importante reservatório de C no solo, ainda não incorporado nos estudos de sua ciclagem. Outro dreno não desprezível são os próprios esporos. Em condições controladas, em placas de Petri contendo raízes transformadas, podem-se observar mais de 40.000 esporos (Figura 3). Portanto, não existe constrangimento, do ponto de vista genético (da planta ou do fungo), na produção de imensas quantidades de propágulos fúngicos. Como de 45 a 95 % do *pool* de C em esporos é constituído por lipídeos, pode-se concluir que essas estruturas são potencialmente um importante dreno de C garantido pelos simbioses autotróficos em algumas situações ainda mais significativas que as encontradas em hifas (Bago, 2000).

Glomalina

A contribuição das hifas extra-radiculares não se limita à sua biomassa ou a aumentos na capacidade de plantas em mobilizar nutrientes. Essas são características clássicas e fundamentais na simbiose micorrízica. Entretanto, o micélio externo também é responsável pela exsudação (ou incorporação em suas paredes celulares, bem como de esporos) de glicoproteínas hidrofóbicas chamadas de *glomalin*s. Essas proteínas muito provavelmente são produzidas por FMA, uma vez que, em sua ausência, glomalinas não são encontradas (Leake et al., 2004). Elas apresentam alta estabilidade no solo, podendo permanecer 42 anos até sua mineralização completa, período bem superior ao de hifas, que não ultrapassa 5-7 dias (Rillig et al., 2001; Zhu & Miller, 2003), ou raízes que variam de 10 dias até a morte da planta arbórea (Fitter & Moyersoen, 1996). Glomalinas constituem-se em um importante componente do C orgânico do solo, podendo atingir 1.45 t ha⁻¹ de C em florestas tropicais apenas nos 10 cm superficiais, estabilizando-se em geral na fração argila (Lovelock et al., 2004). A função das glomalinas é incerta; entretanto, é provável que elas tenham impacto sobre a construção de nichos ao promover a agregação do solo e sua estruturação, com a conseqüente redução dos processos erosivos. Dessa forma, apesar de estudos de hifas fúngicas intra-radiculares absorverem maior atenção, graças à sua maior facilidade e ao interesse nos mecanismos de transferência de nutrientes, são as hifas extra-radiculares que atuam diretamente sobre atributos relacionados à qualidade do solo, entendida como expressão de um conjunto de processos que estimulam ganhos de produtividade sem prejuízo das funções nele realizadas (Figura 10). Isso porque, como já mencionado, estas estruturas ultrapassam em muito o espaço rizosférico, mobilizam nutrientes para bem além da zona de depleção e produzem uma série de compostos quelantes (uma das quais, as glomalinas) e células mortas que interagem com outros organismos, criando uma “hifosfera” com uma bem característica e particular comunidade microbiana. Bactérias específicas, não encontradas na rizosfera, interagem com glomalinas, ampliando o efeito rizosférico e criando uma “micorrizosfera”, com propriedades próprias (Vancura et al., 1990; Bomberg et al., 2003). Se, além destas qualidades, for considerada a influência de hifas extra-radiculares nos processos de agregação do solo, a conclusão de que FMAs são um fundamental indicador de qualidade de manejo e cobertura do solo torna-se emblemática.

Considera-se a agregação do solo como a forma em que partículas e poros nele se distribuem. Ela é influenciada pela ação da biota (em especial, bactérias e fungos em geral) e pela atividade de cargas superficiais em um contexto de secagem e umedecimento do solo (Brady, 1989). O papel dos FMAs, em particular, não é, via de regra, considerado ou, menos ainda, dimensionado. Não se sabe qual sua contribuição nesse processo. É secundário ou absolutamente fundamental? Alguns estudos indicam que a importância de FMA é similar à das raízes, enquanto outros apontam que hifas extra-radiculares são o componente mais importante entre todos os que atuam nesse processo, com óbvias implicações na capacidade de armazenamento de água (Thomas et al., 1993; Jastrow et al., 1998). Se é assim, quais são os mecanismos que permitem ao FMA esta ação, tanto sobre a agregação quanto sobre sua estabilidade? Provavelmente são dois: um físico, com hifas extra-radiculares envolvendo e enovelando partículas minerais e orgânicas do solo, e outro quelante, graças à ação de glomalinas.

Em estudos realizados em um gradiente de textura e classes de solos, comprovou-se que existe estreita e positiva correlação entre estabilidade de agregados e quantidade de glomalinas no solo (Wright & Upadhyaya, 1998). Percebeu-se também que essas proteínas ficam estocadas dentro desses agregados, protegidas então dos processos de mineralização. Dessa forma, glomalinas representam uma forma estável de armazenar C no solo (Rillig, 2004). Pelo exposto, é clara a necessidade de criar condições que apontem para o aumento da produção desses metabólitos. Sabe-se que o manejo (em especial a mecanização) e a diversidade da cobertura vegetal, além de variáveis físicas e químicas do solo, controlam a produção de glomalinas. Sistemas que estimulem a produção de hifas extra-radiculares devem também induzir a síntese dessas moléculas, apesar de resultados iniciais serem contraditórios (Piotrovsky et al., 2004). Em solos agrícolas, a quantidade de glomalina detectada é baixa em relação àquela observada sob pastagem ou florestas. Isso porque, com o revolvimento e a compactação do solo, a rede micelial é destruída e, com isso, a produção de glomalinas diminui drasticamente (Figura 12).

Há necessidade de ampliar os estudos em condições tropicais sobre o impacto dessas glicoproteínas no *pool* do C, na agregação e estabilidade, bem como na relação glomalina - FMA, ainda não definida.

NUTRIÇÃO MINERAL

Será dada ênfase à nutrição fosfatada em razão do seu maior impacto sobre plantas hospedeiras, apesar de estudos com inoculação com FMA também ocasionarem, via de regra, aumentos tanto na taxa de crescimento como nos teores de Cu, Mg e Zn – não por acaso, todos elementos pouco móveis no solo. Micorrizas arbusculares são reconhecidas por sua habilidade em estimular o crescimento de plantas, principalmente por meio do incremento na absorção de nutrientes em geral, P em especial. Ryan et al. (2003) identificaram teores elevados de nutrientes em hifas intra-radicais. Os teores de P variaram de 60 a 170 mmol kg⁻¹, apesar de valores como 600 mmol kg⁻¹ terem sido

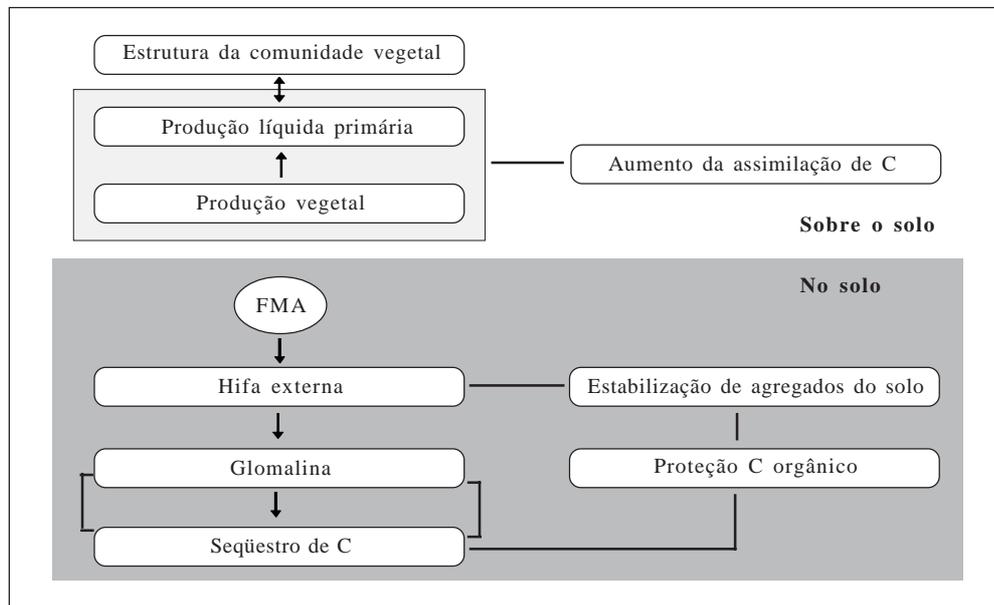


Figura 12. Diagrama indicando as múltiplas funções desempenhadas pelos FMAs, seja sobre funções do solo, seja sobre a comunidade de espécies vegetais.

Fonte: Zhu & Miller (2003).

↓ detectados. Esses valores correlacionaram-se fortemente com os de K, com cerca de 350 mmol kg⁻¹, e Mg, com 175 mmol kg⁻¹. Muito pouco Ca foi detectado. Os teores de P em arbusculos ativos variou de 30 a 50 mmol kg⁻¹, enquanto os de K foram de 100 mmol kg⁻¹. Esses elevados valores são muito superiores aos encontrados em solos ou mesmo em tecidos vegetais, confirmando a capacidade de FMA na absorção e acumulação de elementos minerais.

Fósforo é um macronutriente presente no solo em baixas concentrações e pouco móvel em solos intemperizados, como os tropicais. São nessas condições que as MAs assumem papel determinante na sobrevivência de diversas espécies vegetais, incapazes de mobilizar este elemento. Não que FMAs não absorvam N, por exemplo; eles o fazem, absorvem e em quantidades superiores aos de P (Gamper et al., 2004). No entanto, a planta não necessita do FMA para sua nutrição nitrogenada, pois seu próprio sistema radicular é capaz de absorvê-lo, visto que apresenta grande mobilidade no solo. O P é um nutriente estrutural na constituição 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 central para organismos em geral e plantas tropicais em solos de baixa fertilidade em particular.

Como a taxa de absorção e transporte de P inorgânico (Pi) por raízes é maior que sua taxa de difusão no solo, uma zona de depleção é formada, resultando em uma zona de

esgotamento para este elemento ainda no ambiente rizosférico. Dessa forma, a planta, em sua evolução, desenvolveu mecanismos de captura desse elemento para além dessa zona, por meio das MAs (Figura 13).

Os aumentos na taxa de absorção do P propiciados pelas MAs podem ser atribuídos a:

- Aumento do volume de solo explorado pelas hifas extra-radiculares do fungo arbuscular.
- Pequeno diâmetro da hifa, o que a permite explorar espaços do volume do solo inatingíveis pela raiz.
- Maiores taxas de influxo por unidade de superfície.
- A formação de polifosfatos, moléculas orgânicas sintetizadas pelo fungo MA ricas em P, as quais acarretam a diminuição da concentração de Pi no interior das hifas, com o concomitante acúmulo de P em condições de alta disponibilidade deste elemento, com sua remobilização em condições de estresse, permitindo, assim, um fluxo contínuo ao hospedeiro.
- 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).

O incremento da nutrição de P em plantas colonizadas ocasionará então: (a) aumento no crescimento e na atividade fotossintética; (b) aumento na taxa de transferência de carboidratos para as raízes; e (c) aumento no seu efluxo ao apoplasto, em direção ao dreno imposto pelo fungo micorrízico (Bucking & Shachar-Hill, 2005). Devido ao aumento

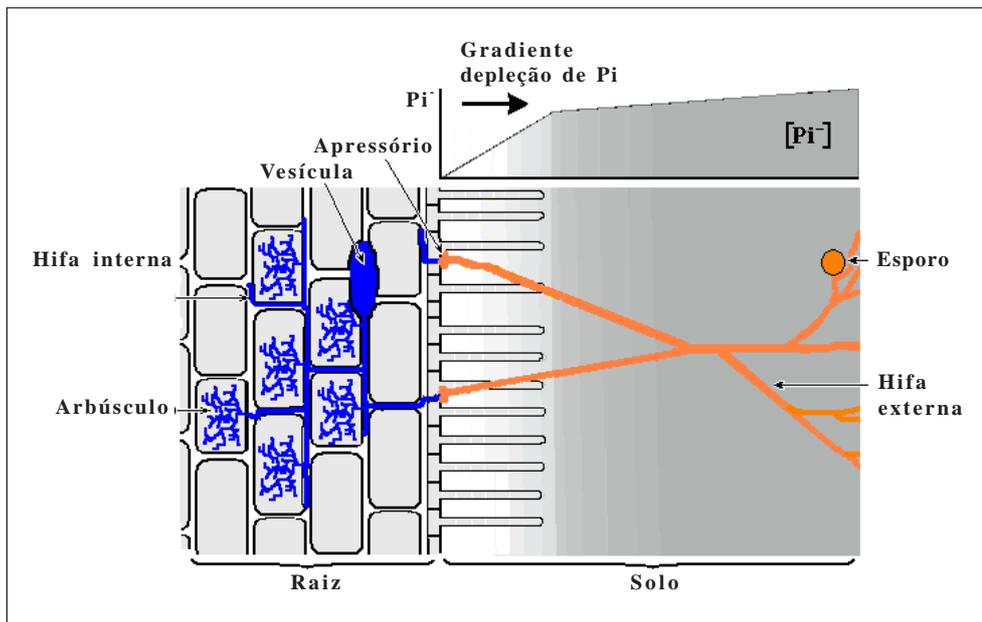


Figura 13. Estrutura das hifas intra-radiculares, arbúsculos e vesículas, e extra-radiculares, com hifas ultrapassando a zona de depleção de P inorgânico (P_i). Como se pode constatar, a taxa de absorção de P_i é maior que a sua taxa de difusão no solo.

da absorção de P (e em menor escala de Zn), o pH da rizosfera normalmente cai na presença de FMA, o que pode levar a aumentos da solubilidade de P no solo (Mohammad et al., 2004).

Como outros nutrientes, o fosfato é absorvido de forma seletiva contra um gradiente de potencial eletroquímico, partindo de teores no solo da ordem de $1 \mu\text{mol L}^{-1}$, para mais de 1.000 vezes esses valores no interior da célula. Esse processo de absorção é, portanto, energeticamente dependente dos transportadores de P (simporte) e da ação das H^+ -ATPases (Figura 14). Recentemente, alguns desses transportadores foram identificados. Estudos realizados por Smith et al. (2003, 2004) demonstram que os transportadores de fosfato envolvidos na sua absorção por raízes são distintos dos envolvidos pela absorção por raízes colonizadas. Esse resultado sugere que há regulação genética dos mecanismos de transporte de Pi em sistemas MA e que esta regulação é controlada diretamente pelo fungo, pois sabe-se que genes que codificam para esses transportadores apenas são expressos na presença do fungo simbiote (Karandashov & Bucher, 2005).

Como não existe conexão simplástica entre os simbiontes, nutrientes e fosfato devem ser absorvidos via apoplasto (Rausch et al., 2001). É provável que ocorram transferências tanto de Pi como de carboidratos através da plasmalema de ambos os simbiontes ao apoplasto matricial (que separa as membranas dos simbiontes). Modelos originais propunham o que seria mais plausível: a existência de transportadores acoplados de carboidratos - fosfato (Schwab et al., 1991; Smith et al., 1994), apesar de Nehls et al. (2001) terem identificado transportadores independentes para P e carboidratos em associações ectomicorrízicas. Estudos com plantas sob limitações fotossintéticas mostram diminuições nos efeitos benéficos do fungo arbuscular devido, provavelmente, à competição por carboidratos (Son & Smith, 1988). Nessa linha, Bucking & Shachar-Hill

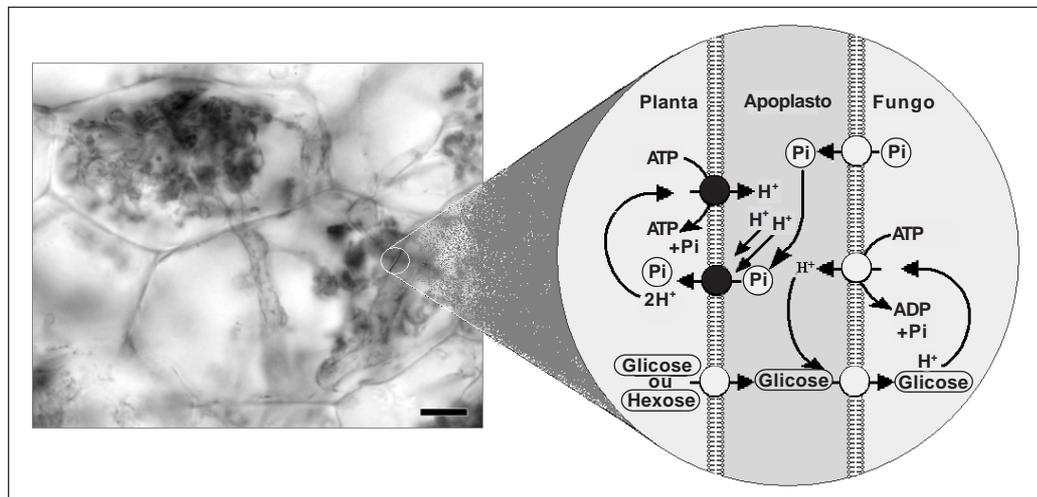


Figura 14. Células arbusculares de *Lunularia cruciata* (L.) Lindb. com diagrama indicando a transferência de fosfato (Pi) e estruturas de carbono através da interface micorrízica. Em círculos fechados, H^+ -ATPases e transportadores secundários já identificados. Círculos abertos indicam modelos hipotéticos de transferência de metabólitos ou Pi. Barra 10 μm .

Fonte: Modificado de Ferrol et al. (2002) e fotografia de Fonseca & Berbara, não publicada.

(2005), em estudo com raízes transformadas e em placas divididas, demonstraram que aumentos na oferta de carboidratos, em especial sacarose, estimulam o transporte de C, através da interface micorrízica, em direção ao simbiote fúngico. Nesse momento, carboidratos diversos (monossacarídeos, dissacarídeos ou polissacarídeos), exsudados pela raiz, seriam hidrolisados por invertases no apoplasto, em hexoses, principalmente estruturas que podem ser absorvidas pelo FMA (Bago et al., 2000). Como a atividade da invertase é pH dependente, deve-se incrementar a ação das H⁺-ATPases, as quais, não por acaso, têm sua expressão gênica ativada tanto pela infecção micorrízica como pela concentração de sacarose (Blee & Anderson, 2002).

Provavelmente, MAs obtêm todo o seu C do ambiente radicular, deslocado pelas raízes, em favor de um gradiente de concentração. Nas raízes, FMAs polimerizam os açúcares absorvidos, hexoses principalmente, em trealose e glicogênio, estruturas encontradas em fungos em geral (Bago et al., 2003). O transporte de C de hifas para a planta não tem sido reportado, sendo ele considerado unidirecional da planta para as hifas. Os triacilgliceróis (TAG) são outra das mais importantes formas em que C é armazenado pelo fungo (Pfeffer et al., 2004). Entretanto, nas hifas, ocorre rápido fluxo citoplasmático nos dois sentidos, com deslocamento de recursos de regiões-fonte para regiões-dreno dentro do micélio fúngico. Esse fluxo também é responsável pela movimentação de organelas (Bago et al., 2002, 2003).

É provável que a absorção de Pi pelo FMA e sua transferência à planta sejam estimuladas pela transferência de C da planta para o fungo (Bucking, 2004). Diante da maior oferta de C, o fungo diminui a síntese de polifosfatases, levando a aumentos nos teores de Pi citoplasmáticos, bem como à sua incorporação em fosfolipídeos e polifosfatos (poli P) (Viereck et al., 2004).

Pi é ativamente absorvido por hifas extra-radulares e metabolizado em ácidos nucleicos, fosfolipídeos e outras moléculas fosforiladas, bem como condensado em moléculas de poli P. Polifosfatos são polímeros ricos em fosfatos e presentes em diversos organismos, como bactérias, fungos, plantas e animais superiores. Em fungos micorrízicos arbusculares, os poli P são armazenados em hifas intra e extra-radulares, bem como em esporos, e são centrais no metabolismo do fosfato. Após absorção de Pi por hifas, poli P são sintetizados antes mesmo de serem detectados em vacúolos (Viereck et al., 2004), denotando a importância dessa via metabólica no armazenamento de fosfato em estruturas moleculares capazes de concentrar grandes quantidades de Pi. Pode-se especular que a rapidez e a quantidade com que poli P é sintetizado e armazenado tenham como objetivo manter seja o dreno de Pi do solo pelo fungo inalterado, seja a transferência de Pi à raiz. Eventualmente, essas moléculas são deslocadas ao espaço intra-radicular, hidrolisadas em Pi e, finalmente, deslocadas ao apoplasto e a células vegetais, devido ao dreno imposto pela planta (Karandashov & Bucher, 2005).

A hidrólise do poli P provavelmente ocorre nas hifas intra-radulares e não no apoplasto, ou menos ainda nas células vegetais, uma vez que plantas não absorvem poli P, mas Pi (Ohtomo et al., 2004). Essa hidrólise intracelular induziria incrementos no Pi do citoplasma fúngico, levando ao seu transporte em direção ao apoplasto interfacial. A passagem de fosfato através da plasmalema fúngica seria, portanto, passiva em favor

de um gradiente de concentração. Sua passagem pela matriz micorrízica pode se dar por canais ou transportadores iônicos. Finalmente, o fosfato liberado é transferido às células corticais através de transportadores de fosfato, conforme já discutido. Bucking (2004) sugere que as trocas de C por P estejam efetivamente acopladas. Assim, a absorção de P pelo fungo e sua transferência à planta estariam diretamente associadas à disponibilidade de C ao fungo micorrízico.

Da mesma forma que para Pi, FMAs absorvem e deslocam às plantas significativas quantidades de N, seja na forma de NH_4^+ , seja na de NO_3^- . As enzimas de assimilação de N estão presentes tanto em raízes como em estruturas do FMA. Este elemento pode ser acumulado em fungos, o que garante gradientes de concentração entre o espaço extra e intracelular, bem como entre células do córtex (Jolicoeur et al., 2002).

Os *pools* gerados pelo acúmulo de P na forma de poli P/Pi e de N, na forma de distintos aminoácidos, NH_4^+ ou NO_3^- , tanto em células corticais como em hifas, produzem gradientes que são percebidos pelos simbiossitos provavelmente no espaço arbuscular. Estudos realizados por Jolicoeur et al. (2002) demonstram que os teores de Pi (e possivelmente outros nutrientes), além de açúcares intracelulares, regulam a orientação do fungo em produzir hifas ou cessar seu crescimento. É comum observar o incremento no número de esporos de algumas espécies de FMA conforme avança o desenvolvimento das raízes (Berbara & Souza, resultados não publicados, observações pessoais). Estudos de Declerck et al. (2001), em meio de cultura utilizando raízes transgênicas, confirmam que a produção de esporos segue uma fase lag, log e estacionária, obedecendo a uma curva clássica sigmóide, sugerindo que esse processo obedece a uma dinâmica similar à do metabolismo primário.

MANEJO DE FMA

No contexto da nutrição mineral de plantas e otimização das funções de ecossistemas, visando aos aumentos em sua estabilidade e resiliência, consideram-se alguns atributos biológicos como centrais: (a) quantidade e qualidade de raízes (finas, terminais, não-lignificadas e metabolicamente ativas); (b) riqueza e abundância de organismos como FMA; (c) bactérias promotoras de crescimento de plantas (incluindo bactérias fixadoras e solubilizadoras de fosfato); e (d) minhocas (Hamel et al., 2004; Wardle et al., 2004). Aqui, considera-se estabilidade como a capacidade que um sistema apresenta para manter inalteradas suas propriedades diante de um impacto ambiental ou antrópico, enquanto resiliência seria a capacidade de ecossistemas em recuperar suas funções após sofrerem perturbação ou estresse, sendo uma função do tempo (Lal, 1997). Ambas as propriedades são decisivamente influenciadas pelas associações micorrízicas. Isso porque FMA e bactérias promotoras de crescimento associadas relacionam-se à estrutura de comunidades vegetais (ver item Fungos MA como Determinantes da Diversidade de Plantas); portanto, podem ser manejados juntamente com os tratamentos culturais. Outros grupos funcionais, como os da mesomacrofauna, da mesma forma, são importantes. No entanto, seu manejo é bem mais complexo ao não se correlacionarem tão rapidamente com variações ambientais ou antrópicas (Schloter et al., 2003).

Pelos seus múltiplos impactos, já apontados neste capítulo, estratégias de manejo que incrementem não apenas a diversidade de FMA, mas em especial hifas extra-radiculares, devem ser buscadas, mesmo porque a maioria dos agroecossistemas apresenta condições não-ótimas para o funcionamento de FMA. Manejos como mecanização excessiva com alta fertilização do solo, aplicação de pesticidas, rotações de culturas com plantas não-hospedeiras (ex.: brássicas), poluentes diversos, inclusive orgânicos, com uso excessivo de esterco, por exemplo, levam à diminuição da otimização dessa simbiose, seja pela redução da atividade fúngica, de sua diversidade ou da produção de hifas extra-radiculares. Considera-se que as chamadas modernas técnicas de manejo do solo vêm diminuindo sobremaneira não apenas a diversidade, mas a importância de FMA nas funções já discutidas neste capítulo, implicando quedas na resiliência e estabilidade de agroecossistemas (Jeffries et al., 2003).

CONCLUSÕES

Os primeiros estudos sobre micorrizas realizados no Brasil por Sacco (1958, 1962) foram descritivos. Avançou-se, desde então, de maneira gradual na formação de pesquisadores que tiveram acertadamente o interesse em estudar o impacto das MAs sobre o crescimento e desenvolvimento de plantas em solos tropicais. Esses trabalhos foram importantes, por enfatizarem seu caráter fundamental na sobrevivência de inúmeras espécies vegetais, as quais, sem essa simbiose para garantir sua nutrição fosfatada, provavelmente não existiriam. Os novos desafios para a pesquisa nesses ambientes não são menos relevantes. Incorporar esse componente fúngico às inúmeras funções realizadas pelo solo – relacionadas à estabilidade e resiliência de ecossistemas – é imperativo (Fitter, 2005).

Apesar de seus mais de 120 anos de estudos, desde as primeiras descrições e hipóteses formuladas sobre a funcionalidade das associações micorrízicas (Trappe, 2005), suspeita-se que o impacto mais profundo dessa simbiose ainda está por ser desvendado. O esforço pela potencialização das MAs em campo, bem como pela geração de técnicas a elas relacionadas, demanda estudos que incorporem protocolos de multiplicação de FMA, seja em potes, aero ou hidroponia, ou principalmente cultivos *in vitro* com o uso de raízes transgênicas (Berbara & Fonseca, 1996), uma formidável ferramenta ainda pouco explorada no Brasil. Implica considerar esse componente em estudos de longa duração que busquem detectar não apenas seu impacto sobre o crescimento e desenvolvimento de uma planta, mas sobre a magnitude de sua contribuição a eventos globais e estruturação de comunidades vegetais. Com a perspectiva aberta pelas técnicas moleculares, tem-se a oportunidade de entender mecanismos de evolução de espécies vegetais e da própria simbiose. Resta aos investigadores em MA ampliarem seu leque de investigação em um esforço multidisciplinar, mesmo porque, sem essa abordagem, não se compreenderá a dimensão completa dessa formidável simbiose.

LITERATURA CITADA

- AHULU, E.M.; NAKATA, M. & NONAKA, M. Arum and Paris-type arbuscular mycorrhizas in a mixed pine forest on sand dune soil in Niigata Prefecture, central Honshu, Japan. *Mycorrhiza*, 15:129-136, 2005.
- ALLEN, E.B.; ALLEN, M.E.; EGERTON-WARBURTON, L.; CORKIDI, L. & GOMEZ-POMPA A. Impacts of early- and late-seral mycorrhizae during restoration in seasonal tropical forest, Mexico. *Ecol. Appl.*, 13:1701-1717, 2003.
- AMIJEE, F.; STRIBLEY, D.P. & LANE, P.W. The susceptibility of roots to infection by an arbuscular mycorrhizal fungus in relation to age and phosphorus supply. *New Phytol.*, 125:581-586, 1993.
- ANDERSON, I.C. & DOMSCH, K.H. A physiological method for the quantitative measurement of microbial biomass in soils. *Soil Biol. Biochem.*, 10:215-221, 1978.
- BAGO, B. Putative sites for nutrient uptake in arbuscular mycorrhizal fungi. *Plant Soil*, 226:263-274, 2000.
- BAGO, B.; PFEFFER, P.E. & SHACHAR, H.Y. Carbon metabolism and transport in arbuscular mycorrhizas. *Plant Physiol.*, 124:949-957, 2000.
- BAGO, B.; PFEFFER, P.E.; ABUBAKER, J.; JUN, J.; ALLEN, J.W.; BROUILLETTE, J.; DOUDS, D.D.; LAMMERS, P.J. & SHACHAR-HILL, Y. Carbon export from arbuscular mycorrhizal roots involves the translocation of carbohydrate as well as lipid. *Plant Physiol.*, 131:1496-1507, 2003.
- BAGO, B.; PFEFFER, P.E.; ZIPFEL, W.; LAMMERS, P. & SHACHAR-HILL, Y. Tracking metabolism and imaging transport in arbuscular mycorrhizal fungi. *Metabolism and transport in AM fungi. Plant Soil*, 244:189-197, 2002.
- BEDINI, S.; MAREMMANI, A. & GIOVANNETTI, M. Paris-type mycorrhizas in *Smilax aspera* L. growing in a Mediterranean sclerophyllous wood. *Mycorrhiza*, 10:9-13, 2000.
- BERBARA, R.L.L. & FONSECA, H.M.A.C. Colonização e esporulação de fungos micorrízicos arbusculares *in vitro*. In: SIQUEIRA, J.O., ed. *Avanços em fundamentos e aplicação de micorrizas*. Lavras, Universidade Federal de Lavras, 1996. p.39-65.
- BIANCIOOTTO, V.; LUMINI, E.; BONFANTE, P. & VANDAMME, P. '*Candidatus Glomeribacter gigasporarum*' gen. nov., sp. nov., an endosymbiont of arbuscular mycorrhizal fungi. *Inter. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 53:121-124, 2003.
- BLEE, K.A. & ANDERSON, A.J. Transcripts for genes encoding soluble acid invertase and sucrose synthase accumulate in root tip and cortical cells containing mycorrhizal arbuscules. *Plant Molec. Biol.*, 50:197-211, 2002.
- BOMBERG, M.; JURGENS, G.; SAANO, A.; SEM, R. & TIMONEN, S. Nested PCR detection of archaea in defined compartments of pine mycorrhizospheres developed in boreal forest humus microcosms. *Fems Microbiol. Ecol.*, 43:163-171, 2003.

- BRADY, N.C. Natureza e propriedade dos solos. 7.ed. Rio de Janeiro, Freitas Bastos, 1989.
- BREUNINGER, M.; EINIG, W.; MAGEL, E.; CARDOSO, E. & HAMPP, R. Mycorrhiza of Brazil pine (*Araucaria angustifolia* [Bert. O. Ktze.]). *Plant Biol.*, 2:4-10, 2000.
- BROWN, M.S. & BETHLENFALVAY, G.J. Glycine-Glomus-Rhizobium symbiosis. VI. Photosynthesis in nodulated, mycorrhizal, or N- and P-fertilized soybean plants. *Plant Physiol.*, 85:120-123, 1987.
- BRUNDRETT, M. & KENDRICK, B. The roots and mycorrhizas of herbaceous woodland plants. I. Quantitative aspects of morphology. *New Phytol.*, 114:457-468, 1990.
- BRUNDRETT, M.C. Coevolution of roots and mycorrhizas of land plants. *New Phytol.*, 154:275-304, 2002.
- BUCKING, H. Phosphate absorption and efflux of three ectomycorrhizal fungi as affected by external phosphate, cation and carbohydrate concentrations. *Mycol. Res.*, 108:599-609, 2004.
- BUCKING, H. & SHACHAR-HILL, Y. Phosphate uptake, transport and transfer by the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* is stimulated by increased carbohydrate availability. *New Phytol.*, 165:899-912, 2005.
- CAIRNEY, J.W.G. Evolution of mycorrhiza systems. *Naturwissenschaften*, 87:467-475, 2000.
- CAVAGNARO, T.R.; GAO, L.L.; SMITH, F.A. & SMITH, S.E. Morphology of arbuscular mycorrhizas is influenced by fungal identity. *New Phytol.*, 151:469-475, 2001.
- CAVALIER-SMITH, T. A revised six-kingdom system of life. *Biol. Rev.*, 73:203-266, 1998.
- CHWARTZ, D.P. & SHACHAR-HILL, Y. The fungus does not transfer carbon to or between roots in an arbuscular mycorrhizal symbiosis. *New Phytol.*, 163:617-627, 2004.
- CORKIDI, L.; ROWLAND, D.L.; JOHNSON, N.C. & ALLEN, E.B. Nitrogen fertilization alters the functioning of arbuscular mycorrhizas at two semiarid grasslands. *Plant Soil*, 240:299-310, 2002.
- CORRADI, N.; KUHN, G. & SANDERS, I.R. Monophyly of beta-tubulin and H⁺-ATPase gene variants in *Glomus intraradices*: consequences for molecular evolutionary studies of AM fungal genes. *Fungal Gen. Biol.*, 41:262-273, 2004.
- DECLERCK, S.; D'OR, D.; CRANENBROUCK, S. & LE BOULENGE, E. Modelling the sporulation dynamics of arbuscular mycorrhizal fungi in monoxenic culture. *Mycorrhiza*, 11:225-230, 2001.
- DICKSON, S. The Arum-Paris continuum of mycorrhizal symbioses. *New Phytol.*, 163:187-200, 2004.
- 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 Physiol.*, 90:1275-1278, 1989.
- FERROL, N.; BAREA, J.M. & AZCON-AGUILAR, C. Mechanisms of nutrient transport across interfaces in arbuscular mycorrhizas. *Plant Soil*, 244:231-237, 2002.

- FINLAY, R.D. & SODERSTROM, B. Mycorrhizal mycelia and their role in soil and plant communities. In: Ecology of arable land-perspectives and challenges. London, Kluwer Academic Publishers, 1989. p.139-148.
- FITTER, A.H. Darkness visible: reflections on underground ecology. J. Ecol., 93:231-243, 2005.
- FITTER, A.H. & MOYERSON, B. Evolutionary trends in root-microbe symbioses. Philos. Trans. Royal Soc. London - Series B: Biol. Sci., 351:1367-1375, 1996.
- FONSECA, H.M.A.C.; BERBARA, R.L.L. & DAFT, M.J. Shoot delta N-15 and delta C-13 values of non-host *Brassica rapa* change when exposed to +/- *Glomus etunicatum* inoculum and three levels of phosphorus and nitrogen. Mycorrhiza, 11:151-158, 2001.
- GADKAR, V.; DAVID, S.R.; KUNIK, T. & KAPULNIK, Y. Arbuscular mycorrhizal fungal colonization. Factors involved in host recognition. Plant Physiol., 127:1493-1499, 2001.
- GAMPER, H.; PETER, M.; JANSKA, J.; LUSCHER, A.; HARTWIG, U.A. & LEUCHTMANN, A. Arbuscular mycorrhizal fungi benefit from 7 years of free air CO₂ enrichment in well-fertilized grass and legume monocultures. Global Change Biol., 10:189-199, 2004.
- GERDEMAN, J.W. Vesicular arbuscular mycorrhizas formed on maize and tulip tree by *Endogone fasciculata*. Mycologia, 57:562-575, 1965.
- GERDEMANN, J.W. & TRAPPE, J.M. The Endogonaceae in the Pacific Northwest. Mycol. Mem., 5:1-76, 1974.
- GRAHAM, J.H. Assessing costs of arbuscular mycorrhizal symbiosis in agroecosystems. In: PODILA, G.K. & DOUDS, D.D., eds. Current advances in mycorrhizae research. St. Paul, APS Press, 2000. p.127-140.
- GROSS, E.; CORDEIRO, L. & CAETANO, F.H. Nodulation and mycorrhizal infection in *Anadenanthera peregrina* var. *falcata* on autoclaved and non-autoclaved cerrado soil. R. Bras. Ci. Solo, 28:95-101, 2004.
- HAMEL, C.; BARRANTES-CARTIN, U.; FURLAN, V. & SMITH, D.L. Endomycorrhizal fungi in nitrogen transfer from soybean to maize. Plant Soil, 138:33-40, 1991.
- HAMEL, C.; LANDRY, C.; ELMI, A.; LIU, A. & SPEDDING, T. Nutrient dynamics: Utilizing biotic-abiotic interactions for improved management of agricultural soils. In: CLEMENTS, D. & SHRESSTHA, A., eds. New dimensions in agroecology. New York, The Haworth Press, 2004. p.209-248.
- HARRISON, M.J. Biotrophic interfaces and nutrient transport in plant fungal symbioses. J. Exper. Bot., 50:1013-1022, 1999.
- HELGASON, T.; WATSON, I.J. & YOUNG, J.P.W. Phylogeny of the Glomerales and diversisporales (Fungi: Glomeromycota) from actin and elongation factor 1-alpha sequences. Fems Microb. Lett., 229:127-132, 2003.
- HIJRI, M. & SANDERS, I.R. Low gene copy number shows that arbuscular mycorrhizal fungi inherit genetically different nuclei. Nature, 433:160-163, 2005.
- HIJRI, M. & SANDERS, I.R. The arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* is haploid and has a small genome size in the lower limit of eukaryotes. Fungal Gen. Biol., 41:253-261, 2004.

- HWANG, S.F.; CHANG, K.F. & CHAKRAVARTY, P. Effects of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi on the development of *Verticillium* and *Fusarium* wilts of alfalfa. *Plant Dis.*, 76:239-243, 1992.
- JAKOBSEN, I.; SMITH, S.E. & SMITH, F.A. Function and diversity of arbuscular mycorrhizae in carbon and mineral nutrition. In: van der HEIJDEN, M.G.A. & SANDERS, I., eds. *Mycorrhizal ecology*. Berlin, Springer-Verlag, 2002. p.75-92. (Ecological Studies, 157)
- JASTROW, J.D.; MILLER, R.M. & LUSSENHOP, J. Contributions of interacting biological mechanisms to soil aggregate stabilization in restored prairie. *Soil Biol. Biochem.*, 30:905-916, 1998.
- JEFFRIES, P. & BAREA, J.M. Arbuscular mycorrhiza: a key component of sustainable plant-soil ecosystems. In: HOCK, B., ed. *The mycota*. New York, Springer, 2001. v.9. p.95-113.
- JEFFRIES, P.; GIANINAZZI, S.; PEROTTO, S.; TURNAU, K. & BAREA, J.M. The contribution of arbuscular mycorrhizal fungi in sustainable maintenance of plant health and soil fertility. *Biol. Fert. Soils*, 37:1-16, 2003.
- JOHNSON, N.C.; GRAHAM, J.H. & SMITH, F.A. Functioning of mycorrhizal associations along the mutualism-parasitism continuum. *New Phytol.*, 135:575-586, 1997.
- JOLICOEUR, M.; BOUCHARD-MARCHANC, E.; BECARD, G. & PERRIER, M. Regulation of mycorrhizal symbiosis: development of a structured nutritional dual model. *Ecol. Model.*, 158:121-142, 2002.
- KARANDASHOV, V. & BUCHER, M. Symbiotic phosphate transport in arbuscular mycorrhizas. *Trends Plant Sci.*, 10:22-29, 2005.
- KIERS, E.T.; LOVELOCK, C.E.; KRUEGER, E.L. & HERRE, E.A. Differential effects of tropical arbuscular mycorrhizal fungal inocula on root colonization and tree seedling growth: implications for tropical forest diversity. *Ecol. Letters*, 3:106-113, 2000.
- KLIRONOMOS, J.N.; MCCUNE, J.; HART, M. & NEVILLE, J. The influence of arbuscular mycorrhizae on the relationship between plant diversity and productivity. *Ecol. Letters*, 3:137-141, 2000.
- LAL, R. Degradation and resilience of soils *Philos. Trans. Biol. Sci.*, 352:997-1010, 1997.
- LAMBAIS, M.R. & MEHDY, M.C. Spatial distribution of chitinases and beta-1,3-glucanase transcripts in bean arbuscular mycorrhizal roots under low and high soil phosphate conditions. *New Phytol.*, 140:33-42, 1998.
- LAMBAIS, M.R. Regulation of plant defense-related genes in arbuscular mycorrhizae. In: PODILA, G.K. & DOUDS Jr., D.D., eds. *Current advances in mycorrhizae research*. St. Paul, APS Press, 2000. p.45-59.
- LAMBAIS, M.R.; RIOS-RUIZ, W.F. & ANDRADE, R.M. Antioxidant responses in bean (*Phaseolus vulgaris*) roots colonized by arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytol.*, 160:421-428, 2003.
- LEAKE, J.R.; DONNELLY, D.P.; SAUNDERS, E.M.; BODDY, L. & READ, D.J. Rates and quantities of carbon flux to ectomycorrhizal mycelium following C-14 pulse labeling of *Pinus sylvestris* seedlings: effects of litter patches and interaction with a wood-decomposer fungus. *Tree Physiol.*, 21:71-82, 2001.

- LEAKE, J.R.; JOHNSON, D.; DONNELLY, D.P.; MUCKLE, G.E.; BODDY, L. & READ, D.J. Networks of power and influence: the role of mycorrhizal mycelium in controlling plant communities and agroecosystem functioning. *Can. J. Bot. Rev.*, 82:1016-1045, 2004.
- 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.
- LOVELOCK, C.E. & EWEL, J.J. Links between tree species, symbiotic fungal diversity and ecosystem functioning in simplified tropical ecosystems. *New Phytol.*, 167:219-228, 2005.
- LOVELOCK, C.E.; WRIGHT, S.F. & NICHOLS, K.A. Using glomalin as an indicator for arbuscular mycorrhizal hyphal growth: an example from a tropical rain forest soil. *Soil Biol. Biochem.*, 36:1009-1012, 2004.
- LUTZONI, F.; KAUFF, F.; COX, C.J.; MCLAUGHLIN, D.; CELIO, G.; DENTINGER, B.; PADAMSEE, M.; HIBBETT, D.; JAMES, T.Y.; BALOCH, E.; GRUBE, M.; REEB, V.; HOFSTETTER, V.; SCHOCH, C.; ARNOLDAE MIADLIKOWSKA, J.; SPATAFORA, J.; JOHNSON, D.; HAMBLETON, S.; CROCKETT, M.; SHOEMAKER, R.; SUNG, G.H.; LÜCKING, R.; LUMBSCH, T.; O'DONNELL, K.; BINDER, M.; DIEDERICH, P.; ERTZ, D.; GUEIDAN, C.; HALL, B.; HANSEN, K.; HARRIS, R.C.; HOSAKA, K.; LIM, Y.W.; MATHENY, B.; NISHIDA, N.; PFISTER, D.; ROGERS, J.; ROSSMAN, A.; SCHMITT, I.; SIPMAN, H.; STONE, J.; SUGIYAMA, J.; YAHR, R. & VILGALYS, R. Assembling the fungal tree of life: classification and the evolution of their their subcellular traits? *Am. J. Bot.*, 91:1446-1480, 2004.
- MALLOCH, D.W.; PIROZYNSKI, K.A. & RAVEN, P.H. Ecological and evolutionary significance of mycorrhizal symbiosis in vascular plants (a review). *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 77:2113-2118, 1980.
- MARSCHNER, H. & DELL, B. Nutrient-uptake in mycorrhizal symbiosis. *Plant Soil*, 159:89-102, 1994.
- MILLER, R.M. & KLING, M. The importance of integration and scale in the arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Plant Soil*, 226:295-309, 2000.
- MOHAMMAD, A.; MITRA, B. & KHAN, A.G. Effects of sheared-root inoculum of *Glomus intraradices* on wheat grown at different phosphorus levels in the field. *Agric. Ecosyst. Environ.*, 103:245-249, 2004.
- MOREIRA, F.M.S. & SIQUEIRA, J.O. Microbiologia e bioquímica do solo. Lavras, Universidade Federal de Lavras, 2002. v.1. 625p.
- MORTON, J.B. Evolution of endophytism in arbuscular mycorrhizal fungi of Glomales. In: BACON, C.W. & WHITE, J.H., eds. *Microbial endophytes*. New York, Marcel Dekker, 1999. p.121-140.
- MORTON, J.B. & BENNY, G.L. Revised classification of arbuscular mycorrhizal fungi (Zygomycetes): a new order, Glomales, two new suborders, Glomineae and Gigasporineae, and two new families, Acaulosporaceae and Gigasporaceae, with an emendation of *Glomaceae*. *Mycotaxon*, 37:471-491, 1990.
- MORTON, J.B. & REDECKER, D. Two new families of Glomales, Archaeosporaceae and Paraglomaceae, with two new genera *Archaeospora* and *Paraglomus*, based on concordant molecular and morphological characters. *Mycologia*, 93:181-195, 2001.

- NEHLS, U.; MIKOLAJEWSKI, S.; MAGEL, E. & HAMPP, R. Carbohydrate metabolism in ectomycorrhizas: gene expression, monosaccharide transport and metabolic control. *New Phytol.*, 150:533-541, 2001.
- NEWMAN, E.I. Mycorrhizal links between plants: their functioning and ecological significance. *Adv. Ecol. Res.*, 18:243-270, 1988.
- 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 Phytol.*, 154:809-819, 2002.
- OEHL, F. & SIEVERDING, E. *Pacispora*, a new vesicular arbuscular mycorrhizal fungal genus in the glomeromycetes. *J. Appl. Bot. Food Qual.*, 78:72-82, 2004.
- OHTOMO, R.; SEKIGUCHI, Y.; MIMURA, T.; SAITO, M. & EZAWA, T. Quantification of polyphosphate: different sensitivities to short-chain polyphosphate using enzymatic and colorimetric methods as revealed by ion chromatography. *Anal. Biochem.*, 328:139-146, 2004.
- OLSSON, P.A. & WILHELMSSON, P. The growth of external AM fungal mycelium in sand dunes and in experimental systems. *Plant Soil*, 226:161-169, 2000.
- OLSSON, P.A.; THINGSTRUP, I.; JAKOBSEN, I. & BAATH, F. Estimation of the biomass of arbuscular mycorrhizal fungi in a linseed field. *Soil Biol. Biochem.*, 31:1879-1887, 1999.
- PAULA, M.A.; SIQUEIRA, J.O. & DOBEREINER, J. Ocorrência de fungos micorrízicos vesículo-arbusculares e de bactérias diazotróficas na cultura da batata-doce. *R. Bras. Ci. Solo*, 17:319-419, 1992.
- PAWLOWSKA, T.E. & TAYLOR, J.W. Organization of genetic variation in individuals of arbuscular mycorrhizal fungi. *Nature*, 427:733-737, 2004.
- PENG, S.; EISENSTAT, D.M.; GRAHAM, J.H.; WILLIAMS, K. & HODGE, N.C. Growth depression in mycorrhizal citrus at high-phosphorus supply. *Plant Physiol.*, 101:1063-1071, 1993.
- PEREZ, Y. & SCHENCK, N.C. *Manual for the identification of VA mycorrhizal fungi*. 3.ed. Gainesville, Synergistic Publications, 1990. p.256-260.
- PFEFFER, P.E.; DOUDS, D.D.; BUCKING, H.; SCHWARTZ, D.P. & SHACHAR-HILL, Y. The fungus does not transfer carbon to or between roots in an arbuscular mycorrhizal symbiosis. *New Phytol.*, 163:617-627, 2004.
- PIROZYNSKI, K.A. & MALLOCH, D.W. The origin of land plants; a matter of mycotrophism. *Biosystems*, 6:153-164, 1975.
- RAUSCH, C.; DARAM, P.; BRUNNER, S.; JANSKA, J.; LALOI, M.; LEGGEWIE, G.; AMRHEIN, N. & BUCHER, M. A phosphate transporter expressed in arbuscule-containing cells in potato. *Nature*, 414:462-466, 2001.
- RAVEN, J.A. & EDWARDS, D. Roots: evolutionary origins and biogeochemical significance. *J. Exper. Bot.*, 52:381-401, 2001.

- REDECKER, D.; KODNER, R. & GRAHAM, L.E. Glomalean fungi from the Ordovician. *Sci.*, 289:1920-1921, 2000a.
- REDECKER, D.; MORTON, J.B. & BRUNS, T.D. Ancestral lineages of arbuscular mycorrhizal fungi (Glomales). *Molec. Phylog. Evol.*, 14:276-284, 2000b.
- RILLIG, M.C. Arbuscular mycorrhizae, glomalin, and soil aggregation. *Can. J. Soil Sci.*, 84:355-363, 2004.
- RILLIG, M.C.; WRIGHT, S.F. & EVINER, V.T. The role of arbuscular mycorrhizal fungi and glomalin in soil aggregation: comparing effects of five plant species. *Plant Soil*, 238:325-333, 2002.
- RILLIG, M.C.; WRIGHT, S.F.; NICHOLS, K.A.; SCHMIDT, W.F. & TORN, M.S. Large contribution of arbuscular mycorrhizal fungi to soil carbon pools in tropical forest soils. *Plant Soil*, 233:167-177, 2001.
- ROSENDAHL, S. & TAYLOR, J.W. Development of multiple genetic markers for studies of genetic variation in arbuscular mycorrhizal fungi using AFLP(TM). *Molec. Ecol.*, 6:821-829, 1997.
- RYAN, M.H.; MCCULLY, M.E. & HUANG, C.X. Location and quantification of phosphorus and other elements in fully hydrated, soil-grown arbuscular mycorrhizas: a cryo-analytical scanning electron microscopy study. *New Phytol.*, 160:429-441, 2003.
- SACCO, J.C. Observações sobre *Sesbania punicea* (Cav) Benth. B. Técnico Inst. Agron. Sul., 17:13-21, 1958.
- SACCO, J.C. Ocorrência de micorriza em algumas invasoras. B. Inst. Ecol. Exp. Agric., 23:41-45, 1962.
- SANDERS, I.R. Ecology and evolution of multigenomic arbuscular mycorrhizal fungi. *Am. Natur.*, 160:S128-S141, 2002.
- SANTOS, B.A.; SILVA, G.A.; MAIA, L.C. & ALVES, M.V. Mycorrhizae in Monocotyledonae of Northeast Brazil: subclasses Alismatidae, Arcidae and Zingiberidae. *Mycorrhiza*, 10:151-153, 2000.
- SCHARDL, C.L. & CRAVEN, K.D. Interspecific hybridization in plant-associated fungi and oomycetes: a review. *Molec. Ecol.*, 12:2861-2873, 2003.
- SCHLOTER, M.; DILLY, O. & MUNCH, J.C. Indicators for evaluating soil quality. *Agric. Ecosys. Environ.*, 98:255-262, 2003.
- SCHÜßLER, A. Glomales SSU rRNA gene diversity. *New Phytol.*, 144:205-207, 1999.
- SCHÜßLER, A.; BONFANTE, P.; SCHNEPF, E.; MOLLENHAUER, D. & KLUGE, M. Characterization of the geosiphon pyriforme symbiosome by affinity techniques - confocal laser scanning microscopy (clsm) and electron microscopy. *Protoplasma*, 190:53-67, 1996.
- SCHÜßLER, A.; SCHWARZOTT, D. & WALKER, C. A new fungal phylum, the Glomeromycota: phylogeny and evolution. *Mycol. Res.*, 105:1413-1421, 2001.