

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS  
EMBRAPA MANDIOCA E FRUTICULTURA TROPICAL  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MICROBIOLOGIA AGRÍCOLA  
CURSO DE MESTRADO**

**FUNGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES NA CULTURA DO  
SISAL (*Agave sisalana*): OCORRÊNCIA E DIVERSIDADE NA  
REGIÃO SEMIÁRIDA DA BAHIA**

**ADRIANE FREIRE ARAÚJO**

**CRUZ DAS ALMAS - BAHIA  
MARÇO - 2012**

**FUNGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES NA CULTURA DO  
SISAL (*Agave sisalana*): OCORRÊNCIA E DIVERSIDADE NA  
REGIÃO SEMIÁRIDA DA BAHIA**

**ADRIANE FREIRE ARAÚJO**

**Bióloga**

**Universidade Estadual da Bahia – UNEB, 2009**

Dissertação submetida ao Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agrícola da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia e Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, como requisito parcial para obtenção do Grau de Mestre em Microbiologia Agrícola.

Orientador: Dr<sup>a</sup>. Ana Cristina Fermino Soares

Co-Orientador: Dr<sup>a</sup>. Carla da Silva Sousa

Co-Orientador: Dr. Bruno Tomio Goto

**CRUZ DAS ALMAS - BAHIA  
MARÇO – 2012**

## FICHA CATALOGRÁFICA

A663

Araújo, Adriane Freire.

Fungos micorrízicos arbusculares na cultura do sisal (*Agave sisalana*): ocorrência e diversidade na Região Semiárida da Bahia / Adriane Freire Araújo. – Cruz das Almas, BA, 2012.

56f.; il.

Orientadora: Ana Cristina Fermino Soares.

Coorientadora: Carla da Silva Sousa e Bruno Tomio Goto.

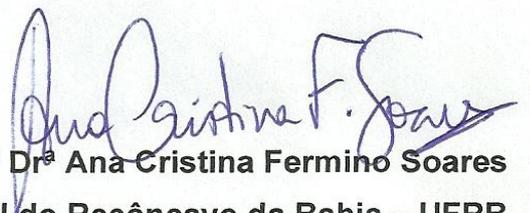
Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas.

1.Sisal – Cultivo. 2.Sisal – Fungos fitopatogênicos.  
I.Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas. II. Título.

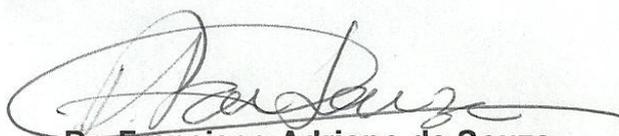
CDD: 633.577

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS  
EMBRAPA MANDIOCA E FRUTICULTURA TROPICAL  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MICROBIOLOGIA AGRÍCOLA  
CURSO DE MESTRADO**

**COMISSÃO EXAMINADORA DA DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE  
ADRIANE FREIRE ARAÚJO**



**Profª Drª Ana Cristina Fermino Soares  
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia – UFRB  
(Orientadora)**



**Dr. Francisco Adriano de Souza  
Embrapa Milho e Sorgo - CNPMS**



**Drª Lydice Sant'Anna Meira Haddad  
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia - UFRB**

**CRUZ DAS ALMAS - BAHIA  
MARÇO – 2012**

Aos meus queridos pais Oderlita e Jucinélio pelo carinho, incentivo,  
dedicação e orgulho de ter uma filha mestra e aos meus amados irmãos Alan,  
Daniela e Marcelo pela confiança, amor e carinho sempre.

**DEDICO**

## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, condutor de todos os meus passos e pensamentos.

À querida amiga Dayse, pelo incentivo a me inscrever na seleção e ser a primeira a acreditar em mim.

À minha orientadora Prof<sup>a</sup> Ana Cristina Fermino Soares, por ter acreditado no meu potencial, pelos ensinamentos, carinho e paciência.

À minha co-orientadora Carla da Silva Sousa, por ter me ensinado a dar os primeiros passos dentro do estudo da microbiologia, pelos valiosos ensinamentos, pelo carinho, paciência e amizade.

Ao meu co-orientador, Bruno Tomio Goto, pela paciência nos ensinamentos em taxonomia de FMA e pela valiosa ajuda nas identificações das espécies.

À minha estagiaria Ilana, por toda ajuda.

Aos colegas de pós-graduação Luana, Adriana, Mariza, Djlama, Almir e Diogo por sempre um apoiar o outro, pela ajuda sempre que precisei.

Às técnicas do laboratório, Lene, Vitória, Carol e Luana por me ajudar sempre.

Ao Colega Rafael e ao técnico da ADAB seu Zão, pela ajuda nas coletas de campo.

Aos agora mestres e grandes amigos, Dayse, Mateus, Aline, Patrícia e Manuela, pelo incentivo.

Aos meus pais, pelo carinho e amor incondicional.

Aos meus irmãos pela amizade e companheirismo.

Ao meu esposo Adailson Feitoza, pelo incentivo e por me ajudar sempre.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão da bolsa de estudos.

Ao Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agrícola da UFRB pela oportunidade.

A todos que de forma direta ou indireta auxiliaram nesse trabalho.

**MUITO OBRIGADA!**

# ÍNDICE

<b>RESUMO .....</b>	
<b>ABSTRACT .....</b>	
<b>1.0 INTRODUÇÃO GERAL .....</b>	<b>01</b>
<b>2.0 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....</b>	<b>03</b>
2.1 A cultura de sisal ( <i>Agave sisalana Perrine</i> ) no semiárido baiano.....	03
2.2 Fungos Micorrizicos Arbusculares .....	06
2.3 Classificação taxonômica dos Fungos Micorrizicos Arbusculares .....	08
2.4 A simbiose e seus benefícios na produção agrícola .....	11
2.4.1 Proteínas do solo relacionadas à Glomalina .....	12
<b>3.0 MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>14</b>
<b>4.0 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>24</b>
<b>5.0 CONSIDERAÇÕES FINAIS .....</b>	<b>43</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>45</b>

## RESUMO

### **ARAUJO. A. F. Fungos micorrízicos arbusculares na cultura do sisal (*Agave sisalana* Perrine): Ocorrência e diversidade na região semiárida da Bahia.**

O sisal (*Agave sisalana* Perrine) é uma cultura de grande importância para a região semiárida da Bahia, contribuindo com 94% da produção nacional de fibra de sisal, com participação expressiva na pauta de exportações da Bahia, sendo o Brasil o maior produtor mundial de sisal. Além disso, essa cultura se constitui em um fator de sobrevivência de grande parte da população da região semiárida da Bahia, por gerar emprego e renda para a maioria da população, essencialmente na agricultura familiar, em regiões onde vivem comunidades das mais carentes do Brasil. A simbiose micorrízica proporciona maior capacidade de absorção de água e nutrientes e melhor tolerância às plantas a patógenos radiculares e estresses abióticos. Contudo, não há registros científicos sobre a ocorrência e diversidade de fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) em solos cultivados com sisal, assim como estudos da relação simbiótica entre estes fungos e a cultura do sisal. Neste sentido, o objetivo deste trabalho foi avaliar a ocorrência e a diversidade de espécies de FMAs nos plantios de sisal da região semiárida da Bahia. Amostras de solo foram coletadas na camada de 0-15 cm de profundidade na época seca e chuvosa, para quantificação de proteínas do solo relacionadas à glomalina (frações total e facilmente extraível), densidade de esporos e identificação das espécies de FMAs. Raízes finas (> 2 mm) das plantas foram coletadas para determinação da colonização micorrízica. Foram registradas 34 espécies de FMAs. Os solos cultivados com sisal na região semiárida da Bahia apresentaram uma diversidade variada de FMAs, tendo ocorrência em todas as áreas de estudo, apresentando espécies não descritas na literatura, o que demonstra a necessidade de novos estudos nessas áreas.

**Palavras-chave:** Associações micorrízicas, cultura armadilha, glomalina.

## **ABSTRACT**

**ARAUJO, A. F. Mycorrhizal fungi in sisal (*Agave sisalana* Perrine) producing areas: Occurrence and diversity in the semiarid region of the State of Bahia, Brazil.**

Sisal (*Agave sisalana* Perrine) is an important crop for the semiarid region of Bahia State, contributing with 94% of the national sisal fiber production, with significant share of the exporting products of Bahia State. Brazil is the world's largest producer of sisal. Moreover, this crop represents a survival strategy of a large population of the semiarid region of Bahia, by providing income and employment for a large number of the population, mainly family farmers, in areas with the poorest communities found in Brazil. The mycorrhizal symbiosis provides greater capacity for plants to absorb water and nutrients and better tolerance to root pathogens and abiotic stresses. However, there are no scientific reports on the occurrence and diversity of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) in soils planted with sisal, as well as studies of the symbiotic relationship between these fungi and sisal plants. The objective of this study was to evaluate the occurrence and diversity of AMF species in sisal fields of the semiarid region of Bahia. Soil samples were collected at a depth of 0-15 cm in the dry and rainy season, for quantification of proteins related to soil glomalin (total and easily extractable fractions), spore density and taxonomic identification of AMF at a species level. Fine sisal roots (> 2 mm) were collected for determination of mycorrhizal colonization. A total of 34 species of AMF were recorded. The soils under sisal in the semiarid region of Bahia, presented a wide diversity of AMF, and occurrence in all areas of study, with new species not yet described in the literature, which demonstrates the need for further research in these area.

**Keywords:** mycorrhizal associations, culture trap, glomalin.

## 1.0 - INTRODUÇÃO GERAL

O sisal (*Agave sisalana* Perrine) é uma cultura de grande importância econômica e social para a região semiárida brasileira, por se constituir em uma das poucas alternativas de produção agrícola na região, que garante a sobrevivência de mais de 700.000 famílias no estado da Bahia. A cultura está difundida em 73 municípios baianos, contribuindo com 94% da produção nacional de sisal, com participação expressiva na pauta de exportações do estado da Bahia e sendo o Brasil o maior produtor mundial de sisal (ALVES & SANTIAGO, 2005).

O sisal tem grande importância para a economia do setor agrícola nordestino, merecendo destaque devido a geração de renda e emprego, proporcionando divisas para os Estados da Bahia, Paraíba e Rio Grande do Norte (EMBRAPA, 2012).

Na Bahia, o estado com maior produção e área plantada desta cultura, com mais de 95% da produção da fibra nacional, o cultivo se estende por 75 municípios atingindo uma área de 190 mil ha, em propriedades de pequeno porte. Nestes cultivos predominam a mão-de-obra familiar, abrangendo uma população de aproximadamente 700 mil famílias que vivem, direta ou indiretamente, em estreita relação com esta fibrosa (EMBRAPA, 2012).

As micorrizas arbusculares (MA) são associações entre plantas e fungos do solo pertencentes ao filo Glomeromycota (SCHÜBLER et al., 2001). O benefício da associação para a planta surge do aumento da extensão da superfície de absorção de água e nutrientes no solo, proporcionado pelas hifas e, em troca, o fungo recebe carboidratos fotoassimilados (HERRMAN et al., 2004). Essas associações proporcionam o crescimento de plantas com melhor qualidade nutricional e fitossanitária, devido ao aumento da capacidade de absorção de água e nutrientes, maior tolerância a estresses bióticos e abióticos (CAVALCANTE et al., 2001)

A simbiose micorrízica se torna importante no desenvolvimento de espécies vegetais, principalmente em regiões semiáridas (ALGUACIL et al.,

2004), uma vez que as hifas fungicas possuem maior capacidade de absorção de água e nutrientes em comparação com as raízes das plantas, resultando em melhoria nutricional e redução do estresse hídrico (PORCEL & RUÍZ-LOZANO, 2004).

São escassos os estudos sobre a ocorrência e diversidade de Fungos micorrízicos arbusculares (FMA) na cultura do sisal, e inexistentes em condições de semiárido. Neste sentido, o objetivo deste trabalho foi avaliar a ocorrência e a diversidade de espécies de FMAs em plantios de sisal na região semiárida da Bahia.

O trabalho está dividido em revisão bibliográfica sobre a cultura do sisal no semi-árido baiano, os fungos micorrízicos arbusculares, proteínas do solo relacionadas à glomalina, a simbiose e seus benefícios na produção agrícola e classificação taxonômica dos FMAs, com resultados do estudo sobre a ocorrência e diversidade dos FMAs nos plantios de sisal na região semiárida da Bahia.

## 2.0 - REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 - A cultura de sisal (*Agave sisalana* Perrine) no semiárido baiano

O sisal é originário do México, tendo sido trazido para o Brasil por volta de 1903. A partir da década de 1930, o sisal passou a ser uma alternativa econômica de produção agrícola, adaptando-se muito bem as regiões semiáridas do nordeste brasileiro onde é cultivado em largas extensões.

O sisal é uma planta semixerófila (Figura 1), altamente resistente a estiagens prolongadas, pois apresenta estruturas peculiares de defesa contra as condições de aridez, como folhas carnosas, número reduzido de estômatos e epiderme fortemente cutinizada (CNA, 2004).



Figura 1. Cultivo de sisal (*Agave sisalana*)

Esta cultura tem se destacado no semiárido da Bahia pela capacidade de geração de emprego e utilização de mão de obra familiar, por meio de uma

cadeia de serviços que abrangem, desde os trabalhos de manutenção das lavouras (baseados na mão-de-obra familiar), a extração e o processamento da fibra para o beneficiamento, até as atividades de industrialização de diversos produtos, bem como seu uso para fins artesanais. A cultura do sisal exige mão-de-obra em todas as fases de implantação, manutenção, colheita e desfibramento. A resistência do sisal ao clima adverso tem sido uma das razões por que, em algumas áreas do nordeste, os agricultores optaram pelas explorações sisaleiras (SEAGRI, 2009).

No Nordeste do Brasil, a região semiárida ocupa cerca de 800.000 km<sup>2</sup>, totalizando 11% do território nacional (DRUMOND et al., 2000). Nesta região, prevalece o clima semiárido que é caracterizado pelo alto potencial de evapotranspiração (2000 mm por ano), precipitação média de 700 mm por ano (mínima de 300 e máxima de 1000 mm) concentradas em 3 a 5 meses do ano e temperatura média de 23 a 27 °C (SAMPAIO, 1995). A região semiárida é caracterizada por forte insolação, temperaturas relativamente altas e de regime pluviométrico marcado pela escassez, irregularidade e concentração das chuvas num período de apenas três meses (NESA, 2012).

A cultura do sisal se apresenta como uma das poucas alternativas de produção agrícola e de desenvolvimento para o semiárido baiano, que se constitui em uma das regiões mais secas e mais pobres do nordeste brasileiro (PROSSIGA, 2007). Conseqüentemente, esta cultura tem grande importância social e econômica na região semiárida da Bahia, ocupando uma área de 276.126 hectares (IBGE, 2011). As exportações da fibra de sisal e seus derivados na Bahia alcançaram em 2010 o valor de US\$ 65.671.000 (SEI, 2011).

As folhas de sisal produzem uma fibra altamente resistente que é utilizada na indústria da cordoaria e tapetes e para artesanato e vassouras, bem como, na fabricação de celulose para a produção de papel Kraft (de alta resistência) e outros tipos de papel fino para cigarro, filtro, papel dielétrico, absorvente higiênico, fralda, etc. (ALVES & SANTIAGO, 2005).

A cultura está difundida em 75 municípios baianos, contribuindo com 94% da produção nacional de sisal, com participação expressiva na pauta de

exportações, sendo o estado da Bahia, o maior produtor mundial de sisal, explorando mais de 160 mil hectares (ALVES & SANTIAGO, 2005).

Os principais municípios produtores de sisal na Bahia compõem as microrregiões de Serrinha, Senhor do Bonfim, Jacobina e Euclides da Cunha e contribuem com 90% da área plantada com sisal no Estado (IBGE, 2010). A microrregião de Serrinha, também conhecida como o Território do Sisal está localizada no semiárido baiano composto por vinte municípios que expressam uma identidade histórica e sócio-cultural, sendo estes: Araci, Barrocas, Biritinga, Candeal, Cansanção, Conceição do Coité, Ichu, Itiúba, Lamarão, Monte Santo, Nordestina, Queimadas, Quijingue, Retirolândia, Santa Luz, São Domingos, Serrinha, Teofilândia, Tucano e Valente. A região apresenta uma vegetação diversificada, formada por plantas resistentes ao clima seco e árido (Figura 2).

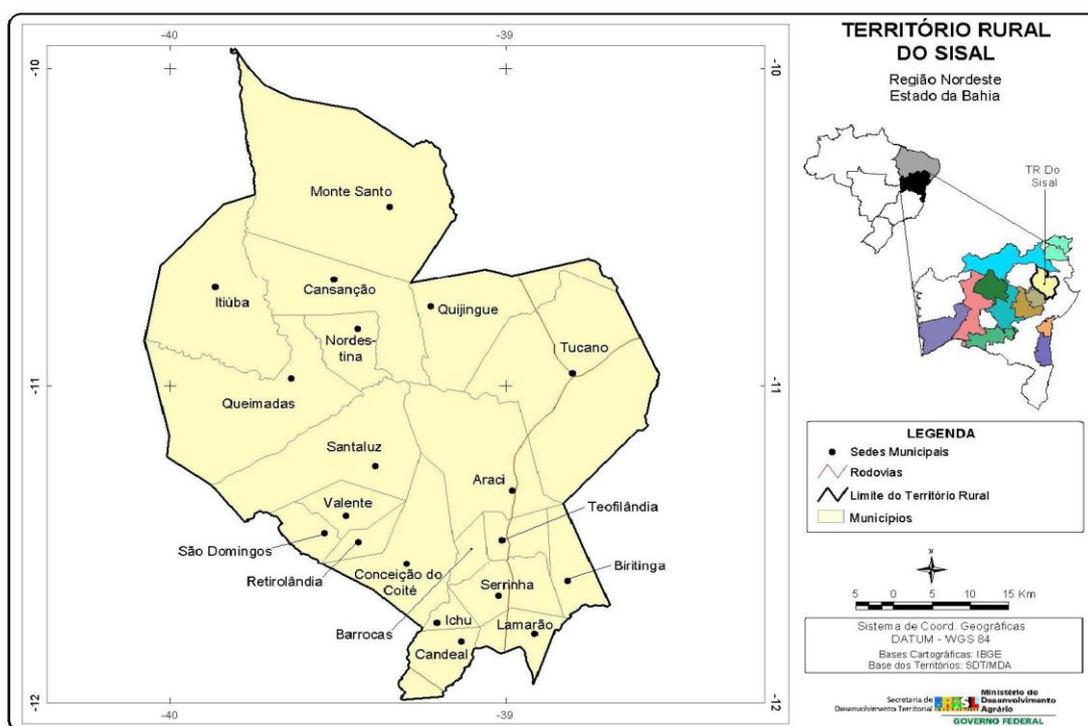


Figura 2. Mapa do Território do sisal. Fonte: SIT. Disponível em: <<http://serv-sdt-1.mda.gov.br>>.

## 2.2 - Fungos micorrizicos arbusculares

Os fungos micorrizicos arbusculares (FMAs), Filo *Glomeromycota*, são organismos biotróficos obrigatórios, que se associam com raízes de plantas vasculares terrestres, epífitas, aquáticas e também com rizóides e talos de briófitas e outros vegetais basais, formando relações simbióticas mutualistas denominadas micorriza arbuscular (MA), que são amplamente distribuídos no reino vegetal. A sua ocorrência é tão ampla que mais de 80% das plantas podem formar associações micorrizicas do tipo arbuscular, sendo esta considerada uma associação cosmopolita, reconhecida como parte importante e integral dos ecossistemas naturais de todo o mundo (GADKAR et al., 2001).

As MAs formam estruturas como arbúsculos, hifas e vesículas no interior do córtex radicular e a simbiose se estabelece pela presença dos arbúsculos que são estruturas fúngicas intracelulares que permitem a transferência de fotoassimilados da planta para o fungo (SCHROEDER & JANOS, 2004). Destacam-se dos outros tipos de micorriza por apresentarem um grau mais elevado de especialização na interface planta-fungo, com o desenvolvimento dos arbúsculos, que possibilitam um aumento de até 20 vezes da superfície de contacto planta-fungo (ENTRY et al. 2002).

O micélio fúngico que se desenvolve ao redor das raízes, explora um maior volume de solo por meio da extensão de suas hifas, facilitando a absorção e o transporte de nutrientes, principalmente os de baixa mobilidade no solo, como o fósforo. As hifas também formam interligações entre raízes de plantas, possibilitando a transferência de nutrientes entre as mesmas (BERTA et al. 2005). Desta forma, os efeitos que as MAs exercem sobre as plantas hospedeiras estão relacionados a absorção e translocação de nutrientes, entre outros benefícios (NOGUEIRA & CARDOSO, 2000).

Os efeitos de promoção de crescimento de plantas estão relacionados diretamente ao crescimento e a produção vegetal e resultam, principalmente, da ação direta do fungo na absorção de nutrientes em virtude da maior área de absorção de nutrientes pelas hifas (THOMSON et al., 1990).

Estudos em espécies vegetais diversas, em várias partes do mundo, mostram que plantas micorrizadas geralmente absorvem maiores quantidades de macro e micronutrientes, como também outros elementos como Br, Cl, Na, Al, Si (MARSCHNER & DELL, 1994; CLARK & ZETO, 2000).

A formação da simbiose é um processo dinâmico, onde diferentes combinações planta-fungo podem produzir efeitos diversos no desenvolvimento das plantas e na colonização das raízes. A colonização micorrízica representa a biomassa fungica (vesículas, arbúsculos, hifas e esporos) no interior do córtex da raiz, sendo muitas vezes influenciada pelo grau de susceptibilidade da planta, taxa de crescimento e morfologia das raízes, assim como, pelas diferentes estratégias de sobrevivência do fungo, variações ambientais e fertilidade de solo (SMITH & READ, 1997). O micélio externo do fungo é responsável não só pela absorção e transporte de nutrientes do solo para a planta, como pelo início de estabelecimento da simbiose e pela produção de novos esporos (FRIESE & ALLEN, 1991).

As regiões semiáridas são caracterizadas pela flutuação sazonal do regime de chuvas com períodos prolongados de seca afetando o crescimento das plantas e a produção de biomassa (SCHMIDT & KARNIELI, 2000). Os FMA são importantes principalmente em condições de semi-árido (baixa umidade), pois promovem a formação e estabilização de agregados através da ação física de suas hifas, resultando em melhoria da estrutura do solo, conseqüentemente, melhor retenção e disponibilização de água para as plantas (RUIZ-LOZANO & AZCÓN, 1995), através do micélio extracelular dos FMA que tem função direta na absorção e translocação de nutrientes e água para as plantas (TARAFDAR & PRAVEEN-KUMAR, 1996).

### 2.3 - Classificação taxonômica dos fungos micorrizicos arbusculares

Os FMAs pertencem ao filo *Glomeromycota*, (monofilético) proposta por SCHUßLER et al. (2001). São considerados um grupo monofilético, ou seja, um grupo de espécies derivadas de um ancestral comum, contendo todos os organismos que formam associações mutualísticas com as raízes das plantas, caracterizadas pela formação de arbúsculos (MORTON et al., 1993). Atualmente, o filo está constituído por três classes: Glomeromycetes, Archaeosporomycetes e Paraglomeromycetes; cinco ordens, 16 famílias, 31 gêneros e 230 espécies (Tabela 1) (OEHL et al. 2011a - b).

Segundo OEHL (2008) a classificação dos FMA está em constante mudança, pois novas evidências vêm surgindo, modificando a posição das espécies e dos gêneros, principalmente aqueles que constituem hoje gêneros com maior numero de espécies, tais como *Glomus* e *Acaulospora*.

A classificação de um grupo de organismos deve expressar a evolução das espécies de forma não só a revelar suas relações filogenéticas, mas também predizer através da classificação, características morfológicas, fisiológicas e comportamentais (ecológicas). Para que isso seja atingido, um conjunto de técnicas deve ser aplicado. No caso dos glomeromicetos, a classificação tem sido baseada principalmente em características morfológicas e ontogenéticas, e mais recentemente na sistemática molecular (SOUZA, 2007).

**Tabela 1.** Classificação do filo Glomeromycota

<b>Classes</b>	<b>Ordens</b>	<b>Famílias</b>	<b>Gêneros</b>			
<b>Glomeromycetes</b>	<i>Glomerales</i>	<i>Glomeraceae</i>	<i>Glomus</i>			
			<i>Funnelformis</i>			
			<i>Simiglomus</i>			
			<i>Septoglomus</i>			
			<i>Rhizophagus</i>			
			<i>Sclerocystis</i>			
			<i>Claroideoglomeraceae</i>	<i>Claroideoglomus</i>		
			<i>Viscospora</i>			
			<i>Albahypha</i>			
			<i>Diversisporales</i>	<i>Diversisporaceae</i>	<i>Tricispora</i>	
					<i>Diversispora</i>	
					<i>Redeckera</i>	
					<i>Otospora</i>	
					<i>Entrophosporaceae</i>	<i>Entrophospora</i>
					<i>Acaulosporaceae</i>	<i>Acaulospora</i>
<i>Kuklospora</i>						
<i>Sacculosporaceae</i>	<i>Sacculospora</i>					
<i>Pacisporaceae</i>	<i>Pacispora</i>					
<i>Gigasporales</i>	<i>Gigasporaceae</i>	<i>Gigaspora</i>				
		<i>Scutellosporaceae</i>	<i>Scutellospora</i>			
		<i>Orbispora</i>				
		<i>Racocetraceae</i>	<i>Racocetra</i>			
		<i>Cetraspora</i>				
		<i>Dentiscutataceae</i>	<i>Dentiscutata</i>			
		<i>Fuscutata</i>				
<i>Quatunica</i>						
<b>Archaeosporomycetes</b>	<i>Archaeosporales</i>	<i>Archaeosporaceae</i>	<i>Archaeospora</i>			
			<i>Intraspora</i>			
			<i>Ambisporaceae</i>	<i>Ambispora</i>		
		<i>Geosiphonaceae</i>	<i>Geosiphon</i>			
<b>Paraglomeromycetes</b>	<i>Paraglomerales</i>	<i>Paraglomeraceae</i>	<i>Paraglomus</i>			

Fonte: Oehl et al. 2011 a–b

Segundo GOTO & MAIA (2006), glomeromicetos produzem esporos com características únicas dentro do reino Fungi, denominados glomerosporos, pela condição monofilética do filo Glomeromycota e pela diversidade morfológica das estruturas subcelulares, tais como organização da parede dos esporos. A organização de paredes dos esporos pode ser (evanescente, unitária, laminada, expansiva, membranosa, coriácea, amorfa, chanfranulada e germinativa) e é um dos principais atributos morfológicos utilizados na caracterização morfológica desses fungos com fins taxonômicos.

Para SOUZA et. al. (2010) diversas características morfológicas e ontogenéticas dos esporos, como modo de formação, tamanho, forma, cor, tipo, estrutura e organização de paredes e sua camadas, estruturas de germinação e forma de emergência do tubo germinativo, são utilizadas para descrição e a identificação das espécies nesse grupo de fungos.

Os glomerosporos são formados de três modos diferentes: o primeiro, glomoide, onde os esporos são formados na porção terminal de uma hifa fértil ou na porção intercalar dessa hifa; o segundo, gigasporoide, quando os esporos são diferenciados na porção lateral ou terminal de uma hifa esporogênica, também denominada célula bulbosa ou célula suspensoroide; e o terceiro, acaulosporoide, quando a esporulação inicia-se com a formação de um sáculo esporífero (também chamado de vesícula-mãe), e posteriormente o esporo é formado no interior do pescoço do sáculo ou na sua lateral (SOUZA et al., 2010).

Segundo GOTO (2009), a coloração isoladamente é caráter que não permite distinguir espécies de FMA, pois a interpretação da cor pode variar de acordo com o observador, porém como característica secundária e, em conjunto com outros caracteres, pode ajudar na identificação das espécies.

Para a comparação entre as espécies de glomeromicetos, alguns pesquisadores vêm construindo e mantendo páginas na web. Três delas possuem excelentes informações sobre taxonomia e filogenia dos glomeromicetos. A página da Coleção Internacional de Fungos Micorrízicos (Vesículo) Arbusculares (<http://invam.caf.wvu.edu/>), mantida pelo Dr. Joseph

Morton e a página do Departamento de Patologia de Plantas da Universidade de Agricultura Szczecin da Polônia, mantida pelo Dr. Janusz Blaszkowski (<http://www.agro.ar.szczecin.pl/~jblaszkowski/index.html>) possuem várias descrições ilustradas com fotomicrografias de isolados mantidos nesses bancos. A página organizada e mantida pelo Dr. Arthur Schüßler (<http://www.lrz.de/~schuessler/amphylo/>) enfatiza a sistemática molecular, e traz a atual classificação filogenética dos glomeromicetos, disponibilizando também uma gama de informações úteis tais como: arquivos com alinhamentos de seqüências do gene 18S rRNA; acesso ao “index fungorum – species fungorum”; lista com o nome das espécies descritas; acesso ao texto completo de publicações originais contendo descrições de espécies de glomeromicetos; entre outras informações (SOUZA et al., 2007).

#### **2.4 - A simbiose e seus benefícios na produção agrícola**

A simbiose entre os FMAs e as raízes das plantas constitui uma das mais importantes entre micro-organismos e plantas (SMITH & READ, 1997). As plantas micorrizadas apresentam maior capacidade de absorção de nutrientes, especialmente fósforo, e maior resistência à estresses bióticos e abióticos (SOUZA & SILVA, 1996).

A importância dos FMA para a sustentabilidade de sistemas agrícolas e naturais pode ser compreendida por sua ampla ocorrência em ecossistemas naturais terrestres, pela capacidade de formar associação com pelo menos 80% das famílias de plantas fanerogâmicas, e pelos benefícios que conferem a estas (TRAPPE, 1987).

Os FMAs recebem mais de 20% dos fotossintatos produzidos pela planta hospedeira, e em troca elas se beneficiam por meio da melhoria do estado nutricional, uma vez que as hifas fungicas possuem maior capacidade de absorção de nutrientes que as raízes. Além dos benefícios nutricionais, a simbiose micorrízica promove aumento da taxa de crescimento, sobrevivência

e alocação de biomassa. Os FMAs também apresentam a capacidade de aumentar a densidade do sistema radicular, ajudando na recuperação, quando as plantas são submetidas a estresse hídrico (BRYLA & DUNIWAY, 1997).

As associações micorrízicas do tipo arbuscular ocorrem em plantas de interesse agrícola, em pastagens e florestas tropicais, praticamente em todos os ecossistemas terrestres.

#### **2.4.1 - Proteínas do solo relacionadas à Glomalina**

A glomalina identificada por Sara Wright em 1996, é um importante componente presente na parede de hifas e esporos dos FMA, que também é liberada para o solo após a morte e decomposição destas estruturas (MOREIRA & SIQUEIRA, 2006). Segundo RILLIG et al., (2001), a glomalina apresenta alta estabilidade no solo, e em condições naturais, pode permanecer até 42 anos quando ocorre sua completa mineralização, período bem superior ao de hifas, que não ultrapassa 5-7 dias, e de raízes que varia de 10 dias até a morte da planta arbórea.

A glomalina favorece a formação e estabilidade de agregados no solo, contribuindo para a melhoria da qualidade edáfica. A relação entre estabilidade de agregados do solo e concentrações de glomalina tem sido demonstrada por muitos autores (WRIGHT & ANDERSON, 2000).

Tem sido creditada à glomalina, a importante contribuição na produtividade dos ecossistemas (LUTGEN et al., 2003). A propriedade de “cola” da glomalina auxilia a fixação das partículas do solo, favorecendo a formação de agregados estáveis. A glomalina seqüestra metais pesados, reduzindo a disponibilidade e o risco de toxicidade destes elementos para organismos e plantas crescidos em solos poluídos (GONZÁLEZ-CHÁVES et al., 2004). Entre 28 e 45% da molécula de glomalina é constituída por carbono e de 0,9 a 7,3% é nitrogênio, chegando a representar de 4 a 5% do C e do N totais do solo (RILLIG et al., 2001; LOVERLOCK et al., 2004; NICHOLS & WRIGHT, 2005).

Em estudos de campo sobre a atividade dos FMA, a quantificação da glomalina apresenta-se como uma avaliação rápida, barata, objetiva e relativamente fácil de ser realizada, quando comparada a outras variáveis como densidade de esporos, comprimento das hifas, colonização radicular e potencial de inóculo (PURIN & RILLING, 2007). ROSIER et al., (2008) demonstraram que a quantificação da glomalina extraída diretamente de raízes pode ser empregada como um indicativo da taxa de colonização por FMA. RILLING et al., (2003) sugeriram que a quantificação da glomalina no solo pode constituir importante indicador de mudanças causadas pelo sistema de uso da terra e por isso poderia se tornar bom indicador de reabilitação.

### **3 - MATERIAL E MÉTODOS**

#### **3.1 - Área de estudo**

Os trabalhos foram conduzidos no Laboratório de Fitopatologia e Microbiologia Agrícola e nas estufas agrícolas da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB), Campus de Cruz das Almas, cidade de Cruz das Almas, Bahia. As amostras de solo foram coletadas em plantios de sisal localizados em nove propriedades rurais de agricultores familiares, pertencentes aos seguintes municípios produtores de sisal da região semi-árida da Bahia (Retirolândia Fazenda Rancho Alegre; Retirolândia Fazenda Água Boa; Conceição do Coité Fazenda Santa Rosa; Conceição do Coité Fazenda Maria Preta; São Domingos Fazenda Martilho; São Domingos Fazenda Lagoa do Meio; Valente; Araci e Barrocas), cujos valores de latitude, longitude e precipitação média anual estão descritos na Tabela 2.

As nove áreas de produção de sisal foram escolhidas por apresentarem diferentes características, como tipo de solo, baixo índice de podridão vermelha do sisal, uniformidade de plantio, fácil acesso as áreas e permissão do produtor.

O clima local é caracterizado pelo alto potencial de evapotranspiração (2000 mm por ano), precipitação média de 700 mm por ano (mínima de 300 e máxima de 1000 mm), concentradas em 3 a 5 meses do ano, e temperatura média de 23 a 27°C. O período chuvoso vai de novembro a março. A vegetação encontrada em todos os municípios é do tipo caatinga aberta, sem palmeiras (SEI, 2011).

**Tabela 2.** Valores de latitude e longitude áreas produtoras de sisal na região semiárida da Bahia.

<b>Áreas plantio de sisal<sup>1</sup></b>	<b>Latitude</b>	<b>Longitude</b>	<b>Precipitação média anual</b>
<b>R-FRA</b>	11° 31' 23,6"	39° 22' 30,6"	450,2 mm
<b>R-FAB</b>	11° 30' 06,7"	39° 27' 12,6"	450,2 mm
<b>C – FSR</b>	11° 30' 18,6"	39° 20' 00,0"	576,7 mm
<b>C-FMP</b>	11° 31' 18,4"	39° 16' 09,4"	576,7 mm
<b>SD-FM</b>	11° 27' 29,1"	39° 33' 09,6"	552,2 mm
<b>SD-FLM</b>	11° 26' 39,2"	39° 30' 13,1"	552,2 mm
<b>V</b>	11° 24' 22,3"	39° 30' 08,3"	503,7 mm
<b>A</b>	11° 21' 39,7"	38° 53' 03,3"	549,2 mm
<b>B</b>	11° 35' 54,2"	39° 06' 06,2"	450,2 mm

<sup>1</sup>Área: R-FRA= Retirolândia Fazenda Rancho Alegre; R-FAB= Retirolândia Fazenda Água Boa; C-FSR= Conceição do Coité Fazenda Santa Rosa; C-FMP= Conceição do Coité Fazenda Maria Preta; SD-FSM= São Domingos Fazenda Martilho; SD-FLM= São Domingos Fazenda Lagoa do Meio; V = Valente; A = Araci; B = Barrocas.  
Fonte: (EMBRAPA 2011).

### 3.2 - Coleta do solo e raízes nos plantios de sisal

Foram realizadas duas amostragens em cada área de estudo, sendo a primeira em período seco (fevereiro) e a segunda em período chuvoso (junho). As amostras de solo foram coletadas na camada de 0 a 15 cm de profundidade, na proximidade das raízes de plantas de sisal, em 10 pontos distribuídos aleatoriamente, em cada área. As amostras compostas (constituídas das 10 sub-amostras simples coletadas em cada área) contendo aproximadamente 2 kg de solo, foram acondicionadas em sacos plásticos, armazenadas em recipientes de isopor e em seguida, conservadas a 4°C em câmara fria.

Raízes finas (> 2mm) de sisal foram coletadas nas áreas, retirando toda a planta do solo e recolhendo cuidadosamente todo o sistema radicular, de modo que apenas raízes de sisal fossem coletadas. Logo após a coleta, as raízes foram lavadas e acondicionadas em recipientes de plástico contendo álcool 50%, para avaliação da colonização micorrízica.

### 3.3 - Caracterização física e química do solo

A caracterização física (Tabela 3) e química (Tabela 4) do solo foi realizada no laboratório de solos da ESALq, seguindo os seguintes procedimentos: subamostras de solo foram retiradas de cada amostra composta, para a caracterização química: pH em  $\text{CaCl}_2$  ( $0,01 \text{ mol.L}^{-1}$ ); extração de P,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{++}$  e  $\text{Mg}^{++}$  pela resina trocadora de íons;  $\text{Al}^{+3}$  trocável por titulometria ( $1 \text{ mol.L}^{-1}$ ); H+Al (acidez potencial) - pH SMP;  $\text{Na}^+$  por extração duplo ácido (ESALq, 2012). Os resultados são apresentados nas tabelas 3 e 4.

**Tabela 3.** Análise granulométrica do solo.

Área <sup>1</sup>	Areia total	Silte total (g.kg)	Argila total	Textura
<b>R-FRA</b>	842	32	126	arenoso
<b>R-FAB</b>	482	141	377	argiloso
<b>C-FSR</b>	858	16	126	argiloso
<b>C-FMP</b>	708	38	254	md-argiloso
<b>SD-FM</b>	515	117	368	argiloso
<b>SD-FLM</b>	514	94	392	argiloso
<b>V</b>	832	18	150	md-arenoso
<b>A</b>	477	102	372	argiloso
<b>B</b>	770	29	201	md-arenoso

<sup>1</sup>Área: R-FRA= Retirolândia Fazenda Rancho Alegre; R-FAB= Retirolândia Fazenda Água Boa; C-FSR= Conceição do Coité Fazenda Santa Rosa; C-FMP= Conceição do Coité Fazenda Maria Preta; SD-FSM= São Domingos Fazenda Martilho; SD-FLM= São Domingos Fazenda Lagoa do Meio; V = Valente; A = Araci; B = Barrocas.

**Tabela 4.** Caracterização química do solo das áreas produtoras de sisal na região semiárida da Bahia.

Área <sup>1</sup>	pH <sup>2</sup>	P	S	mg.dm <sup>-3</sup>						SB	CTC	V	m	M.O
				Na	K	Ca	Mg	Al	H+Al					
												%	g/ dm <sup>3</sup>	
R-FRA	5,6	7	<3	0,8	2,9	21	8	0	13	32,6	45,9	71	0	11,4
R-FAB	6,6	314	9	6,6	2,4	255	101	0	12	365,1	377,1	97	0	11,4
C-FSR	6,3	51	<3	0,8	2,5	47	13	0	10	63,8	73,4	87	1	9,7
C-FMP	6,2	18	<3	1,5	3,0	77	26	0	25	108,2	133,1	81	0	9,7
SD-FM	6,3	58	3	3,1	1,0	236	79	0	15	318,6	333,3	96	0	11,3
SD-FLM	5,3	48	3	2,0	1,4	149	68	0	47	220,4	267,3	82	0	11,3
V	5,2	7	<3	0,8	3,6	12	5	0	18	21,6	39,8	54	0	11,4
A	4,8	6	3	1,7	1,9	24	10	1	24	37,7	61,9	61	3	17,0
B	4,7	8	<3	1,2	2,9	25	7	1	25	35,8	60,7	59	1	10,6

Área: R-FRA= Retirolândia Fazenda Rancho Alegre; R-FAB= Retirolândia Fazenda Água Boa; C-FSR= Conceição do Coité Fazenda Santa Rosa; C-FMP= Conceição do Coité Fazenda Maria Preta; SD-FM= São Domingos Fazenda Martilho; SD-FLM= São Domingos Fazenda Lagoa do Meio; V = Valente; A = Araci; B = Barrocas.<sup>2</sup> pH em CaCl<sub>2</sub> (0,01 mol.L<sup>-1</sup>).

### 3.4 - Densidade de esporos de FMAs

Os esporos de FMAs foram extraídos de 50 g das amostras de solo, utilizando-se a técnica de peneiramento úmido (GERDEMANN & NICOLSON, 1963), seguido por centrifugação em água e solução de sacarose 50% (JENKINS, 1964). Neste procedimento, cada amostra de solo foi transferida para um bequer de plástico contendo 1000 ml de água, sendo esta mistura agitada manualmente para desestruturação de todos os torrões (aglomerados) de solo existentes. Na seqüência, o material foi decantado por um minuto, sendo o sobrenadante vertido sobre duas peneiras sobrepostas de malha 40µm e 400µm. O material retido nas peneiras foi transferido com auxílio de jato de água com uma piseta, para tubo plástico de centrifuga e centrifugado em água a 3000 rpm, por 3 minutos (centrifuga Fanen baby). Em seguida, o sobrenadante foi descartado e adicionou-se ao pelet a solução de sacarose 50%, até completar o volume do tubo de centrifuga (50 mL). O material foi

ressuspendido com auxílio de bastão de vidro e a suspensão centrifugada a 2000 rpm por 1 minuto. Após centrifugação, o sobrenadante foi vertido na peneira de 400 $\mu$ m e o material retido na peneira foi lavado com água potável para remoção do excesso de sacarose e acondicionado em frasco de vidro para contagem em sob auxílio de microscópio estereoscópico.

### **3.5 - Teores de glomalina facilmente extraível e total**

Para a determinação do teor de glomalina facilmente extraível (GFE) nas amostras de solo, foi utilizado o método proposto por WRIGHT & UPADHYAYA (1998). Para extração da GFE, 0,25 g de solo foram pesados e transferidos para tubos de ensaio e adicionados 2 mL de citrato de sódio (20 mM; pH 7,0). Os tubos foram devidamente identificados, vedados com papel alumínio e parafilme, e em seguida autoclavados por 30 minutos a 121°C. Após autoclavagem, o sobrenadante foi transferido para tubos de microcentrifuga tipo Eppendorf, com capacidade para 2 mL, e centrifugado a 10000 rpm por 5 minutos (centrifuga Fanen baby), e o sobrenadante imediatamente armazenado em frascos de penicilina a 4°C para a quantificação da GFE. Para a extração da glomalina total (GT), foram adicionados 2 mL de citrato de sódio (50mM; pH 8,0) ao sedimento resultante da extração da GFE, seguido de autoclavagem (121 °C/1 hora) por 3 vezes seguidas, até o sobrenadante não apresentar coloração marrom-avermelhada, característica da glomalina. Os sobrenadantes resultantes dos ciclos de extração da GT foram centrifugados a 10000 rpm por 5 minutos e armazenados em um único frasco de vidro tipo penicilina a 5° C até a quantificação. Conforme o método de BRADFORD (1976), uma alíquota de 50  $\mu$ L do sobrenadante, com 2,5 mL do reagente comassíé blue G-250 foram utilizados para quantificação dos teores de GFE e GT (mg/g de solo<sup>-1</sup>), tendo como curva-padrão o soro de albumina bovina (BSA). O carbono da glomalina (C-G) foi estimado a partir da glomalina total, considerando-se que o carbono representa 43,1% da molécula (RILLING et al., 2003) e expresso em MG.g<sup>-1</sup> solo.

### **3.6 - Culturas armadilha dos esporos das áreas de sisal**

A multiplicação das populações de FMAs foi realizada em estufa agrícola no campus de Cruz das Almas da UFRB, BA. Foram utilizadas três plantas multiplicadoras em cada vaso: o sorgo (*Sorghum sudanense*), a braquiária (*Brachiaria decumbens*) e o painço (*Panicum miliaceus* L.). As amostras compostas de solo contendo esporos e raízes, coletadas nas áreas produtoras de sisal, foram misturadas na proporção de 1:1 com areia lavada e esterilizada e transferidas para vasos plásticos com capacidade de 1,5 kg de solo. A areia lavada foi esterilizada em autoclave a 121°C, durante dois ciclos de 1,5 horas, antes de ser misturada às amostras de solo. Foram montados três vasos (repetições) para cada amostra de solo, correspondendo a três vasos por área de plantio de sisal. Antes da semeadura, as sementes das plantas hospedeiras foram desinfestadas por imersão em álcool 70% por 2 minutos, hipoclorito de sódio (1%) por 2 minutos, seguido de 3 lavagens consecutivas em água esterilizada. As sementes desinfestadas foram semeadas juntas a uma profundidade de 2 cm nos vasos contendo a mistura e solo e areia lavada, colocando-se aproximadamente 50-60 sementes de sorgo, 5-10 sementes de braquiária e 5-10 sementes de painço por vaso. Os vasos permaneceram por 120 dias em estufa agrícola, sendo irrigados diariamente com água potável. Foi realizada a aplicação mensal de 20 ml de solução nutritiva (HOOGLAND & ARNON, 1950), isenta de P, em cada vaso, de forma a manter as necessidades nutricionais das plantas. Periodicamente fez-se o rodízio na disposição física dos vasos nas bancadas da estufa agrícola.

#### **3.6.1 - Extração do número de esporos no solo**

Após 120 dias de cultivo das culturas armadilhas, esporos de FMAs foram extraídos de 50 g de amostras de solo retiradas de forma aleatória dos vasos, utilizando-se a técnica de peneiramento úmido (GERDEMANN & NICOLSON, 1963), seguido por centrifugação em água e solução de sacarose 50% (JENKINS, 1964). Após a extração, os esporos foram transferidos para

placa canaletada, e quantificados com o auxílio de um microscópio estereoscópico Nikon SMZ-U, com aumento de 40 x.

### **3.6.2 - Contagem do número de esporos no solo**

Os esporos foram separados e selecionados por morfotipo, contados e transferidos, com auxílio de uma micropipeta de 200 $\mu$ L, para lâminas microscópicas contendo uma gota de álcool polivinílico lactoglicerol (PVLG) em uma extremidade e uma gota de PVLG + reagente de Melzer na outra extremidade, colocando-se uma lamínula em cada metade da lâmina, para identificação taxonômica por meio de avaliação microscópica das características fenotípicas estruturais, conforme SCHENCK & PÉREZ (1990) e descrição das espécies, conforme as páginas do INVAM (2000).

### **3.6.3 - Identificação das espécies de FMAs**

Após contagem, os esporos provenientes das culturas armadilhas, foram separados por cor e tamanho e transferidos para lâminas com resina PVLG em uma extremidade e PVLG + Melzer em outra extremidade, colocando-se em seguida uma lamínula em cada extremidade da lâmina. As espécies foram identificadas com base na home-page das coleções internacionais de FMAs (<http://invan.caf.wvu.edu/>) e (<http://www.lrz-muenchen.de/~schuessler/amphylo/>), e publicações científicas mais recentes, contendo a descrição de novas espécies. A interpretação das características taxonômicas foi feita por meio de observações em microscópio óptico com iluminação de campo-claro e objetiva de imersão. Os esporos foram

identificados de acordo com a análise morfológica clássica. Os caracteres taxonômicos observados nos esporos foram: número e tipo de camadas das paredes e sua reação ao reagente de Melzer; características das paredes internas, quando presentes; morfologia da hifa de sustentação em variação da cor e tamanho dos esporos.

A riqueza de espécies foi determinada de acordo com o número de espécies de FMA identificadas nas amostras de solo das áreas estudadas. Para medir a similaridade de espécies entre as áreas foi utilizado o coeficiente de Sorensen (BROWER & ZAR, 1984), segundo a equação:  $S = [2c / (a + b)] * 100$ , onde: c = número de espécies comuns as duas áreas (1 e 2); a = número de espécies na área 1; e b = número de espécies na área 2. A frequência de ocorrência das espécies foi estimada segundo a equação:  $F_i = J_i / k * 100$  onde,  $J_i$  = número de amostras nas quais a espécie ocorreram; k = número total de amostras de solo.

### 3.7 - Percentagem de colonização micorrízica

As amostras de raízes de sisal, coletadas nas épocas seca e chuvosa, e preservadas em álcool 50%, foram lavadas com água de torneira, clarificadas com KOH, acidificadas com HCl e coradas com azul de tripano de acordo com o método de KOSKE & GEMMA (1989). Para a quantificação da colonização micorrízica, foram montadas, para cada repetição, 10 lâminas com 10 segmentos de aproximadamente 1 cm de raiz em cada lâmina, sendo as raízes embebidas em glicerol ácido e com uma lamínula cobrindo a superfície superior destas. As raízes coradas e montadas em lâminas foram analisadas para presença ou ausência de estruturas de fungos micorrízicos, em microscópio óptico com iluminação de campo-claro e objetiva de imersão, Os dados da colonização micorrízica radicular foram analisados pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

### 3.8 - Extração do DNA total e amplificação por PCR das raízes do campo

Foram realizadas extração de DNA total e amplificação por PCR das amostras de raízes de sisal, coletadas na época chuvosa, e preservadas a -80°C. O DNA total das amostras das raízes foi extraído utilizando o protocolo descrito por LI (2000). Após extração, o DNA foi ressuspensionado em 50 µL de tampão TE e armazenado a -20°C para posterior uso. Várias diluições (1/10, 1/50 e 1/100) do DNA extraído foram preparadas e 2µL foram utilizados como amostra para amplificação (ALGUACIL et al. 2011). Fragmentos do gene RNA ribossomal foram amplificados usando *nested* PCR com *primers* universais para eucariotos NS1 e NS4 (tabela 4) (WHITE et al., 1990). A reação de PCR foi realizada utilizando o kit da Fermentas (Life Science). Para a primeira reação de amplificação foram utilizados 2,5 µL de PCR Buffer (10X); 2,0 µL dNTPs (10 mM); 2,0 µL de MgCl<sub>2</sub> (50 mM); 1,25 µL de cada *primer* (10 µM); 0,3 µL de Taq DNA Polimerase (5 U/µL) e cerca de 30 ng de DNA e H<sub>2</sub>O ultra pura para volume final de 25 µL, utilizando as seguintes condições de termociclagem: 94°C – 3'; seguido por 30 ciclos de 94°C – 30"; 40°C – 1'; 72°C – 1', seguido por uma etapa de extensão final de 72°C – 10'. A segunda reação foi realizada utilizando 2 µL de várias diluições seriadas (1/10, 1/20, 1/50 e 1/100) provenientes do produto da primeira reação de PCR, usando os primers AML1 e AML2 (Tabela 5) (LEE et al., 2008), com especificidade para Glomeromycota. A reação foi realizada utilizando as mesmas concentrações dos reagentes da primeira reação e com volume final para 25µL, utilizando as seguintes condições de termociclagem: 94°C – 3'; seguido por 30 ciclos de 94°C – 1'; 50°C – 1'; 72°C – 1' e 72°C – 10'. A quantidade e qualidade dos produtos amplificados foram analisados em gel de agarose a 1,0%, corado com brometo de etídio.

**Tabela 5.** *Primers* utilizados para determinação molecular da presença de FMA em amostras de raízes de sisal.

<b>Primer</b>	<b>Sequência (5'- 3')</b>	<b>Referência</b>
NS1	GTA GTC ATA TGC TTG TCT C	WHITE et al., 1990
NS4	CTT CCG TCA ATT CCT TTA AG	WHITE et al., 1990
AML1	ATC AAC TTT CGA TGG TAG GAT AGA	LEE, et al., 2008
AML2	GAA CCC AAA CAC TTT GGT TTC C	LEE, et al., 2008

### 3.9 - Análise estatística

Os resultados foram submetidos a análise de variância e teste de Scott e Knott, a 5% de probabilidade, para a comparação das médias, utilizando o programa estatístico SISVAR (FERREIRA, 2000). Os dados referentes à densidade de esporos e percentagem de colonização micorrízica foram transformados, respectivamente, por  $(x + 0,5)$  e  $\text{arc sen } x / 100$  (BANZATTO & KRONKA, 1992).

## 4.0 – RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1- Densidade de esporos de amostras de campo e da cultura armadilha

Nas amostras de solo coletadas em campo, a densidade de esporos variou de 269,3 a 720,0 esporos em 50 g de solo, no período seco, e de 197,3 a 672,0 esporos em 50 g de solo no período chuvoso (Tabela 6).

**Tabela 6.** Densidade de esporos no solo de áreas produtoras de sisal na região semiárida da Bahia.

Área <sup>1</sup>	Densidade de Esporos (50g de solo)			
	Campo		Cultura armadilha	
	S	C	S	C
Período <sup>2</sup>				
<b>R-FRA</b>	314,7cA	376,7cA	615,0cA	443,7bA
<b>R-FAB</b>	300,3cA	299,3cA	3330,0aA	465,7bB
<b>C-FSR</b>	269,3cA	197,3dA	2562,0bA	1341,3aB
<b>C-FMP</b>	720,0aA	672,0aA	2797,3bA	454,3bB
<b>SD-FM</b>	564,3bA	348,7cB	3842,7aA	671,3bB
<b>SD-FLM</b>	510,0bA	347,0cB	3027,7bA	698,3bB
<b>V</b>	551,0bA	473,0bA	827,7cA	678,3bA
<b>A</b>	545,0bA	485,7bA	2482,3bA	632,7bB
<b>B</b>	589,7bB	756,7aA	3553,3aA	946,7aB
<b>cv(%)</b>	8,01		9,51	

<sup>1</sup>Área: R-FRA= Retirolândia Fazenda Rancho Alegre; R-FAB= Retirolândia Fazenda Água Boa; C-FSR= Conceição do Coité Fazenda Santa Rosa; C-FMP= Conceição do Coité Fazenda Maria Preta; SD-FM= São Domingos Fazenda Martilho; SD-FLM= São Domingos Fazenda Lagoa do Meio; V = Valente; A = Araci; B = Barrocas. <sup>2</sup>Período: S = seco; C: chuvoso. Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Scott & Knott a 5% de probabilidade. Letras minúsculas comparam na coluna as diferentes áreas em cada período e letras maiúsculas comparam na linha a área nos dois períodos.

Nas amostras de campo em ambos os períodos, maiores valores foram registrados nas amostras da área de Conceição do Coité “Fazenda Maria

Preta”, com solo médio argiloso, com  $18 \text{ mg.dm}^3$  de fósforo e  $\text{pH} = 6,2$  (Tabelas 3 e 4). No período chuvoso, valores elevados foram observados também na área de Barrocas (Tabela 6), sem diferença significativa daqueles observados na área de Conceição do Coité “Fazenda Maria Preta” (Tabela 6). As áreas de São Domingos apresentaram maior densidade de esporos no período seco, enquanto que a área de Barrocas apresentou uma densidade de esporos 28,3% superior no período chuvoso. Nas demais áreas, não foram observadas diferenças significativas em relação à densidade de esporos entre os períodos seco e chuvoso (Tabela 6).

Esperava-se que no período seco fossem encontradas densidades maiores de esporos nas amostras de solo, de campo, considerando que os fungos tendem a esporular em condições de estresse, a exemplo do estresse por deficiência hídrica. Segundo HART & READER (2002), a esporulação é uma estratégia de sobrevivência dos FMA em condições adversas. Os esporos são estruturas de resistência, e tendem a apresentar maior esporulação nos períodos de estiagem (CAPRONI et al., 2000). Entretanto, OCHOA-MEZA et al., (2009) observaram em *Agave angustifolia* que a maior esporulação de fungos micorrízicos ocorreu no verão, período de temperaturas benéficas para o crescimento do *Agave* e com chuvas. Estes autores afirmam que a temperatura teve um efeito mais marcante na esporulação de FMAs, sem aparentemente estar associado ao *Agave angustifolia* e que o número de esporos variou de 9.200 a 43.500 esporos por  $\text{dm}^3$  de solo, pertencentes a 32 morfotipos. A esporulação em determinados períodos está mais relacionada com a fisiologia do fungo (PRINGLE & BEVER, 2002; LUTGEN et al., 2003) e influenciada pela disponibilidade de fotoassimilados do hospedeiro (MORTON et al., 1993).

Em relação à amostragem realizada no período seco, foram registradas maiores densidades de esporos no solo das culturas armadilhas referentes às áreas de São Domingos “Fazenda Martilho”, Barrocas e Retirolândia “Fazenda Água Boa” (Tabela 6), que não diferiram estatisticamente. Nas culturas armadilhas, a densidade de esporos foi significativamente maior para as culturas montadas com as amostras de solo coletadas no período seco, o que pode ser consequência de outras variáveis como forma agregada como os

esporos são encontrados no solo, função da distribuição, morfologia e idade fisiológica das raízes. Segundo ANDERSON et al., (1983) a densidade de esporos de FMA na rizosfera geralmente é bastante variável. O aumento na densidade de esporos nas amostras de culturas armadilhas em relação às de campo, pode ser explicada pelo fato de estarem em um ambiente controlado em casa de vegetação, com irrigação e com três diferentes plantas hospedeiras. Diferentes espécies de plantas hospedeiras criam habitats ao redor de suas raízes, permitindo a colonização de espécies distintas de FMA (CARRENHO et al. 2001).

No período de chuvas, as maiores densidades de esporos foram observadas nas culturas armadilhas montadas com solo das áreas de Conceição do Coité “Fazenda Santa Rosa” e Barrocas, (Tabela 6), sendo estes inferiores aos valores observados para as amostras coletadas no período seco. Não houve diferença significativa entre as demais áreas. Com exceção das áreas de Retirolândia “Fazenda Rancho Alegre” e Valente, em todas as demais áreas avaliadas foram observadas maiores densidades de esporos nas culturas armadilhas instaladas com solo coletado no período seco.

Estudos recentes sobre diversidade molecular de FMAs têm demonstrado que estes fungos têm preferências por hospedeiros, ou seja, apresentam especificidade hospedeira e diferentes espécies vegetais são colonizadas por diferentes comunidades de FMAs, apesar da falta de especificidade de alguns fungos ser descrita e estes terem sido associados a uma variedade muito grande de espécies e ambientes (OPIK et al., 2006).

## **4.2 - Colonização Micorrízica**

No período seco, maiores taxas de colonização micorrízica foram observadas nas áreas de Conceição do Coité “Fazenda Santa Rosa” (66,0 %), Retirolândia “Fazenda Água Boa” (64,0 %), Valente (65,6 %), São Domingos “Fazenda Martilho (65,0 %) e São Domingos “Fazenda Lagoa do Meio” (62,6 %). No período chuvoso, os maiores valores foram observados nas áreas de

Retirolândia “Fazenda Água Boa (47,6 %), Conceição do Coité “Fazenda Maria Preta (55,6 %), São Domingos “Fazenda Martilho” (50,3 %), São Domingos “Fazenda Lagoa do Meio” (45,0 %), Valente (56,6 %) e Barrocas (48,6 %) (Tabela 7).

**Tabela 7.** Colonização radicular de plantas de sisal nas áreas produtoras de sisal na região semiárida da Bahia.

Área <sup>1</sup>	Colonização Radicular (%)	
	Período <sup>2</sup>	
	S	C
R-FRA	51,0bA	41,3bA
R-FAB	64,0aA	47,6aB
C-FSR	66,0aA	34,0bA
C-FMP	52,3bA	55,6aA
SD-FM	65,6aA	50,3aA
SD-FLM	62,6aA	45,0aB
V	65,6aA	56,6aA
A	47,3bA	33,0bB
B	52,0bA	48,6aA
<b>cv(%)</b>	<b>10,59</b>	

<sup>1</sup>Área: R-FRA= Retirolândia Fazenda Rancho Alegre; R-FAB= Retirolândia Fazenda Água Boa; C-FSR= Conceição do Coité Fazenda Santa Rosa; C-FMP= Conceição do Coité Fazenda Maria Preta; SD-FM= São Domingos Fazenda Martilho; SD-FLM= São Domingos Fazenda Lagoa do Meio; V = Valente; A = Araci; B = Barrocas. <sup>2</sup>Período: S = seco; C: chuvoso. Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Scott & Knott a 5% de probabilidade. Letras minúsculas comparam na coluna as diferentes áreas em cada período e letras maiúsculas comparam na linha a área nos dois períodos.

A área de Retirolândia “Fazenda Água Boa” apresentou o maior nível de fósforo, comparada às demais áreas e as maiores taxas de colonização radicular, em média de 64% no período seco e 47% no período chuvoso, enquanto que a área de Araci, com menor nível de fósforo, apresentou colonização radicular de 47% no período seco e a menor porcentagem entre todas as áreas, de apenas 33% no período chuvoso.

Apesar do nível de fósforo no solo poder influenciar a esporulação, a colonização e a diversidade de espécies de FMA presentes no solo (SIQUEIRA, 1994), no presente trabalho ocorreu correlação negativa entre o nível de fósforo e a colonização na área de Retirolândia “Fazenda Água Boa”. Segundo SIQUEIRA et al., (1984) o fato de algumas combinações fungo-hospedeiro, mesmo sob alto nível de fósforo disponível, apresentarem taxa de colonização alta, indica que os mecanismos de controle podem diferir entre vários hospedeiros e fungos.

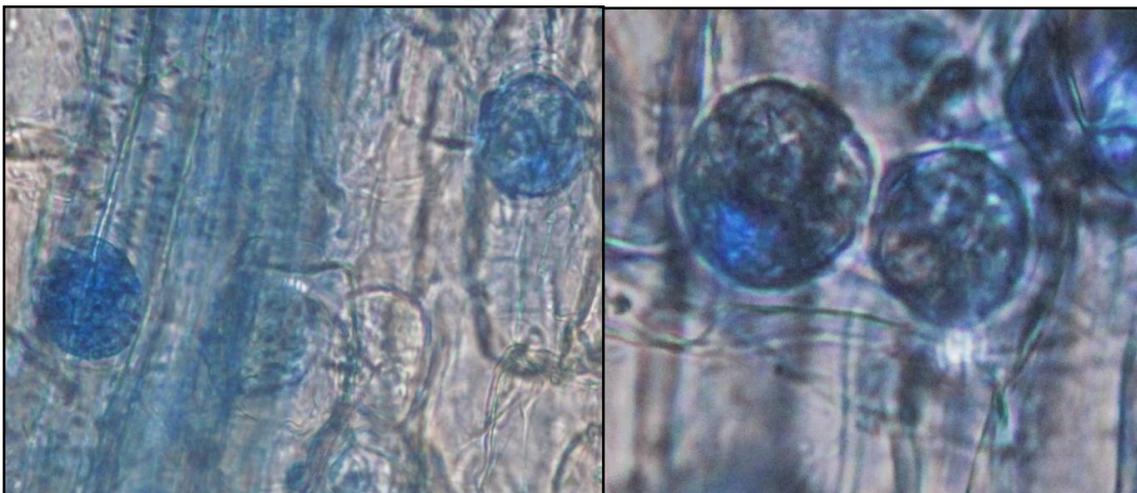
Foram observadas maiores porcentagens de colonização radicular no período chuvoso, nas áreas de Barrocas, Valente, São Domingos “Fazenda Lagoa do Meio”, São Domingos “Fazenda Martilho”, Conceição do Coité “Fazenda Maria Preta” e Retirolândia Fazenda Água Boa” (Tabela 7). Maiores porcentagens de colonização radicular no período chuvoso podem ser explicadas pela disponibilidade de água neste período, que favorece o crescimento radicular e o metabolismo da planta, refletindo na maior disponibilidade de fotoassimilados para a planta, o que deverá favorecer uma maior colonização radicular pelo fungo.

Entretanto, é importante ressaltar que elevada colonização radicular por FMAs pode não ser pré-requisito para respostas positivas no crescimento vegetal, para todas as plantas inoculadas com FMAs. REQUENA et al., (1996) observaram que fungos nativos foram ineficientes em promover o crescimento de *Anthyllis cytisoides*, apesar da ocorrência de elevadas percentagens de colonização radicular pelo fungo. Por outro lado, CARAVACA et al., (2003) demonstraram correlação positiva entre colonização e aumento da biomassa aérea de plantas.

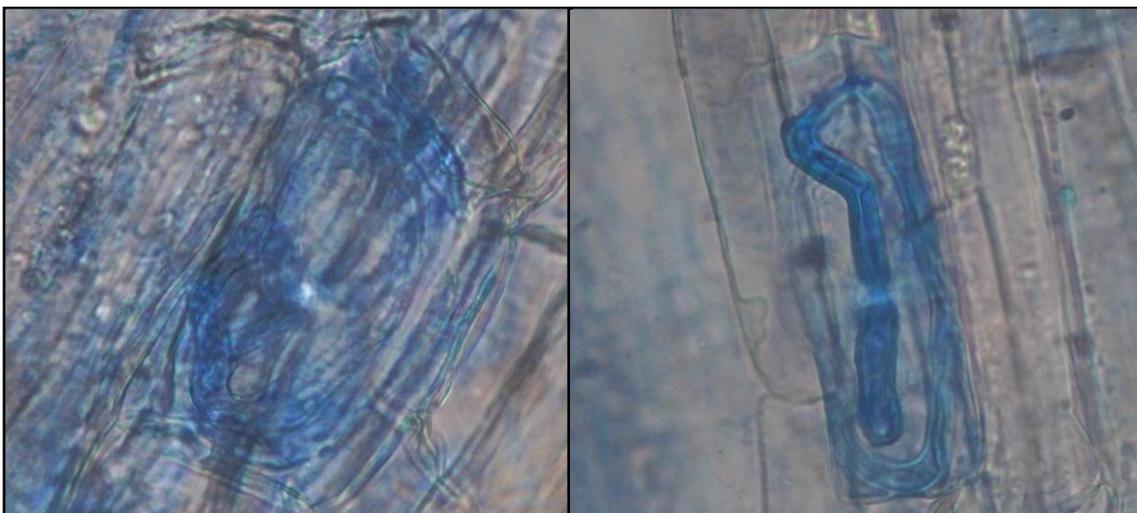
OCHOA-MEZA et al. (2009), estudaram a rizosfera e raízes de *Agave angustifolia* na região ocidental da Serra de Madre, em Sonora, México, nas quatro estações do ano e concluíram que o sódio, potássio e magnésio foram os fatores abióticos mais importantes em relação a dinâmica estacional de FMAs associados a *A. angustifolia*. Para estes autores, os fatores bióticos mais importantes foram a relação micélio extraradicular, micélio intraradicular, micélio extraradicular e massa seca das raízes.

Estudos futuros deverão ser conduzidos para uma melhor compreensão da interação *Agave sisalana* – FMAs e o papel destes fungos na adaptação desta planta as condições adversas da região semiárida da Bahia.

Foram observados esporos (Figura 3) e hifas (Figura 4) de FMA nas raízes de sisal. Não foram observados arbúsculos nas raízes de sisal.



**Figura 3.** Raiz de sisal com esporos de FMA. Raiz corada com azul de tripano e observada com aumento de 100x.



**Figura 4.** Raiz de sisal colonizada com hifas de FMA. Raiz corada com azul de tripano e observada com aumento de 100x.

### 4.3 - Teores de Glomalina

Os teores de glomalina facilmente extraível (GFE) variaram entre 0,18 e 1,15 mg.g de solo<sup>-1</sup> no período seco e entre 0,59 e 3,02 mg.g de solo<sup>-1</sup> no período chuvoso. Maiores teores de GFE foram observados na área de São Domingos “Fazenda Lagoa do Meio” no período seco, enquanto que durante o período chuvoso, a área de Retirolândia “Fazenda Água Boa” foi a que apresentou maiores teores de GFE (Tabela 8). Os teores de GFE nas amostras de solo de Retirolândia “Fazenda Água Boa” variaram significativamente do período seco para o chuvoso, aumentando de 0,94 mg. g de solo<sup>-1</sup> no período seco para 3,02 mg. g de solo<sup>-1</sup> no período chuvoso. Com exceção da área de Retirolândia “Fazenda Água Boa”, todas as outras áreas apresentaram valores menores no período seco (Tabela 8).

O teor de GFE nas áreas variou entre 0,18 a 1,15 mg.g solo<sup>-1</sup> no período seco e de 0,59 a 3,02 mg.g de solo<sup>-1</sup> no período chuvoso, valores que são consistentes aos valores encontrados por SOUZA (2009), que obteve teores de GFE nas áreas variando entre 1,17 a 1,66 mg.g solo<sup>-1</sup> no período chuvoso e de 1,25 a 1,62 mg.g de solo<sup>-1</sup> no período seco, em áreas de caatinga no semiárido Paraibano, áreas correspondentes a diferentes estádios sucessionais de caatinga, (pasto com vegetação herbácea; estágio inicial com vegetação composta de arbustos e herbáceas; estágio intermediário com vegetação composta de herbáceas, arbustos e árvores; e estágio tardio com caatinga madura).

**Tabela 8.** Teor de glomalina facilmente extraível (GFE), glomalina total (GT) e carbono da glomalina (C-G) nas áreas produtoras de sisal na região semiárida da Bahia, nos períodos seco (S) e chuvoso (C).

Área <sup>1</sup>	GFE		GT (mg.g solo <sup>-1</sup> )		C-G	
	Período <sup>2</sup>					
	S	C	S	C	S	C
<b>R-FRA</b>	0,18bB	0,75cA	0,07cB	1,79eA	0,03dB	0,77eA
<b>R-FAB</b>	0,94bB	3,02aA	4,10aB	7,09aA	1,77aB	3,07aA
<b>C-FSR</b>	0,54bA	0,52cA	1,43cA	1,68eA	0,62cA	0,73eA
<b>C-FMP</b>	0,53bB	1,22bA	1,30cB	4,10cA	0,56cB	1,77cA
<b>SD-FM</b>	0,21bB	1,06bA	0,97cB	4,39cA	0,42cB	1,90cA
<b>SD-FLM</b>	1,15aA	1,64bA	3,16bB	5,07bA	1,36bB	2,19dA
<b>V</b>	0,31bA	0,59cA	1,11cA	1,72eA	0,48cA	0,75eA
<b>A</b>	0,37bB	1,34 bA	0,91cB	2,89cA	0,39cB	1,24dA
<b>B</b>	0,32bB	0,87cA	1,17cB	2,76cA	0,50cB	1,19dA
<b>cv(%)</b>	37,07		15,19		15,18	

<sup>1</sup>Área: R-FRA= Retirolândia Fazenda Rancho Alegre; R-FAB= Retirolândia Fazenda Água Boa; C-FSR= Conceição do coité Fazenda Santa Rosa; C-FMP= Conceição do Coité Fazenda Maria Preta; SD-FM= São Domingos Fazenda Martilho; SD-FLM= São Domingos Fazenda Lagoa do Meio; V = Valente; A = Araci; B = Barrocas. <sup>2</sup>Período: S = seco; C: chuvoso. Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Scott & Knott a 5% de probabilidade. Letras minúsculas comparam na coluna as diferentes áreas em cada período e letras maiúsculas comparam na linha a área nos dois períodos.

Os teores de glomalina total (GT) variaram entre 0,07 e 4,10 mg. g de solo<sup>-1</sup> no período seco e entre 1,68 e 7,09 mg. g de solo<sup>-1</sup> no período chuvoso. A área de Retirolândia “Fazenda Água Boa” apresentou maiores teores de GT no período seco e no período chuvoso (Tabela 8).

Os menores valores de (GT) foram observados nas áreas de Retirolândia “Fazenda Rancho Alegre”, Conceição do Coité “Fazenda Santa Rosa”, Conceição do Coité “Fazenda Maria Preta”, São Domingos “Fazenda Martilho”, Valente, Araci e Barrocas. Conceição do Coité “Fazenda Santa Rosa” e Valente foram as únicas áreas que não apresentaram variação significativa entre os períodos seco e chuvoso, com relação a GT (Tabela 8).

O micélio extraradicular de FMAs contribuí para a formação e manutenção de agregados do solo (BEDINI et al., 2009; RILING et al., 2010),

pela produção de glomalina, uma glicoproteína que age como elemento de cola para as partículas do solo (WRIGHT & ANDERSON, 2000).

A maior quantidade de GT nas áreas pode estar relacionada ao acúmulo dessa proteína ao longo do tempo, visto que RILLIG et al., (2004) afirmaram que a glomalina apresenta alta estabilidade no solo, podendo permanecer por 42 anos, até a sua mineralização completa.

É possível que os maiores teores de GT nas áreas em Retirolândia “Fazenda Água Boa” estejam relacionados ao maior teor de argila nos solos, uma vez que estes minerais promovem proteção física à molécula, contra a ação de microrganismos decompositores. Embora os mecanismos que regulam a produção de glomalina ainda não estejam bem compreendidos (PURIN & RILLIG, 2007) acredita-se que características do solo, condições climáticas, presença e tipo de vegetação, espécie fúngica, dentre outros fatores, podem influenciar nas concentrações de glomalina presentes nos solos (WRIGHT et al., 1996; RILLIG et al., 2001; WRIGHT & ANDERSON, 2002).

O carbono da glomalina (C-G) variou entre 0,03 e 1,77 mg.g de solo<sup>-1</sup> no período seco e entre 0,73 e 3,07 no período chuvoso (Tabela 8). Foram obtidos os maiores valores de carbono da glomalina (C-G) no período chuvoso. O maior valor em relação às áreas foi o de Retirolândia “Fazenda Água Boa” no período chuvoso. O menor valor entre as áreas foi registrado no período seco em Retirolândia “Fazenda Rancho Alegre” e no período chuvoso em Retirolândia “Fazenda Rancho Alegre” e Valente. Apenas Conceição do Coité “Fazenda Santa Rosa” e Valente não apresentaram diferenças significativas entre os períodos seco e chuvoso. Entre as áreas, foi observada uma variação de 0,03 mg. g de solo<sup>-1</sup> em Retirolândia “Fazenda Rancho Alegre”, para 1,77 mg. g de solo<sup>-1</sup> em Retirolândia “Fazenda Água Boa”, no período seco. No período chuvoso, a maior variação entre as áreas foi de 0,77 mg. g de solo<sup>-1</sup> em Retirolândia “Fazenda Rancho Alegre” para 3,07 mg. g de solo<sup>-1</sup> em Retirolândia “Fazenda Água Boa” (Tabela 8).

#### 4.4 - Identificação das espécies de FMAs

A identificação taxonômica dos esporos de FMAs foi realizada apenas para os esporos provenientes das culturas armadilhas. Segundo MORTON (1993), a identificação de esporos de FMAs coletados diretamente no campo, geralmente é uma tarefa difícil de ser executada, pois os esporos muitas vezes encontram-se com as paredes degradadas ou parasitados, eliminando características necessárias a sua correta identificação. A técnica de multiplicação de FMAs utilizando culturas armadilhas permite a recuperação dos esporos de tal forma que possam ser identificados, além de possibilitar a esporulação de espécies que não apareceram nas amostras de campo.

Foram registradas 34 espécies de FMA, distribuídas nos gêneros, *Acaulospora* (7 espécies), *Glomus* (5 espécies), *Racocetra* (5 espécies), *Paraglomus* (3 espécies), *Ambispora*, *Pacispora*, *Rhizophagus* e *Sclerocystis* (2 espécies), *Dentiscutata*, *Entrophospora*, *Gigaspora*, *Septoglomus* e *Claroideoglomus* (1 espécie) (Tabela 9).

Embora tenham sido identificadas 34 espécies, é possível que a riqueza de FMAs seja maior que a encontrada. De acordo com BEVER et al., (1996) a multiplicação de esporos em cultura armadilha, embora ajude a recuperar alguns fungos, não possibilita a recuperação de todos os esporos presentes no solo, pois a taxa de esporulação depende, além de outros fatores, da planta hospedeira. Além da multiplicação em cultura armadilha, os fatores ambientais também influenciam a ocorrência e distribuição das espécies de FMA e muitas espécies de FMA são de ocorrência generalizada em regiões de clima similar (ALLEN et al, 1995).



<i>Racocetra gregária</i>		X											X	X					
<i>Racocetra intraornata</i>		X											X	X	X				
<i>Racocetra sp.</i>	X					X													
<i>Septoglomus sp.</i>									X		X	X							
<b>Riqueza de espécies</b>	9	14	10	5	5	10	4	5	9	3	5	9	5	8	8	4	8	6	

<sup>1</sup>Área: R-FRA= Retirolândia Fazenda Rancho Alegre; R-FAB= Retirolândia Fazenda Água Boa; C-FSR= Conceição do coité Fazenda Santa Rosa; C-FMP= Conceição do Coité Fazenda Maria Preta; SD-FSM= São Domingos Fazenda Martilho; SD-FLM= São Domingos Fazenda Lagoa do Meio; V = Valente; A = Araci; B = Barrocas.

<sup>2</sup> Período: S = seco; C: chuvoso

O gênero *Acaulospora* foi o que apresentou maior ocorrência, com sete espécies relatadas, sendo a espécie *Acaulospora scrobiculata* com frequência em cinco áreas (Retirolândia “Fazenda Rancho Alegre”; Conceição do Coité “Fazenda Santa Rosa”; São Domingos “Fazenda Martilho”; São Domingos “Fazenda Lagoa do Meio” e Barrocas). As espécies mais seletivas do gênero *Acaulospora* que ocorreram em apenas uma área independente de período foram: *Acaulospora cavernata* (Conceição do Coité “Fazenda Santa Rosa”) e *Acaulospora longula* (Conceição do Coité “Fazenda Santa Rosa”).

Um fato que pode explicar a maior ocorrência do gênero *Acaulospora* é a capacidade de melhor adaptação deste gênero a ambientes quentes e áridos, como discutido por TAO & ZHIWEI (2005), os quais sugerem que esta adaptação se deve ao pequeno tamanho dos esporos, característica deste gênero. O tamanho reduzido dos esporos poderia conferir uma vantagem adaptativa a este gênero ao estresse hídrico (BRUNDRETT et al., 1999). Além disto, TAO & ZHIWEI (2005) discutem que espécies com esporos pequenos teriam maiores vantagens em colonizar raízes de plantas hospedeiras. A prevalência deste gênero em ambientes com características semelhantes às encontradas na região semiárida do Nordeste, também foram reportadas por WILSON et al., (1992), os quais relatam a maior ocorrência deste gênero em solos cultivados com *Terminalia* spp., numa reserva florestal tropical, localizada na Costa do Marfim, onde as temperaturas médias anuais são em torno de 26 a 27°C.

O gênero *Glomus*, teve ocorrência em cinco áreas (Tabela 8). ALGUACIL et al., (2009) descreveram a predominância de espécies de *Glomus* em florestas tropicais, áreas agrícolas e solos *Gypsiium*. *Glomus* pode ser predominante por ser mais adaptado as condições peculiares de salinidade desses solos e devido a capacidade alta de esporulação e capacidade de colonizar por meio de fragmentos de micélio, o que permite melhor sobrevivência e propagação, conforme descrito por (OHL et al., 2003).

VANDENKOORNHUYSE et al.,( 2011) citam que a comunidade de FMAs pode variar muito em função da espécie hospedeira, mesmo dentro do mesmo ecossistema e, nas condições estudadas por estes autores, estes

fungos não apresentaram muita variação, estando alguns mais ligados ao manejo da cultura.

A ocorrência de espécies de *Glomus* é também explicada por CARRENHO, (2001) quando afirma que diferenças na morfologia (cor, tamanho e espessura das paredes) podem contribuir para o sucesso de espécies deste gênero, pois esporos pequenos tendem a ser carregados com a água da chuva, para as porções mais profundas do solo, sendo assim protegidos do ataque de parasitas e predadores que povoam as regiões mais superficiais do solo, onde a deposição de matéria orgânica é maior.

Os esporos de *Gigaspora* não foram identificados ao nível de espécie e não foi observada a ocorrência destes nas áreas de Retirolândia “Fazenda Água Boa”, São Domingos “Fazenda Martilho” e Araci. O gênero *Gigaspora* teve ocorrência nos dois períodos nas áreas de Valente e Araci, e em apenas um período nas áreas de Retirolândia “Fazenda Rancho Alegre”; Conceição do Coité “Fazenda Santa Rosa” e Conceição do Coité “Fazenda Maria Preta”.

Dentro do gênero *Ambispora*, a espécie mais seletiva foi *Ambispora callosa*, ocorrendo apenas na área de Retirolândia “Fazenda Água Boa” no período seco.

*Pacispora boliviana* foi a única espécie identificada do gênero *Pacispora*, registrada no período chuvoso na área de Retirolândia “Fazenda Rancho Alegre” e no período seco na área de Conceição do Coité “Fazenda Santa Rosa”.

A espécie de maior ocorrência do gênero *Paraglomus*, foi *Paraglomus occultum*, a qual só não foi observada em Conceição do Coité “Fazenda Maria Preta” e “Fazenda Santa Rosa”. *P. occultum* ocorreu em apenas um período na mesma área, e nos dois períodos na área de São Domingos “Fazenda Lagoa do Meio”. A espécie *Paraglomus laccatum* ocorreu apenas na área de Retirolândia “Fazenda Água Boa”, no período seco.

FERROL et al., (2004) encontraram apenas cinco espécies de fungos micorrízicos num ecossistema semi-árido na Espanha, província de Alicante,

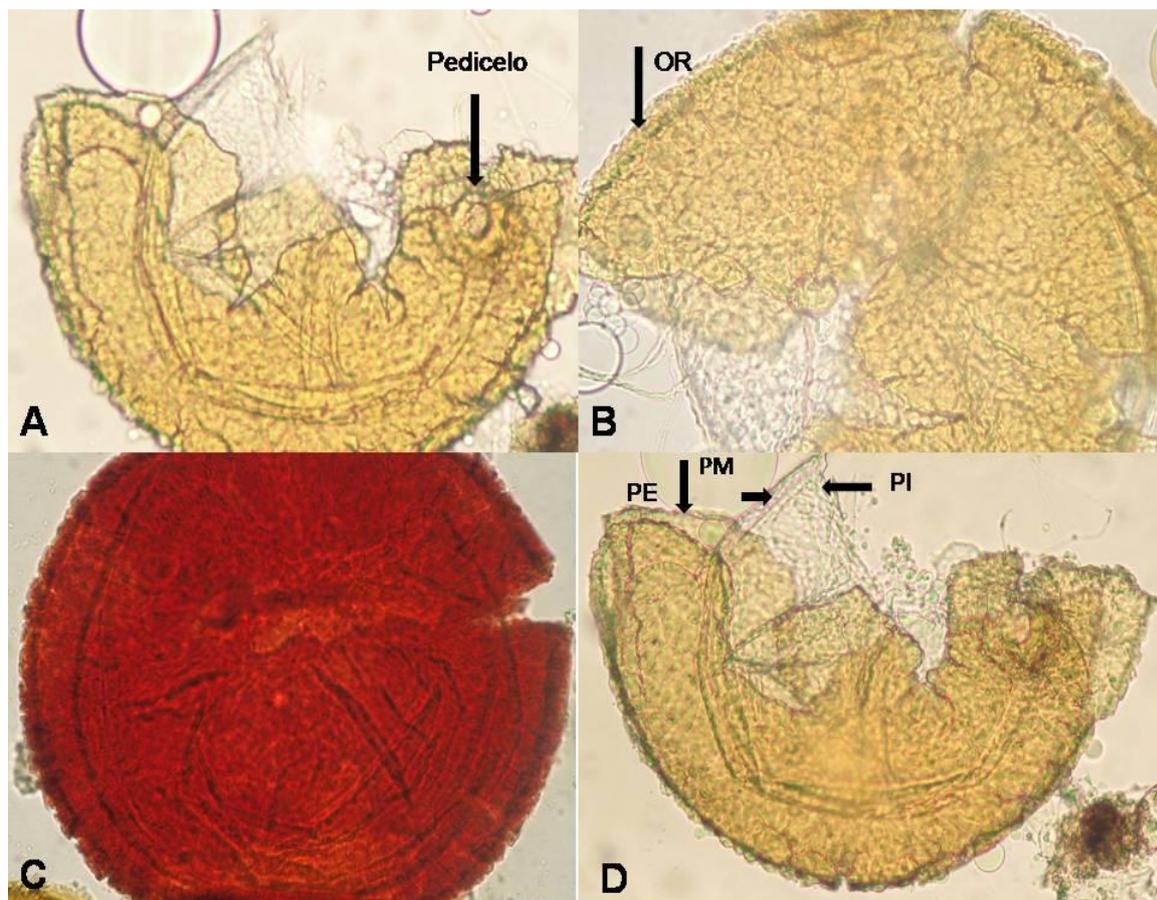
confirmando o elevado grau de degradação dessas áreas, com predominância de *Glomus* e *Paraglomus*. *Paraglomus occultum* foi encontrado por FERROL et al., (2004) e por ALGUACIL et al., (2011), como uma das espécies mais abundantes (95% de similaridade nos estudos moleculares com *P. occultum*). Fungos que formam esporos pequenos são mais adaptados para germinação e colonização de raízes de plantas em ambientes de estresse como os das regiões semi-áridas (JACOBSON, 1997). ALGUACIL et al., (2011) demonstraram que existe preferência de hospedeiros por FMAs e diferentes espécies vegetais tem diferentes comunidades de FMAs colonizando as raízes. VANDENKOORNHUYSE et al., (2011) em estudos de ecologia microbiana, demonstraram que a comunidade de fungos micorrízicos é dependente da espécie de planta.

A espécie de maior ocorrência nas áreas de plantio de sisal foi *Ambispora appendicula* (Figura 5), em ambos os períodos seco e chuvoso, ocorrendo em oito das nove áreas analisadas, apenas não sendo registrada na área de Conceição do Coité “Fazenda Maria Preta” e, segundo SPAIN et al., (2006), esta espécie de *Ambispora* é facilmente distinguida das demais espécies pela ornamentação da parede media.

Três espécies do gênero *Racocetra* foram encontradas, sendo que a de maior ocorrência foi *Racocetra intraornata*, observada em três áreas e na área de Valente teve ocorrência nos dois períodos.

Foram registradas duas espécies do gênero *Rhizophagus*, sendo que a espécie *Rhizophagus intraradices* ocorreu em seis das nove áreas e a espécie *Rhizophagus clarus*, teve ocorrência apenas na área de Retirolândia “Fazenda Água Boa”.

O gênero *Sclerocystis*, teve ocorrência de duas espécies, *Sclerocystis sinuosa* ocorrendo em quatro áreas e *Sclerocystis coreomioides* de ocorrência na área de Valente. *Claroideoglomus* teve apenas uma espécie registrada, *Claroideoglomus etunicatum*, de ocorrência em cinco áreas.



**Figura 5. *Ambispora appendicola*:** (A) Detalhe do pedicelo; (B) Ornamentação (OR); (C) Forte reação ao Melzer; (D) Parede Externa (PE), parede média (PM) e parede interna (PI).

O gênero *Septoglomus* teve apenas uma espécie registrada, uma espécie nova que está sendo descrita (dados a publicar), tendo ocorrência nas áreas de São Domingos “Fazenda Martilho”, no período seco, e São Domingos “Fazenda Lagoa do Meio”, em ambos os períodos.

Todos os gêneros e espécies identificados nas amostras de solo estudadas neste trabalho tem registro de ocorrência no Brasil, com exceção do *Septoglomus* sp. (SOUZA, 2010), que está sendo registrada como espécie nova, além de *Pacispora boliviana* e *Paraglomus laccatum*.

Quanto à ocorrência das espécies identificadas, também já haviam sido citadas as espécies de *Glomus occultum* e *Acaulospora scrobiculata* em área de caatinga, na Bahia (SILVA, 2000). *Acaulospora scrobiculata*, *A. excavata*, *A. longula* e *Paraglomus occultum* foram identificadas no perímetro irrigado do

Vale do Submédio São Francisco, em Pernambuco (YANO-MELO, 2002) e *Acaulospora scrobiculata* foi identificada em agrossistemas no sertão de Pernambuco (MAIA & TRUFEM, 1990), mas sem registros destas espécies em plantios de sisal (*Agave sisalana*) na região semiárida da Bahia e nem em outras regiões do Brasil e no mundo.

Das 34 espécies identificadas nas áreas de cultivos de *A. sisalana* no semiárido da Bahia, segundo SOUZA, (2010), 20 espécies já haviam sido relatadas em áreas de caatinga no Brasil e destas, nove espécies (*A. excavata*, *A. scrobiculata*, *Ambispora appendicola*, *Entrophospora infrequens* e *Paraglomus occultum*) foram relatadas em áreas de caatinga no estado da Bahia.

O índice de similaridade entre as áreas com relação às espécies de FMAs foi maior entre as áreas de São Domingos “Fazenda Lagoa do Meio” e São Domingos “Fazenda Martilho” com 66,6% e entre Araci e Barrocas também com 66,6%. O índice menor foi relatado entre as áreas São Domingos “Fazenda Lagoa do Meio” e Valente com 20% (Tabela 10).

**Tabela 10.** Índice de similaridade (%) de riqueza de espécies de fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) entre as áreas produtoras de sisal estudadas na região semiárida da Bahia.

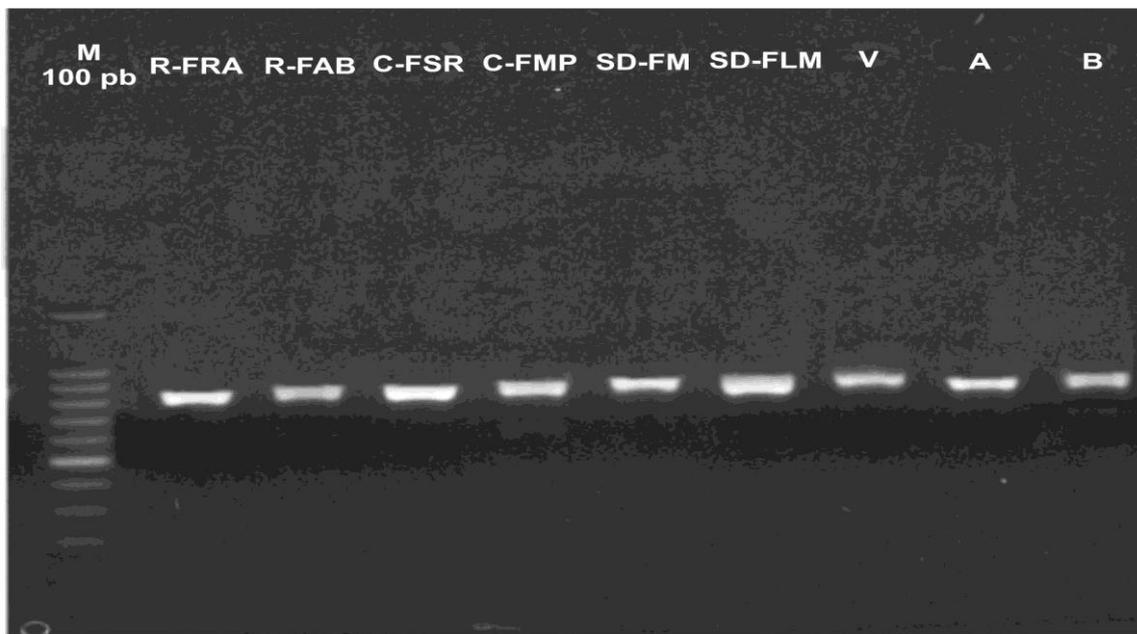
Área <sup>1</sup>	Área <sup>1</sup>								
	R-FRA	R-FAB	C-FSR	C-FMP	SD-FM	SD-FLM	V	A	B
<b>R-FRA</b>	—	24,2	51,4	33,3	45,1	50,0	46,6	56,2	51,6
<b>R-FAB</b>	24,2	—	38,4	38,0	45,4	43,4	28,5	34,7	36,3
<b>C-FSR</b>	51,4	38,4	—	43,4	41,6	40,0	34,7	32,0	50,0
<b>C-FMP</b>	33,3	38,0	43,4	—	42,1	30,0	22,2	30,0	42,1
<b>SD-FM</b>	45,1	45,4	41,6	42,1	—	66,6	31,5	38,0	40,0
<b>SD-FLM</b>	50,0	43,4	40,0	30,0	66,6	—	20,0	36,3	38,0
<b>V</b>	46,6	28,5	34,7	22,2	31,5	20,0	—	50,0	63,1
<b>A</b>	56,2	34,7	32,0	30,0	38,0	36,3	50,0	—	66,6
<b>B</b>	51,6	36,3	50,0	42,1	40,0	38,0	63,1	66,6	—

<sup>1</sup>Área: R-FRA= Retirolândia Fazenda Rancho Alegre; R-FAB= Retirolândia Fazenda Água Boa; C-FSR= Conceição do coité Fazenda Santa Rosa; C-FMP= Conceição do Coité Fazenda Maria Preta; SD-FSM= São Domingos Fazenda Martilho; SD-FLM= São Domingos Fazenda Lagoa do Meio; V = Valente; A = Araci; B = Barrocas.

O índice de similaridade alto, de 66,6 % encontrado entre Araci e Barrocas pode ser explicado por as áreas apresentarem características químicas do solo semelhantes como o pH. Araci apresentou pH de 4,8 e Barrocas de 4,7. O mesmo ocorre nas áreas de São Domingos “Fazenda Martilho” e São Domingos “Fazenda Lagoa do Meio” com valores de pH de 6,3 e 5,3, respectivamente.

#### 4.5 - Extração de DNA das raízes

Os resultados indicaram que as raízes das plantas de sisal estavam colonizadas por fungos do Filo Glomeromycota, para todas as nove amostras de DNA extraído das raízes de sisal, as quais geraram produtos de PCR com tamanho de banda esperado de aproximadamente 795 pb para fungos (Figura 6).



**Figura 6 – Gel de eletroforese em agarose 1,0 %.** M: marcador com 100 pares de bases. Área: R-FRA= Retirolândia Fazenda Rancho Alegre; R-FAB= Retirolândia Fazenda Água Boa; C-FSR= Conceição do coité Fazenda Santa Rosa; C-FMP= Conceição do Coité Fazenda Maria Preta; SD-FSM= São Domingos Fazenda Martilho; SD-FLM= São Domingos Fazenda Lagoa do Meio; V = Valente; A = Araci; B = Barrocas.

A extração de DNA foi realizada para confirmar a colonização por FMAs das raízes de sisal provenientes do campo. Entretanto, destaca-se que foram utilizados os *primers* AML1 e AML2, específicos para Glomeromicota, embora tenha sido constatado que poucos estudos foram desenvolvidos utilizando estes *primers* para amostras coletadas no campo. ALGUACIL et al., (2011) utilizando os mesmos *primers*, sequenciaram as bandas amplificadas e verificaram que cerca de 34,1% das sequências analisadas não pertenciam a FMA, pertencendo especificamente a seqüências da planta hospedeira, demonstrando desta forma, um potencial problema na utilização destes *primers* para identificação de FMA em raízes e amostras de solos. No entanto, estes *primers* não amplificaram sequências de DNA de fungos Ascomicetos e/ou Basidiomicetos, diferentemente dos *primers* AM1 e NS31 que são amplamente utilizados para determinação de FMAs (HELGASON et al., 2002; SANTOS-GONZÁLEZ et al., 2007; ALGUACIL et al., 2009). Ainda, segundo ALGUACIL et al. (2011), mesmo apresentando esta limitação, esta abordagem oferece a melhor cobertura para detecção da ordem Glomeromicota, uma vez que estes *primers* amplificam sequências de famílias divergentes de Paraglomeraceae e Archaeospraceae. LEE et al., (2008) sugerem que para eliminar a inespecificidade destes *primers* pode-se aumentar a estrigência do mesmo, como por exemplo, aumentar a temperatura de anelamento, uma vez que utilizando a temperatura de 50°C, apenas duas de 14 espécies de plantas do seu trabalho foram amplificadas. Sendo assim, esta abordagem pode ser utilizada para casos em que haja dúvida quanto a colonização de raízes por FMAs.

## 5.0 - CONSIDERAÇÕES FINAIS

As culturas armadilha com o uso de mais de uma planta hospedeira contribuíram para a detecção e registro da ocorrência de FMAs em ambiente semiárido, em plantios de sisal.

O nível de fósforo no solo não influenciou a esporulação, a colonização radicular do sisal por FMAs e a diversidade de espécies de FMAs presentes no solo, em áreas de cultivo de sisal, na região semiárida da Bahia.

Foram observados esporos e hifas de FMA nas raízes de sisal, mas não foram observados arbúsculos. Maiores densidades de esporos foram observadas nas amostras de solo coletadas no período chuvoso.

Independente do período seco ou chuvoso houve maior ocorrência de espécies do gênero *Acaulospora* nos plantios de sisal, na região semiárida da Bahia. A ocorrência do gênero *Acaulospora* pode estar associada a capacidade de melhor adaptação deste gênero a ambientes quentes e áridos, esta adaptação se deve ao pequeno tamanho dos esporos, característica deste gênero. O tamanho reduzido dos esporos pode conferir uma vantagem adaptativa a este gênero ao estresse hídrico, os esporos pequenos teriam maiores vantagens em colonizar raízes de plantas hospedeiras.

Todos os gêneros e espécies identificados nas amostras de solo estudadas neste trabalho tem registro de ocorrência no Brasil, com exceção do *Septoglomus* sp, *Pacispora boliviana* e *Paraglomus laccatum*.

Este estudo apresenta resultados pioneiros sobre a diversidade de espécies de FMA em cultivos de sisal na região semiárida da Bahia, revelando uma variedade na diversidade destes fungos, ocorrendo também espécies não descritas na literatura, evidenciando a necessidade de maiores estudos nessas áreas.

Estudos futuros deverão ser conduzidos para uma melhor compreensão da interação *Agave sisalana* – FMAs e o papel destes fungos na adaptação desta planta as condições adversas da região semiárida da Bahia.

A utilização de *primes* específicos para grupos de FMA pode servir de suporte para confirmação de colonização das raízes em plantas como *Agave sisalana*, em casos em que as técnicas de coloração das raízes e observação microscópica deixam dúvidas quanto à colonização micorrízica.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDERSON, R.C., LIBERTA, A.E., DICKMAN, L.A.; KATZ, A.J. Spatial variation in vesicular-arbuscular mycorrhiza spore density. **Bulletin of the Torrey Botanical Club**, v. 110, p.519-525, 1983.

ALLEN, E.B., ALLEN, M.F., HELM D.J., TRAPPE, J.M., MOLINA, R, RINCON, E. Patterns and regulation of mycorrhizal plant and fungal diversity. **Plant and Soil**, v. 170, p. 47-62, 1995.

ALLEN, E.B., RINCON, E., ALLEN, M.F., JIMENEZ, A.P., HUANTE, P. Disturbance and seasonal dynamics of mycorrhizae in a tropical deciduous forest in México. **Biotropica**, v. 30, p. 261-274, 1998.

ALGUACIL, M. M.; DIAZ-PEREIRA, E.; CARAVACA, F.; FERNANDEZ, D. A.; ROLDÁN, A. Increased diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in a long-term Field experiment via application of organic amendments to a semiarid degraded soil. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 75, p. 4254-4263, 2009a.

ALGUACIL, M. M, ROLDÁN A, TORRES M. P, Assessing the diversity of AM fungi in arid gypsophilous plant communities. **Environmental Microbiology**, v. 11, p. 2649–2659, 2009b.

ALGUACIL, M. M ROLDÁN A, TORRES M. P, Complexity of Semiarid Gypsophilous Shrub Communities Mediates the AMF Biodiversity at the Plant Species Level. **Microbial Ecology**, v. 57, p. 718–727, 2009c.

ALGUACIL, M. M.; TORRES, M. P.; TORRECILLAS, E.; DÍAZ, G.; ROLDÁN, A. Plant type differently promote the arbuscular mycorrhizal fungi biodiversity in the rhizosphere after revegetation of a degraded, semiarid land. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 43, p. 167-173, 2011.

ALGUACIL, M. M.; HERNÁNDEZ, J. A.; CARAVACA F.; PORTILLO, B.; ROLDÁN, A. Antioxidant enzyme activities in shoots from three mycorrhizal shrub species afforested in a degraded semi-arid soil. **Plant Physiology**, v.118, p.562–570, 2004.

ALVES, M. O.; SANTIAGO, E. G. Tecnologia e relações sociais de produção no setor sisaleiro nordestino. In: Congresso da Sociedade Brasileira de Economia e Sociologia Rural, 28. Ribeirão Preto. **Anais**. Ribeirão Preto, CD-ROM. 2005.

Banco de Dados Pluviométricos e Pedológicos do Nordeste. Disponível em: <http://www.ceinfo.cnpat.embrapa.br/pluvsolo/> acesso em 30\11\2011.

BANZATTO, D.V.; KRONKA, S. do N. **Experimentação agrícola**. Jaboticabal: FCAV/UNESP, 247 p. 1992.

BEDINI, S., PELLEGRINO, E., AVIO, L., PELLEGRINI, S., BAZZOFFI, P., ARGESE, E., GIOVANNETTI, M, Changes in soil aggregation and glomalin-related soil protein content as affected by the arbuscular mycorrhizal fungal species *Glomus mosseae* and *Glomus intraradices*. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 41, n.7, p.1491-1496, 2009.

BEVER, J.D.; MORTON, J.; ANTONOVICS, J.; SCHULTZ, P.A. Host dependent sporulation and species diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in a mown grassland. **Journal of Ecology**, v. 84, n. 1, p. 71-82, 1996.

BENDAVID-VAL, R.; RABINOWICH, H.D.; KATAN, J. & KAPULNIK, Y. Viability of VA-mycorrhizal fungi following soil solarization and fumigation. **Plant Soil**, v. 195, p. 185-193, 1997.

BERTA, G.; SAMPÒ, S.; GAMALERO, E.; MASSA, N.; LEMANCEAU, P. Suppression of *Rhizoctonia* root-rot of tomato by *Glomus mosseae* BEG12 and *Pseudomonas fluorescens* A6RI is associated with their effect on the pathogen growth and on the root morphogenesis. **European Journal of Plant Pathology**, v.111, p.279–288, 2005.

BRADFORD, M.M. A rapid and sensitive method for the quantification of micrograms quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analyses Biochemists**, v. 72, p. 248-254, 1976.

BRYLA, D.R. & DUNIWAY, J.M. Effects of mycorrhizal infection on drought tolerance and recovery in safflower and wheat. **Plant and Soil**, v. 197, p.95–103, 1997.

BROWER, J.E.; ZAR, H. Community similarity. In: BROWER, J.E. & ZAR, J.H. (eds.). **Field & Laboratory for General Ecology**. Win C. Brown Publishers. Dubuque, Iowa, p. 161-164, 1984.

BOWEN, G. D. The biology and physiology of infection and its development. In: SAFIR, G. R. (Ed.). **Ecophysiology of VA mycorrhizal plants**. Boca Raton: CRC Press, p. 27-57. 1987.

BRUNDRETT, M.C., ABBOTT, L.K., JASPER, D.A. Glomalean mycorrhizal fungi from tropical Australia: I. Comparison of the effectiveness and specificity of different isolation procedures. **Mycorrhiza**, v. 8, p. 305–314, 1999.

BRUNDRETT, M.C, Coevolution of roots and mycorrhizas of land plants. **New Phytologist**, v. 154, p. 275–304, 2002.

CAPRONI, A.L. **Fungos micorrízicos arbusculares em áreas reflorestadas remanescentes da mineração de bauxita em Porto Trombetas/PA**. 186f. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2001.

CARAVACA, F, BAREA, J. M, PALENZUELA, J, FIGUEROA, D, ALGUACIL, M. M, ROLDÁN, A, Establishment of shrub species in a degraded semiarid site after inoculation with native or allochthonous arbuscular mycorrhizal fungi. **Applied Soil Ecology**, v. 22, p. 103-111, 2003.

CARAVACA, F ALGUACIL, M. M, BAREA, J. M., ROLDÁN, A., Survival of inocula and native AM fungi species associated with shrubs in a degraded Mediterranean ecosystem. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 37, p. 227-233, 2005.

CARAVACA, F.; ALGUACIL, M. M.; FIGUEROA, D.; BAREA, J. M.; ROLDÁN, A. Re-establishment of *Retama sphaerocarpa* as a target species for reclamation of soil physical and biological properties in a semi-arid Mediterranean area. **Forest Ecology and Management**, v.182, p.49–58, 2003.

CAVALCANTE, U.M.T., MAIA, L.C., COSTA, C.M.C. & SANTOS, V.F. Mycorrhizal dependency of passion fruit (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*). **Fruits**, v. 56, p. 317–324, 2001.

CLARK, R. B.; ZETO, S. K. Mineral acquisition by arbuscular mycorrhizal plants. **Journal of Plant Nutrition**, v. 23, n. 7, p. 867-902, 2000.

CNA. Sisal: problemas e soluções. Disponível em: <<http://www.cna.org.br>> Acesso em: 5 fev. 2004.

CARRENHO, R.; TRUFEM, S.F.B.; BONONI, V.L.R. Fungos micorrizicos vesiculoarbusculares em rizosferas de tres especies de fitobiontes instaladas em area de mata ciliar revegetada. **Acta Botânica Brasílica**, v. 15, n.1, p.115-124, 2001.

CAPRONI, A.L.; FRANCO, A.A.; ABOUD, A.C. de S.; BERBARA, R.L.L.; GRANHA, J.R. de O. Diversidade de fungos micorrízicos arbusculares em áreas degradadas pela mineração de bauxita e reflorestadas com espécies florestais nativas em Porto Trombetas-PA. In: Reunião Brasileira de Fertilidade Do Solo E Nutrição De Plantas, 24., Reunião Brasileira Sobre Micorrizas, 8., Simpósio Brasileiro De Microbiologia Do Solo, 6., Reunião Brasileira De Biologia Do Solo, 3., Oct. 2000, Santa Maria-RS. p.186 **Biodinâmica do solo. Resumos...** Santa Maria: SBCS, SBM, 2000. FERTBIO 2000.

CESARO, P, TUINEN, D. V, COPETTA, A, CHATAGNIER, O, BERTA, G, GIANINAZZI, S, LINGUA, G, Preferential Colonization of *Solanum tuberosum* L. roots by the fungus *Glomus intraradices* in arable soil of a potato farming area. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 74, n.18, p.5776-5783, 2008.

COLOZZI-FILHO, A.; BALOTA, E. L. Micorrizas arbusculares. In: HUNGRIA, M.; ARAUJO, R. S. (Ed.). **Manual de métodos empregados em microbiologia agrícola**. Brasília: Embrapa, p. 383-418, 1994.

DELIAN, E, CHIRA, A, CHIRA L, SAVULESCU E, Arbuscular mycorrhizae: an overview. **South Western Journal Horticulture, Biology and Environment**, p. 167-192, 2011.

DOYLE, J.J. E J.L. DOYLE. Isolation of plant DNA from fresh tissue. **Focus**, v. 2, p. 13-15, 1990.

DRUMOND, M.A.; KIILL, L.H.P.; LIMA, P.C.F.; OLIVEIRA, M.C.; OLIVEIRA, V.R.; ALBUQUERQUE, S.G.; NASCIMENTO, C.E.S.; CAVALCANTE, J. Estratégias para uso sustentável da biodiversidade da caatinga. In: **Workshop de avaliação e identificação de ações prioritárias para a conservação, utilização sustentável e repartição de benefícios da biodiversidade do bioma Caatinga**. Petrolina, PE, 23 p. 2000.

Empresa Baiana de Desenvolvimento Agrícola. Disponível em: <http://www.ebda.ba.gov.br/>. Acesso em 10 de dezembro de 2011.

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Disponível em: <http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Sisal/CultivodoSisal/index.html>. Acesso em: Jan 2012.

Experimental Station, 2000. Disponível em: <<http://invam.caf.wvu.edu>>. Acesso em: 10 mai. 2009.

ENTRY, J. A.; RYGIWICZ, P. T.; WATRUD, L. S.; DONNELLY, P. K. Influence of adverse soil conditions on the formation and function of arbuscular mycorrhizae. **Advances in Environmental Research**, v.7, p.123–138, 2002.

EVANS, D. G.; MILLER, M. H. The role of the external mycelial network in the effect of soil disturbance upon vesicular-arbuscular mycorrhizal colonization of maize. **New Phytologist**, v. 114, n. 4, p. 65-71, Dec. 1990.

FERREIRA, D. F. Análises estatísticas por meio do Sisvar para Windows versão 4.0. IN: REUNIAO ANUAL DA REGIAO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA, 45, São Carlos, **Programa e resumos...** São Carlos: UFSCar, p. 255-258, 2000.

FERROL, N, CALVENTE, R, CANO, C, BARREA, J. M, AZCÓN-AGUILAR, C, Analysing arbuscular mycorrhizal fungal diversity in shrub associated resource islands from a desertification-threatened semiarid Mediterranean ecosystem. **Applied Soil Ecology**, v. 25, p. 123-133, 2004.

FRIESE, C.F.; ALLEN, M.F. The spread of VA mycorrhizal fungal hyphae in the soil: Inoculum types and external hyphal architecture. **Mycologia**, v. 83, n. 4, p.409-418, 1991.

GADKAR, V.; DAVID-SCHWARTZ, R.; KUNIK, T.; KAPULNIK, Y. Arbuscular mycorrhizal fungal colonization. factors involved in host recognition. **Plant Physiology**, v.127, p. 1493-1499, 2001.

GERDEMANN, J. W.; NICOLSON, T. H. Spores of mycorrhizal endogene species extracted from soil by wet sieving and decanting. **Transaction British Mycological Society**, London, v. 46, n. 3, p. 235-244, 1963.

GIOVANNETTI, M.; MOSSE, B. An evaluation of techniques for measuring VA mycorrhizal infection in roots. **New Phytologist**, Cambridge, v. 84, n. 3, p.489-500, 1980.

GONZALEZ-CHAVEZ, M.C.; CARRILLO-GONZALEZ, R.; WRIGHT, S.F.; NICHOLS, K.A. The role of glomalin, a protein produced by arbuscular mycorrhizal fungi, in sequestering potentially toxic elements. **Environmental Pollution**, v. 130, p. 317-323, 2004.

GOTO, B. T. **Taxonomia de glomeromycota: revisão morfológica, Chaves dicotômicas e descrição de novos táxons**. Recife, Tese (Doutorado em Biologia de Fungos). Universidade Federal de Pernambuco, 357p. 2009.

GOTO, B. T. & MAIA, L. C. Glomerospores: a new denomination for the spores of Glomeromycota, a group molecularly distinct from the Zygomycota. *Mycotaxon*, v. 96, p. 129-132, 2006.

HART, M.H.; READER, R.J. Taxonomic basis for variation in the colonization strategy of arbuscular mycorrhizal fungi. **New Phytologist**, v.153, p. 335-344, 2002.

HELGASON, T.; MERRYWEATHER, J. W.; DENISON, J.; WILSON, P.; YOUNG, J. P. W.; FITTER, A. H. Selectivity and functional diversity in arbuscular mycorrhizas of co-occurring fungi and plants from a temperate deciduous woodland. **Journal of Ecology**, v. 90, p. 371-384, 2002.

HERRMAN, S.; OELMULLER, R.; BUSCOT, F. Manipulation of the onset of ectomycorrhiza formation by indole-3-acetic acid, activated charcoal or relative humidity in the association between oak microcuttings and *Piloderma croceum* influence on plant development and photosynthesis. **Journal of Plant Physiology**, v. 161, p. 509-17, 2004.

HOOGLAND, D. C.; ARNON, D. I. **The water culture method of growing plants without soil**. Berkeley: University of California, 32 p., 1950.

IBGE. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br>> acesso em dezembro de 2011

INVAM. International culture collection of vesicular and arbuscular mycorrhizal fungi. Species Description. Morgantown: West Virginia Agriculture and Forestry Instituto Nacional do Semiárido. Disponível em: [http://www.insa.gov.br/grupodepesquisa-lavouraxerofila/index.php?option=com\\_content&view=article&id=56&Itemid=62&lang=pt](http://www.insa.gov.br/grupodepesquisa-lavouraxerofila/index.php?option=com_content&view=article&id=56&Itemid=62&lang=pt). Acesso em: Jan 2012.

INVAM. **International culture collection of (vesicular) arbuscular mycorrhizal fungi**. Disponível em: <http://www.invam.caf.wvu.edu/> Acesso em: Out. 2011.

JACOBSON, K. M, Moisture and subs stability determine VA mycorrhizal fungal community distribution and structure in arid grassland. **Journal of Arid Environments**, v. 35, p. 59-75, 1997.

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

KOSKE, R. E.; GEMMA, J. N. A modified procedure for staining roots to detect VA mycorrhizas. **Mycological Research**, New York, v. 92, n. 4, p. 488-505, June 1989.

LEE, J., LEE, S., YOUNG, J.P.W., Improved PCR primers for the detection and identification of arbuscular mycorrhizal fungi. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 65, p.339-349, 2008.

LI MG. **Operating Principles and Techniques of Plant Gene**. Tianjin Science and Technology Press, Tianjin, China, 2000.

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 Biology & Biochemistry**, v. 36, p. 1009–1012, 2004.

LUTGEN, E.R., CLAIRMONT, D.L., GRAHAM, J., RILLIG, M.C., Seasonality of arbuscular mycorrhizal hyphae and glomalin in a western Montana grassland. **Plant Soil**, v. 257, p. 71–83, 2003.

MAIA, L.C. & TRUFEM, S.F.B. Fungos micorrízicos vesículo - arbusculares em solos cultivados no Estado de Pernambuco. Brasil. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 13, p. 89-95, 1990.

MARTIN, C. A, STUTZ, J. C, Interactive effects of temperature and arbuscular mycorrhizal fungi on growth, P uptake and root respiration of *Capsicum annuum* L. **Mycorrhiza**, v.14, p. 241–244, 2004.

MARSCHNER, H.; DELL, B. Nutrient uptake in mycorrhizal symbiosis. **Plant and Soil**, v. 159, n. 1, p. 89-102, 1994.

MOREIRA, F.M.S.; SIQUEIRA, J.O. **Microbiologia e bioquímica do solo** - 2ªed., Ed. UFLA, 729p, 2006.

MOREIRA, F.M.S. & SIQUEIRA, J.O. **Microbiologia e Bioquímica do Solo**. Lavras. Editora UFLA. 2002.

MORTON, J.B. Problems and solutions for the integration of glomalean taxonomy, systematic biology, and study of mycorrhizal phenomena. **Mycorrhiza**, v.2, p. 97-109, 1993.

MOSSE, B Growth and chemical composition of mycorrhizal and non mycorrhizal apples. **Nature**, v. 179, p.922-926, 1957.

MORTON, J.B.; BENTIVENGA, S.P.; WHEELER, W.W. Germplasm in the international collection of arbuscular and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi (INVAM) an procedures for culture development, documentation, and storage. **Mycotaxon**, v.48, p.491-528, 1993.

NESA. Núcleo de Estudos e Articulação Sobre o Semi-Árido. Disponível em: <http://www.fundaj.gov.br/notitia/servlet/newstorm.ns.presentation.NavigationServlet?publicationCode=16&pageCode=806&date=currentDate>. Acesso em: 08 de fevereiro de 2012.

NICHOLS, K.A.; WRIGHT, S.F. Comparison of glomalin and humic acid in eight native US soils. **Soil Science**, v. 170, n.12, p. 985-997, 2005.

NOGUEIRA, M. A.; CARDOSO, E.J.B.N. Colonização radicular e produção de micélio externo por duas espécies de fungos micorrízicos arbusculares em soja. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.24, p.329-338, 2000.

O'CONNOR P. J., **Influences of arbuscular mycorrhizas on a semi-arid plant community**. (PhD thesis), Adelaide University, Adelaide, Australia. 2001.

OCHOA-MEZA, A, ESQUEDA, M, FERNÁNDEZ-VALLE, R, HERRERA-PERAZA, R, Variación estacional de hongos micorrízicos arbusculares asociados con agave angustifolia haw. En la sierra sonorensis, México. **Revista Fitotecnia Mexicana**, v. 32, n. 3, 189-199, 2009.

OEHL, F., de S. FA, SIEVERDING E.: Revision of *Scutellospora* and description of five new genera and three new families in the arbuscular mycorrhiza-forming Glomeromycetes. **Mycotaxon**, v. 106, p.311-360, 2008.

OEHL F, SILVA GA, GOTO BT, SIEVERDING E. Glomeromycota: three new genera, and glomoid species reorganized. **Mycotaxon**, v. 116, p. 75–120, 2011a.

OEHL F, SILVA GA, GOTO BT, MAIA LC, SIEVERDING E., Glomeromycota: two new classes and a new order. **Mycotaxon**, v. 116, p. 365–379. 2011b.

OEHL, F SIEVERDING, E, INEICHEN, K , MADER, P, BOLLER, T, WIEMKEN, A. Impact of land use intensity on the species diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in agroecosystems of center Europe. **Applied and Environmental Microbiology**, v.69, p. 2816-2824, 2003.

OPIK, M, MOORA, M, LIIRA, J, ZOBEL, M, Composition of root colonizing arbuscular mycorrhizal fungal communities in different ecosystems around the globe. **Journal of Ecology**, v. 94, p. 778-790, 2006.

PRINGLE A, BEVER, J. D, Divergent phenologies may facilitate the coexistence of arbuscular mycorrhizal fungi in a North Carolina grassland. **American Journal of Botany**, v. 89, p. 1439-1446, 2002.

PURIN, S.; RILLING, M.C. The arbuscular mycorrhizal fungal protein glomalina: limitations, progress, and a new hypothesis for its function. **Pedobiologia**, v. 51, p. 123-130, 2007.

PORCEL, R.; RUÍZ-LOZANO, J. M. Arbuscular mycorrhizal influence on leaf water potential, solute accumulation, and oxidative stress in soybean plants subjected to drought stress. **Journal of Experimental Botany**, v.55, p.1743–1750, 2004.

PROSSIGA. Panorama do Setor de Sisal no Estado da Bahia. Disponível em: <<http://www.prossiga.br/arranjos/ba-sisal.html>> Acesso em: 07 de abril de 2007.

RAO, A.V.; TARAFDAR, J.C. Significance of micro-organisms in afforestation programmes in arid zone. **Annals of Arid Zone**, v.37, p. 337-346, 1998.

REQUERA, N, JEFFRIES, P, BAREA, J. M. Assessment of natural mycorrhizal potential in a desertified semiarid ecosystem. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 62, n.3, p. 842-847, 1996.

REQUERA, N, PÉREZ-SOLIS, E, AZCÓN-AGUILAR, C, JEFFRIES, P, BAREA, J. M, Management of indigenous plant-microbe symbioses AIDS restoration of desertified ecosystems. . **Applied and Environmental Microbiology**, v. 67, p. 495-498, 2001.

RILLING, M.C.; RAMSEY, P.; MORRIS, S.; PAUL, E. Glomalin, an arbuscular mycorrhizal fungal soil protein, responds to soil-use change. **Plant and Soil**, v. 253, n.2, p.293-299, 2003.

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 and Soil**, v. 233, p. 167-177, 2001.

RILLIG, M. C. Arbuscular mycorrhizae, glomalin, and soil aggregation. **Canadian Journal of Soil Science**, v. 84, p. 355–363, 2004.

RILLIG, M.C, MARDATIN, N. F, LEIFHEIT, E. F, ANTUNES, P. M, Mycelium of arbuscular mycorrhizal fungi increases soil water repellency and is sufficient to maintain water-stable soil aggregates. **Soil Biology and Biochemistry**, v.42, p. 1189-1191, 2010.

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**, v. 233, p. 167–177, 2001.

RILLIG, M. C.; WRIGHT, S. F.; ALLEN, M. F.; FIELD, C. B. Rise in carbon dioxide changes soil structure. **Nature**, v. 400, p. 628, 1999.

ROLDAN-FAJARDO, B.E. Effect of indigenous arbuscular mycorrhizal endophytes on the Development of six wild plants colonizing a semi-arid area in south-east Spain. **New Phytologist**, v. 127 p. 115-121, 1994.

ROSIER, C.L.; HOYE, A.T.; RILLIG, M.C. Glomalin-related soil protein: assessment of current detection and quantification tools. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 38, p. 2205–2211, 2006.

ROSIER, C.L.; PIOTROWSKI J.S.; HOYE, A.T.; RILLING, M.C. Intraradical protein and glomalin as a tool for quantifying arbuscular mycorrhizal root colonization. **Pedologia**, v. 52, p. 41-50, 2008.

RUIZ-LOSANO, J.M.; AZCÓN, R. Hyphal contribution to water uptake in mycorrhizal plants as affected by the fungal species and water status. **Physiologia Plantarum**, v. 95, p. 472-478, 1995.

SAMPAIO, E.V.S.B. Overview of the brazilian caatinga. In: BULLOCK, S.H.; HAROLD, A.M. & MEDINA, E. (Eds.). **Seasonally dry tropical forests**. Cambridge: University Press, Cambridge, p.35-63. 1995.

SAMPAIO, E.V.S.B.; SALCEDO, I. H.; SILVA, V. M.; ALVES, G. D. Capacidade de suprimento de N e resposta a fertilizacão de 20 solos de Pernambuco. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 20, p. 269-279, 1995.

SÁNCHEZ-CASTRO, I, FERROL, N, CORNEJO, P, BAREA, J. M, Temporal dynamics of arbuscular mycorrhizal fungi colonizing roots of representative shrub species in a semi-arid Mediterranean ecosystem. **Mycorrhiza**, 12p, 2011.

SANTOS-GONZÁLEZ, J. C.; FINLAY, R. D.; TEHLER, A. Seasonal dynamics of arbuscular mycorrhizal fungal communities in roots in a seminatural grassland. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 73, p. 5613-5623, 2007.

SCHROEDER, M. S.; JANOS, D. P. Phosphorus and intraspecific density alter plant responses to arbuscular mycorrhizas. **Plant and Soil**, v. 264, p.335–348, 2004.

SCHUSSLER, A.; SCHWARZOTT, D.; WALKER, C. A new fungal phylum the Glomeromycota: phylogeny and evolution. **Mycology Research, Cambridge**, v. 105, n. 12, p. 1413-1421, 2001.

SCHMIDT, H.; KARNIELI, A. Remote sensing of the variability of vegetation in a semi-arid environment. **Journal of Arid Environment**, v.45, p. 43-59, 2000.

SCHENCK, N.C.; PÉREZ, Y. **Manual for the identification of VA mycorrhizal fungi**, 3.ed. Gainesville: Synergistic, 1990.

SCHUBLAER, A.; SCHWARZOTT, D.; WALKER, C. A new fungal phylum, the Glomeromycota: phygeny and evolution. **Mycological Research**, New York, v. 105, p.1413-1421, 2001.

SEAGRI – Secretaria da Agricultura, Irrigação e Reforma Agrária. Disponível em:  
<http://www.seagri.ba.gov.br/noticias.asp?qact=view&exibir=clipping&notid=1540>  
8. Acesso em: 18 de maio de 2009.

SHANNON, C.E. & WEAVER, W. The mathematical theory of communication. **Urbana**, University of Illinois Press, 117p., 1949.

SIQUEIRA, J.O., HUBBELL, D.H., VALLE, R.R. Effects of phosphorus on formation of the vesicular-arbuscular mycorrhizal symbiosis. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 19, p. 1465-1474, 1984.

SILVA, F. C. Análises químicas para avaliação da fertilidade do solo. In: SILVA, F. C. (Org.). **Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes**. Brasília: Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia, p. 75-169, 1999.

SIQUEIRA, J.O. **Micorrizas arbusculares**. In Microrganismos de importância agrícola. (R. S. Araújo & M. Hungria, eds.). EMBRAPA-SPI. Brasília, p.235-249. 1994.

SILVA, G.A. **Potencial de infectividade de fungos micorrízicos arbusculares oriundos de área de caatinga nativa e degradada por mineração**. (Dissertação de Mestrado), Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2000.

SMITH, S.E. & READ, D.J. **Mycorrhizal Symbiosis**. San Diego: 2 ed. Academic Press, Inc., 589p. 1997.

SMITH, F. A. & SMITH S. E, What is the significance of the arbuscular mycorrhizal colonisation of many economically important crop plants? **Plant Soil**, v. 348, p. 63–79, 2011.

SOUZA, D. J.; STÜRMER, S. L. Caracterização de comunidades de FMAs em áreas de mata ciliar e pastagem. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 5, p. 795-797, 2007.

SOUZA, F.A.; SILVA, I.C.L.; BERBARA, R.L.L. Fungos micorrízicos arbusculares: muito mais diversos do que se imaginava. In: MOREIRA, F.M.S.; SIQUEIRA, J.O.; BRUSSAARD, L. **Biodiversidade do solo em ecossistemas brasileiros**, Lavras: UFLA, p. 483-536, 2007.

SOUZA, F. A, STÜRMER, S. L, CARRENHO, R, TRUFEM, S. F. B, Classificação e taxonomia de fungos micorrízicos arbusculares e sua diversidade e ocorrência no Brasil. In: SIQUEIRA, J.O. S, SOUZA, F. A, CARDOSO, E. J. B. N, TSAI, S. M, **Micorrizas: 30 anos de pesquisas no Brasil**, Lavras: UFLA, p. 15-73, 2010.

SOUZA, F.A. de; SILVA, E.M.R. Micorrizas arbusculares na revegetação de áreas degradadas. In: SIQUEIRA, J.O. (Eds.) **Avanços em fundamentos e aplicação de micorrizas**, UFLA/DCS e DCF. p.255-290, 1996.

SOUZA, C. S. **Diversidade e atividade de fungos micorrízicos Arbusculares em agroecossistemas do semi-árido Paraibano**. (Tese de Doutorado), Universidade Federal De Pernambuco, Recife, 2009.

SOUZA, F. A, STRUMER, S. L, CARRENHO, R, TRUFEM, S. F. B. Classificação e taxonomia de fungos micorrízicos arbusculares e sua diversidade e ocorrência no Brasil. IN: SIQUEIRA, J. O, SOUZA, F. A,

CARDOSO, E. J. B. N, TSAI, S. M, **Micorrizas: 30 anos de pesquisas no Brasil**, Lavras: UFLA, 2010.

SPAIN, J.L.; SIEVERDING, E. & OEHL, F. Appendicispora: a new genus in the arbuscular mycorrhizal-forming Glomeromycetes, with a discussion of the genus Archaeospora. **Mycotaxon**, v. 97, p. 163 – 182, 2006.

SEI - SUPERINTENDÊNCIA DE ESTUDOS SOCIAIS E ECONÔMICOS.  
Disponível em:  
[http://www.sei.ba.gov.br/side/frame\\_tabela.wsp?tmp.volta=sg53&tmp.tabela=t81](http://www.sei.ba.gov.br/side/frame_tabela.wsp?tmp.volta=sg53&tmp.tabela=t81)  
1. Acesso em 10 de dezembro de 2011.

YANO-MELO, A. M. **Biologia de fungos micorrízicos arbusculares em solos salinizados**. (Tese de Doutorado), Universidade Federal de Pernambuco, Recife. 2002.

TARAFDAR, J.C.; PRAVEEN-KUMAR. The role of vesicular arbuscular fungi on crop, tree and grasses grown in an arid environment. **Journal of Arid Environment**, v. 34, p. 197-203, 1996.

TRAPPE, J.M. Phylogenetic and ecologic aspects of mycotrophy in the Angiosperms from an evolutionary standpoint. In: SAFIR, G.R. ed. **Ecophysiology of VA mycorrhizal plants**, Boca Raton: CRC, p.5-25,1987.

THOMSON, B. D.; ROBSON, A. D.; ABBOTT, L. K. Mycorrhizas formed by *Gigaspora calospora* and *Glomus fasciculatum* on subterranean clover in relation to carbohydrate concentration in roots. **New Phytologist**, v. 114, p. 217-225, 1990.

TAO, L.; ZHIWEI, Z. Arbuscular mycorrhizas in hot and arid ecosystem in southwest China. **Applied Soil Ecology**, v.29, p.135-141, 2005.

VANDENKOORNHUYSE, P., R. HUSBAND, T. J. DANIELL, I. J. WATSON, J. M. DUCK, A. H. FITTER, AND J. P. W. YOUNG. Arbuscular mycorrhizal community composition associated with two plant species in a grassland ecosystem. **Molecular Ecology**, v. 11, p. 1555–1564, 2002.

KLEINSCHMIDT, G.D; GERDEMANN, J. W. Stunting of citrus seedlings in fumigated nursery soils related to the absence of endomycorrhizae. **Phytopathology**, v. 64, p. 1447-1453,1972.

WRIGHT, S.F.; ANDERSON, R.L. Aggregate stability and glomalin in alternative crop rotations for the central Great Plains. **Biology & Fertility of Soils**, v.31, p.249–253, 2000.

WRIGHT, S. F.; UPADHYAYA, A. A survey of soils for aggregate stability and glomalin, a glycoprotein produced by hyphae of arbuscular mycorrhizal fungi. **Plant and Soil**, v. 198, p. 97-107, 1998.

WRIGHT, S.F.; ANDERSON, R.L. Aggregate stability and glomalin in alternative crop rotations for the central Great Plains. **Biology and Fertility of Soils**, v.31, p. 249–253, 2000.

WRIGHT, S.F.; FRANKE-SNYDER, M.; MORTON, J.B.; UPADHYAYA, A. Time-course study and partial characterization of a protein on hyphae of arbuscular mycorrhizal fungi during active colonization of roots. **Plant and Soil**, v. 181, p. 193–203, 1996.

WHITE, T.J., BRUNS, T., LEE, S., TAYLOR, J. **Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics**. In: Innis, M.A., Gelfand, D.H., Sninsky, J.J., White, T.J. (Eds.), PCR Protocols. A Guide to Methods and Applications. Academic Press, San Diego, pp. 315 e 322, 1990.

WILSON, J., INGLEBY, K., MASON, P.A., IBRAHIM, K., LAWSON, G.J. **Long-term changes in vesicular-arbuscular mycorrhizal spore populations in *Terminalia* plantations in Côte d'Ivoire**. In Mycorrhizas in Ecosystems. (D.J. Read, D.H. Lewis, A.H. Fitter, I.J. Alexander, eds.). CAB Internacional, Cambridge, p.268-275, 1992.