



**ECOLOGIA E DIVERSIDADE DE FUNGOS MICORRÍZICOS
ARBUSCULARES EM ÁREA DE CAATINGA**

ARAESKA CARENNA DE ALMEIDA FERREIRA

**RECIFE
FEVEREIRO/2010**



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE MICOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA DE FUNGOS**

**ECOLOGIA E DIVERSIDADE DE FUNGOS MICORRÍZICOS
ARBUSCULARES EM ÁREA DE CAATINGA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia de Fungos do Departamento de Micologia do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Biologia de Fungos.

Área de Concentração:
Micologia Básica

Orientadora:
Dra. Elaine Malosso

Co-orientador:
Dr. Gladstone Alves da Silva

**RECIFE
FEVEREIRO/2010**

Ferreira, Araeska Carena de Almeida

Ecologia e diversidade de fungos micorrízicos arbusculares em área da caatinga / Araeska Carena de Almeida Ferreira. – Recife: O Autor, 2011.

88 folhas : il., fig., tab.

Orientadora: Elaine Malosso

Co-orientador: Gladstone Alves da Silva

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. CCB. Biologia de Fungos, 2011.

Inclui bibliografia e apêndices.

1. Fungos 2. Caatinga 3. Ecologia – Pernambuco I. Título.

579.5

CDD (22.ed.)

UFPE/CCB-2011-205

**ECOLOGIA E DIVERSIDADE DE FUNGOS MICORRÍZICOS
ARBUSCULARES EM ÁREA DE CAATINGA**

ARAESKA CARENNA DE ALMEIDA FERREIRA

Data da defesa: 19 de Fevereiro de 2010

COMISSÃO EXAMINADORA

MEMBROS TITULARES

Dra. Elaine Malosso – (Orientadora)
Universidade Federal de Pernambuco

Dra. Leonor Costa Maia
Universidade Federal de Pernambuco

Dra. Márcia Vanusa da Silva
Universidade Federal de Pernambuco

Ao final dessa jornada, eu quero registrar neste trabalho, uma dedicatória toda especial a uma pessoa muito querida, que sempre me acompanhou nesses momentos da minha vida, dando força e incentivando. Fazendo-me acreditar que eu era capaz.

Uma pessoa que se fez presente em todos os atos que representavam uma etapa vencida na minha trajetória acadêmica, desde a formatura do “ABC”, passando pelas conclusões do ensino fundamental e médio.

Viveu comigo e meus pais a ansiedade do período pré-vestibular, festejou com muita alegria a minha entrada na faculdade, participou com intensidade e, porque não dizer, com orgulho, a emoção das comemorações da minha graduação.

Esta pessoa que, repito, tão querida e que tanto fez por mim é minha avó paterna, Dona Nicinha Ferreira, que certamente, estaria aqui presente, demonstrando todo orgulho que sentia por mim, caso papai do céu não tivesse a chamadoela para perto dele, no último dia 20 de Janeiro.

É vovó, tenho certeza que de onde a senhora estiver, estará brindando à minha felicidade e ao meu sucesso e dizendo algo parecido com: “Valeu Ara, mais uma etapa vencida”.

Aos meus pais, Marco Antônio e Hosana, as minhas irmãs e ao meu namorado Claudemir Lopes pelo amor, dedicação e constante presença em minha vida.

Dedico

Agradecimentos

A Deus por estar presente em cada minuto de minha vida, instruindo-me no caminho que devo seguir e dando-me forças para percorrê-lo.

Aos meus pais, Marco Antonio Ferreira e Hosana de Almeida Ferreira, pelo amor e compreensão que sempre tiveram e por acompanhar-me nesta caminhada, jamais deixando de acreditar na concretização deste nosso sonho.

Às minhas irmãs, Anuská, Aruská e Sheynna, pelo apoio e amizade no decorrer do trabalho;

Ao meu namorado, Claudemir Lopes, pelo carinho, amor e compreensão que sempre teve por mim e por estar sempre presente na minha vida, me apoiando desde o início do curso, vibrando com minhas vitórias.

À Universidade Federal de Pernambuco, pela contribuição à minha formação ao nível de pós-graduação.

À Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco (FACEPE) pelo suporte financeiro no decorrer deste trabalho e pela concessão da bolsa de estudo.

À International Foundation for Science (IFS) pelo suporte financeiro para o desenvolvimento do trabalho.

À professora e orientadora Elaine Malosso, pela orientação, confiança e apoio na execução deste trabalho.

Ao professor Gladstone Alves da Silva, pela co-orientação, confiança, incentivo e pelas valiosas considerações feitas ao trabalho.

Às amigas Indra Escobar, Danielle Silva, Vilma e o amigo Nicácio Freitas, pela constante disponibilidade e ensinamentos dentro do laboratório.

Ao amigo Bruno Goto pela contribuição na identificação das espécies de FMA.

Aos amigos do Laboratório de Micorrizas, principalmente Camilla Maciel, Inácio e Renata de Souza pelo convívio e troca de conhecimentos.

Ao amigo João Ricardo de Oliveira pela amizade sincera, força e ombro amigo nos momentos difíceis.

À amiga Catarina Mello pela amizade sincera, alegrias, força e ombro amigo nos momentos difíceis e pela ajuda na realização de algumas práticas laboratoriais.

Ao amigo Ângelo Santana pela amizade sincera e ombro amigo nas dificuldades que passamos no decorrer dessa caminhada, que embora distante sempre esteve muito presente nessa jornada.

Aos colegas dos Laboratórios de Biologia Molecular de Fungos, os que já saíram e os que ainda fazem parte: Danielle Maciel, Lílian Medeiros, Nelson Lima Jr., Susane Chang, Vivian Medeiros, por toda ajuda e pelo ótimo convívio dentro e fora do laboratório;

A todos aqueles que ajudaram, direta ou indiretamente, na realização deste trabalho.

RESUMO GERAL

Os fungos micorrízicos arbusculares (FMA, Glomeromycota) proporcionam ao hospedeiro melhor condição nutricional e maior resistência a estresses de origem biótica e abiótica. Apesar de amplamente distribuídos nos ecossistemas terrestres, as dificuldades na identificação prejudicam o estudo da diversidade ambiental dos FMA e o conhecimento sobre a ocorrência destes fungos em áreas de Caatinga, embora ainda escasso, aponta para alta representatividade de espécies. Este trabalho teve como objetivo ampliar as informações sobre a ecologia e a diversidade de FMA em área de Caatinga nativa no semi-árido nordestino (no município de Caruaru – PE). A partir de amostras de solo coletadas durante os períodos chuvoso (março/2008) e de estiagem (setembro/2008), foram avaliados os atributos microbiológicos (respiração basal do solo, atividade de desidrogenase, matéria orgânica, número de esporos de FMA, colonização micorrízica e produção de proteínas do solo relacionadas à glomalina) e identificadas as espécies de FMA, sendo também analisadas sequências parciais da SSU (small subunit) rDNA de algumas espécies para confirmar a identidade morfológica das mesmas. A comunidade de FMA, a atividade da desidrogenase e a quantidade de matéria orgânica no solo diferiram entre os períodos de coleta, influenciadas pelas flutuações climáticas. No entanto, para a respiração basal do solo e a produção de proteína relacionada à glomalina não houve diferença significativa entre as estações climáticas. Foram identificadas 43 espécies de FMA, sendo *Acaulospora* e *Glomus* os gêneros predominantes. A árvore filogenética obtida indica que a sequência parcial da SSU rDNA utilizada é viável para confirmar a identificação morfológica de *Acaulospora morrowiae*, *Ambispora appendicula*, *Entrophospora infrequens* e *Racocetra intraornata*. Com base nos resultados conclui-se que as flutuações climáticas e as condições do solo podem influenciar a comunidade de FMA e a distribuição de suas espécies. Os resultados fornecem, ainda, evidências que comprovam a alta diversidade de FMA na Caatinga. Estudos que incluam aspectos morfológicos e moleculares são importantes para se obter uma visão mais completa da biologia e taxonomia desses fungos, resultando em identificações mais precisas dos organismos e melhor análise da diversidade dos FMA.

Palavras-chave: FMA, Semi-árido, Atividade microbiana, Sazonalidade, rDNA.

ABSTRACT

Arbuscular mycorrhizal fungi (AMF, Glomeromycota) offer to its host better nutritional conditions and greater resistance to biotic and abiotic stresses. Despite of being broadly distributed in terrestrial ecosystems, difficulties in the identification of AMF hamper the studies of their diversity but the knowledge about their occurrence in the Caatinga, although still scarce, points out to high species representativity. This work aimed at increasing knowledge about AMF ecology and diversity in a Caatinga area of the northeast semiarid (municipality of Caruaru – PE). From soil samples collected during the raining (March/2008) and dry (September/2008) seasons, microbial attributes (as basal soil respiration, dehydrogenase activity, organic matter quantification, AMF spores number, mycorrhizal colonization and glomalin related soil protein production) were evaluated and the AMF species were identified, with partial SSU rDNA sequences analysed for some AMF species found in the studied area to confirm morphological identity with molecular data. AMF community structure, dehydrogenase activity and OM quantification differed between the sampling periods, influenced by climate fluctuations. However, basal soil respiration and soil protein related to glomalin did not differ significantly between sampling periods. Forty-three AMF species were identified, being *Acaulospora* and *Glomus* the predominant genera. The phylogenetic tree obtained indicates that the partial SSU rDNA sequence utilized is viable to confirm morphological identification of *Acaulospora morrowiae*, *Ambispora appendicula*, *Entrophospora infrequens* and *Racocetra intraornata*. Based on the results we conclude that climatic fluctuations and soil conditions can influence AMF community and its species distribution. The results in this study also give evidences that the Caatinga has high AMF diversity. Studies that include morphological and molecular aspects are important to provide a more complete view of the biology and taxonomy of these fungi, resulting in more precise identifications of the organisms and better analysis of their diversity.

Key-words: AMF, semiarid, Climate seasons, rDNA, microbial activity.

Lista de figuras

Fundamentação Teórica	Pág.
Figura 1 – Abrangência do Bioma Caatinga no território nacional.....	15
Figura 2 – Diagrama mostrando a colonização radicular e formação de estruturas intra e extra-radiculares de um fungo micorrízico arbuscular.....	19
Figura 3 – Desenho esquemático do conjunto de genes ribossomais.....	26
Materias e Métodos	
Figura 1 – Entrada da Estação Experimental do Instituto Agrônomo de Pernambuco (IPA), no município de Caruaru, PE.....	33
Figura 2 – Estação Experimental do Instituto Agrônomo de Pernambuco (IPA) no Município de Caruaru no período chuvoso (a) e no de estiagem (b).....	34
Figura 3 – Potes de culturas armadilha 15 dias após a semeadura com sorgo e painço.....	35
Capítulo 2	
Figura 1 - Representatividade, em número de espécies, dos gêneros de FMA em área de Caatinga, no município de Caruaru – PE.	59
Figura 2 - Árvore filogenética de Glomeromycota. A árvore é um fenograma obtida a partir de análises de máxima parcimônia (MP) e neighbor joining (NJ) baseado em um alinhamento de seqüências parciais da SSU rDNA. Os números nos ramos indicam valores de bootstrap de 1000 replicatas, NJ (acima) e MP (abaixo). As seqüências obtidas no “GenBank” são seguidas pelos números de acesso. —> Suporte (bootstrap) do clado.....	62

Lista de tabelas

Fundamentação Teórica	Pág.
Tabela 1 – Espécies de FMA detectadas em áreas de Caatinga no semi-árido brasileiro.....	23
Materiais e Métodos	
Tabela 1 - Precipitação pluviométrica mensal média (mm) registrada no município de Caruaru, PE.....	34
Capítulo 1	
Tabela 1 - Precipitação pluviométrica mensal média (mm) registrada no município de Caruaru, PE.....	43
Tabela 2 – Características químicas e físicas do solo de área de Caatinga nativa da Estação Experimental do Instituto Agrônomo de Pernambuco – IPA, município de Caruaru – PE....	43
Tabela 3 – Número de esporo de FMA, colonização micorrízica, atividade da desidrogenase, respiração basal, produção de proteínas do solo relacionadas à glomalina e quantidade de matéria orgânica nos períodos chuvoso e de estiagem em Caruaru – PE.....	46
Tabela 4 - Coeficientes de correlação simples de Pearson (r) entre as variáveis estudadas (P<0,05).....	46
Capítulo 2	
Tabela 1 - Precipitação pluviométrica mensal média (mm) registrada no município de Caruaru, PE.....	53
Tabela 2 – Características químicas e físicas do solo de área de Caatinga nativa da Estação Experimental do Instituto Agrônomo de Pernambuco – IPA, município de Caruaru – PE....	53
Tabela 3 - Espécies de fungos micorrízicos arbusculares (FMA) em área de Caatinga na Estação Experimental do Instituto Agrônomo de Pernambuco – IPA, município de Caruaru – PE.....	58
Tabela 4 - Espécies de Glomeromycota utilizadas na análise filogenética.....	60

SUMÁRIO

	Pág.
1. INTRODUÇÃO.....	13
2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	15
2.1. O bioma Caatinga.....	15
2.2. Micorrizas Arbusculares.....	17
2.3. Diversidade de fungos micorrízicos arbusculares em ambiente semi-árido.....	20
2.4. Ferramentas utilizadas na identificação dos FMA.....	25
2.5. Glomalina.....	28
2.6. Atividade microbiana do solo.....	30
3. MATERIAL E MÉTODOS	33
3.1. Caracterização da área de estudo.....	33
3.2. Coleta das amostras.....	34
3.3. Culturas armadilha.....	35
3.4. Extração de esporos do solo.....	35
3.5. Identificação morfológica das espécies de FMA.....	36
3.6. Colonização micorrízica.....	36
3.7. Análise da matéria orgânica.....	36
3.8. Avaliação da respiração basal do solo.....	37
3.9. Atividade de desidrogenase.....	37
3.10. Quantificação da glomalina.....	37
3.11. Análise estatística.....	37
3.12. Limpeza e extração de DNA de esporos de FMA.....	38
3.13. Amplificação da região 18S do rDNA através de PCR.....	38
3.14. Alinhamento das sequências e análise filogenética.....	39
4. ATIVIDADE MICROBIANA EM SOLO DE CAATINGA EM PERNAMBUCO.....	40
Resumo.....	40
Introdução.....	42
Material e métodos.....	44
Resultados.....	45
Discussão.....	47
5. DIVERSIDADE DE FUNGOS MICORRIZICOS ARBUSCULARES (FMA) EM SOLO DE CAATINGA EM PERNAMBUCO.....	50

Resumo.....	50
Introdução.....	51
Material e métodos.....	52
Resultados.....	56
Discussão.....	63
Conclusões.....	65
6. CONSIDERAÇÕES GERAIS.....	66
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	67
APÊNDICE	88

1. INTRODUÇÃO

A Caatinga é uma extensa área de clima semi-árido, constituindo uma região pouco explorada pelas atividades agrícolas devido às grandes limitações edafoclimáticas (Leal *et al.*, 2005). Estudos têm demonstrado que a Caatinga apresenta grande diversidade de espécies vegetais e animais (Leal *et al.*, 2003) e de fungos (Gusmão e Maia, 2006). Entretanto, esse bioma está entre os menos conhecidos da América do Sul, o que justifica a necessidade de se ampliar rapidamente o conhecimento sobre a distribuição dos organismos e sua organização em comunidades dentro deste sistema.

A Caatinga possui cerca de 50% do bioma alterado por atividades antrópicas e uso inadequado dos seus recursos, acentuado processo de desertificação, que resulta na redução de produção vegetal, degradação dos solos com a conseqüente e muitas vezes irreversível perda da biodiversidade (Castelletti *et al.*, 2003; Leal, 2005). Ações antrópicas, bem como as variações na umidade e na temperatura influenciam a dinâmica e a composição da comunidade microbiana do solo (Morgan *et al.*, 2005).

Métodos para estimar a atividade microbiana em solos de regiões semi-áridas são fundamentais no monitoramento ambiental e recuperação de áreas degradadas (Pereira *et al.*, 2004). Entre esses métodos se destacam a avaliação da atividade enzimática e a estimativa da respiração basal do solo, que têm sido utilizados como bioindicadores da microbiota edáfica, sendo marcadores da qualidade do solo em sistemas naturais e manejados (Bastida *et al.*, 2006, Chaer e Tótola, 2007; Bastida *et al.*, 2008; Batista *et al.*, 2008; Doi e Ranamukhaarachchi, 2009).

Dentre os microrganismos do solo, os fungos micorrízicos arbusculares (FMA) destacam-se pela simbiose formada com as raízes da maioria das espécies vegetais, aumentando a área de absorção de água e nutrientes, proporcionando ao vegetal maior tolerância a estresses bióticos e abióticos, tornando-se fundamentais para manutenção de ecossistemas naturais, principalmente os áridos e semi-áridos, visto que essas regiões apresentam escassez de água e baixa fertilidade do solo (Rao e Tarafdar, 1998).

A atividade dos FMA pode ser estimada indiretamente pela produção de uma glicoproteína, denominada glomalina, que em estudos recentes tem sido relacionada a processos de agregação do solo (Steinberg e Rillig, 2003; Rillig *et al.*, 2005), contribuindo para a manutenção da estrutura do solo, e reduzindo os riscos de erosão em áreas degradadas (Caravaca *et al.*, 2005). A quantificação da glomalina pode constituir importante indicador de mudanças causadas pelo uso do solo, podendo ser utilizada para demonstrar a qualidade e reabilitação de solos perturbados (Rillig *et al.*, 2003).

A identificação e a classificação dos FMA são baseadas, quase que exclusivamente, na morfologia e estrutura de seus esporos (Morton, 1993), tais como a cor, forma, estruturas subcelulares, ornamentações e reações histoquímicas da parede dos esporos (Bentivenga e Morton, 1994). Entretanto, estas características morfológicas podem ser influenciadas por atributos fisiológicos do FMA e pelas condições ambientais (Redecker *et al.*, 2003), causando problemas na identificação precisa das espécies.

As limitações dos métodos tradicionalmente utilizados para a análise de FMA podem ser remediadas com o emprego de técnicas moleculares, tais como: amplificação, clonagem e seqüenciamento da região conservada do rDNA (Schwarzott e Schüssler, 2001; Silva Júnior, 2004; Corradi *et al.*, 2007) e dos espaçadores gênicos (ITS) (Colozzi-Filho e Cardoso, 2000; Lekberg *et al.*, 2007; Aldrich-Wolfe, 2007), além do chamado "DNA fingerprinting" (Kowalchuk *et al.*, 2002). Essas técnicas têm sido usadas para a identificação de FMA por meio de esporos coletados diretamente no campo ou raízes colonizadas por esses fungos. A biologia molecular também está contribuindo para o conhecimento das relações filogenéticas entre os FMA (Silva Júnior, 2004; Silva *et al.*, 2006; Wu *et al.*, 2007).

Assim, estudos que incluam aspectos morfológicos e moleculares resultarão em identificações mais precisas dos organismos e uma melhor análise da diversidade dos FMA, contribuindo para as conclusões sobre a distribuição e ecologia desses fungos na Caatinga. Diante do exposto, o presente trabalho teve como objetivo ampliar o conhecimento sobre a ecologia e a diversidade de FMA em área de Caatinga em Pernambuco.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1. O bioma Caatinga

O termo “caatinga” tem origem tupi-guarani (*caa* – mata; *tinga* – branca) e significa “mata branca”, fazendo referência à fisionomia da vegetação no período de estiagem, quando a maioria das árvores perde as folhas, ressaltando o aspecto esbranquiçado dos troncos que dão o tom claro a essa vegetação (Albuquerque e Bandeira, 1995; Leal *et al.*, 2003; Prado, 2003).

A Caatinga é o único bioma exclusivamente brasileiro, ocupando uma área de aproximadamente 900.000 km², o que representa 54% da Região Nordeste e 11% do território Nacional (Andrade *et al.*, 2005). Este bioma abrange os estados do Ceará, Rio Grande do Norte, a maior parte da Paraíba e Pernambuco, sudeste do Piauí, oeste de Alagoas e Sergipe, região norte e central da Bahia, além de pequenas porções de Minas Gerais e do Maranhão (Figura 1, IBGE, 2005).



Figura 1. Abrangência do Bioma Caatinga no território nacional (Fonte: IBGE, 2005)

O clima é semi-árido, caracterizado por curto período de chuvas torrenciais e irregulares, com 6 a 9 meses de seca, e por apresentar alta variabilidade interanual da precipitação, ocasionada por fenômenos de escala global resultantes da interação da atmosfera com os oceanos tropicais (Souza *et al.*, 2001). A precipitação média anual é cerca de 750 mm sobre a maior parte da Caatinga, podendo chegar a 500 mm em sua porção central (Prado, 2003); a temperatura média anual varia de 23 a 27 °C, com elevado potencial de evapotranspiração (2.000 mm.ano⁻¹) e umidade relativa em torno de 50% (Sampaio, 1995).

A Caatinga está distribuída em terrenos cristalinos praticamente impermeáveis e sedimentares que se apresentam com boa reserva de água subterrânea (Alves *et al.*, 2008). Os solos sobre o embasamento cristalino tendem a ser rasos, argilosos e pedregosos, classificados em Litossolo, Regossolo e Luvisolo; enquanto que os solos sobre o material sedimentar tendem a ser profundos e arenosos, classificados como Latossolo, Podzólico e Neossolo Quartzarênico (Sampaio, 1995). Os solos geralmente são pobres em matéria orgânica, embora ricos em sais minerais solúveis (Mendes, 1997) e bastante susceptíveis à erosão, quando desprovidos de cobertura vegetal (Silva, J.R.C., 2000).

A Caatinga tem sido descrita na literatura como um ecossistema pobre e pouco alterado, abrigando baixo número de espécies endêmicas (Castelletti *et al.*, 2003). Entretanto, estudos recentes têm demonstrado a elevada riqueza da Caatinga em termos de biodiversidade (MMA, 2002; Leal *et al.*, 2003). Esse bioma tem grande diversidade de espécies vegetais, animais e de fungos, estando registradas 932 espécies de plantas vasculares (Giulietti *et al.*, 2003), 187 de abelhas (Zanella e Martins, 2003), 240 de peixes (Rosa *et al.*, 2003), 167 de répteis e anfíbios (Rodrigues, 2003), 510 de aves (Silva *et al.*, 2003), 148 espécies de mamíferos (Oliveira *et al.*, 2003) e 955 de fungos (Gusmão e Maia, 2006). Esses valores sobre a biodiversidade da Caatinga são, provavelmente, ainda mais elevados, uma vez que 41% da região não foram investigados e 80% permanecem subamostrados (Tabarelli e Vicente, 2003).

A vegetação que forma este bioma é extremamente diversificada e caracterizada por plantas que possuem várias adaptações às condições de estresse impostas pelo ambiente. Os diferentes tipos vegetacionais são resultantes da interação entre os fatores climáticos, geomorfológicos e edáficos (Andrade-Lima, 1981). Na Caatinga, predomina a formação de floresta seca composta de vegetação xerófila de porte arbóreo, arbustivo e herbáceo, geralmente dotadas de espinhos, sendo caducifólias, perdendo suas folhas no início da estação seca. Dentre as famílias deste ambiente, destacam-se: Caesalpinaceae, Mimosaceae, Euphorbiaceae, Fabaceae, Cactaceae, Asteraceae e Solanaceae (Drumond *et al.*, 2000).

Sendo a Caatinga um bioma exclusivamente brasileiro, provavelmente parte de sua flora e fauna é endêmica, ou seja, não é encontrada em nenhum outro lugar do mundo (Rodal e Sampaio, 2002). No entanto, os ecossistemas deste bioma estão entre os menos conhecidos da América do Sul, justificando a necessidade de se ampliar rapidamente o conhecimento sobre a distribuição dos organismos e sua organização em comunidades dentro do bioma. Informações completas sobre a distribuição dos organismos são fundamentais para o entendimento da evolução, ecologia e conservação de uma biota (Primack, 1995).

2.2. Micorrizas Arbusculares

As micorrizas (do grego *mykes* = fungo e *rhizae* = raiz) são associações mutualísticas, nas quais as raízes de plantas vasculares são invadidas por fungos específicos, ocorrendo uma perfeita integração funcional entre os simbiossiontes (Smith e Read, 1997). Nessa relação, a planta fornece fotossintatos para o fungo que, em troca, contribui aumentando a absorção de água e nutrientes minerais do solo (Azcón-Aguilar e Barea, 1997).

As micorrizas estão categorizadas em três grandes grupos: ectomicorrizas, endomicorrizas (Micorrizas Arbusculares, Ericóide e Orquidóide) e ectendomicorrizas (Arbutóide, Monotropóide). Esta categorização tem como base as características morfoanatômicas das raízes colonizadas pelos fungos (Moreira e Siqueira, 2002). As ectomicorrizas são caracterizadas pela formação de manto micelial sobre a raiz com a formação da rede de Hartig no córtex do hospedeiro. As ectendomicorrizas são geralmente ectomicorrizas com penetração intracelular, havendo diferenças anatômicas de acordo com a planta hospedeira. As endomicorrizas são caracterizadas pela formação de estruturas ramificadas semelhantes a minúsculas árvores, denominadas arbúsculos, ou então, simples dilatações denominadas vesículas no córtex radicular (Siqueira, 1994).

Dentre as associações mencionadas, as micorrizas arbusculares são as mais comumente encontradas na natureza, sendo formadas exclusivamente por fungos micorrízicos arbusculares (FMA), pertencentes atualmente ao filo Glomeromycota que possui quatro ordens (Archaeosporales, Diversisporales, Paraglomerales e Glomerales) com dez famílias (Geociphonaceae, Archaeosporaceae, Diversisporaceae, Paraglomeraceae, Glomeraceae, Acaulosporaceae, Entrophosporaceae, Gigasporaceae, Pacisporaceae e Ambisporaceae) e 19 gêneros: *Acaulospora*, *Diversispora*, *Entrophospora*, *Archaeospora*, *Gigaspora*, *Scutellospora*, *Pacispora*, *Paraglomus*, *Intraspora*, *Kuklospora*, *Glomus*, *Ambispora*, *Otospora*, *Racocetra*, *Fuscutata*, *Cetrastroma*, *Quatruncus*, *Dentiscutata* e *Geosiphon* (Schuessler *et al.*, 2001; Oehl *et al.*, 2008; Palenzuela *et al.*, 2008; Walker, 2008; Silva *et al.*, 2008).

As evidências dos registros fósseis, da biologia molecular e das análises filogenéticas estabelecem a origem desses fungos e da simbiose micorrízica há 462 milhões de anos, durante o período Devoniano (Stürmer e Siqueira, 2008), coincidindo com o estabelecimento dos vegetais no ambiente terrestre. Assim, a associação é considerada primordial para garantir a sobrevivência das plantas na terra (Brundrett, 2002).

Os FMA estão amplamente distribuídos na maioria dos ecossistemas naturais (Treseder e Cross, 2006) e formam simbiose mutualística com representantes de mais de 95% das famílias de plantas vasculares (Mehrotra, 2005). Segundo Moreira e Siqueira (2006), a associação de FMA com as plantas é uma regra na natureza e o não estabelecimento desta simbiose está restrito a poucas famílias vegetais (Trappe, 1987), entre as quais: Caryophyllaceae, Brassicaceae, Chenopodiaceae e alguns representantes das famílias Juncaceae, Proteaceae, Polygonaceae, Cyperaceae, (Smith e Read, 2008).

Por serem biotróficos obrigatórios, portanto essencialmente dependentes da presença de plantas hospedeiras para completarem seu ciclo de vida, esses fungos apresentam crescimento limitado quando cultivados em meios sintéticos (Siqueira *et al.*, 1998). A propagação dos FMA ocorre através de esporos, do micélio e de fragmentos de raízes colonizadas (propágulos infectivos) que, ao infectarem as raízes da planta hospedeira, podem se desenvolver e iniciar a associação micorrízica (Smith e Read, 1997).

O ciclo de vida dos FMA é iniciado com a germinação dos esporos, e após a formação do tubo germinativo, algumas hifas iniciam o estabelecimento da simbiose micorrízica arbuscular, que é resultante de uma complexa sequência de estímulos químicos que auxiliam na germinação e direcionamento das hifas no solo.

A regulação funcional e a compatibilidade entre a planta e o fungo provavelmente envolvem a liberação de hormônios e proteínas específicas para a colonização do córtex radicular e formação de estruturas fúngicas típicas (Siqueira *et al.*, 1991). Todos esses passos são modulados pelos fatores bióticos e abióticos do ambiente, principalmente pela disponibilidade de nutrientes no solo (Koide e Schreiner, 1992).

A colonização micorrízica arbuscular se inicia a partir da interface formada entre os propágulos do fungo no solo, dos quais se formam as hifas infectivas, e as estruturas radiculares. Os propágulos, ao encontrarem as raízes, aderem à sua superfície (epiderme ou pêlos radiculares) e formam um apressório, a partir do qual o fungo penetra nas células da epiderme da raiz, formando a “unidade de infecção”. A partir deste ponto, as hifas se espalham e se ramificam inter e intracelularmente no córtex da raiz, constituindo o micélio que formará os arbúsculos, que são estruturas efêmeras responsáveis pela troca de nutrientes com o hospedeiro. Dependendo do gênero, esses fungos formam vesículas, estruturas de reserva do fungo formadas tanto em cavidades celulares quanto em espaços intercelulares (Parniske, 2000; Smith e Read, 2008). Juntamente com a colonização intra-radicular (Figura 2), ocorre a formação de uma profusa rede de micélio extra-radicular que se estende além da região rizosférica da planta e explora maior volume de solo, sendo responsável pelo aumento da absorção de nutrientes e da formação de esporos no solo (Koide, 1991).

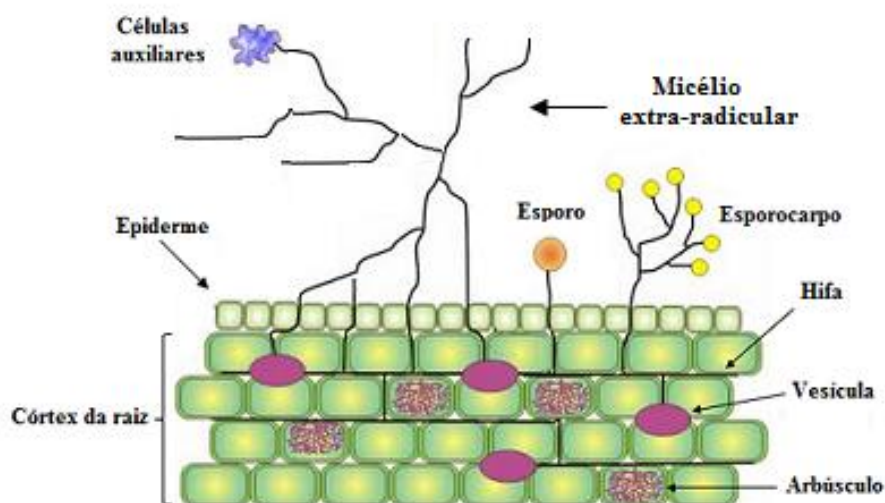


Figura 2. Diagrama mostrando a colonização radicular e formação de estruturas intra e extra-radiculares de um fungo micorrízico arbuscular (Fonte: De-la-Rosa-Mera e Monroy-Ata, 2006, modificado).

Assim, os fungos estabelecem uma perfeita integração morfológica e funcional com as plantas hospedeiras, proporcionando diversos benefícios para os vegetais, principalmente o aumento na absorção de água e nutrientes minerais de baixa mobilidade do solo, particularmente o fósforo e os micronutrientes (Chen *et al.*, 2005). Os FMA promovem ainda aumento da resistência vegetal à patógenos de raízes (Abdalla e Abdel-Fattah, 2000; Maia *et al.*, 2006), bem como maior tolerância a seca e ao excesso de salinidade do solo (Kaya *et al.*, 2003; Yano-Melo *et al.*, 2003), além de influenciarem positivamente a nodulação e a fixação de nitrogênio em leguminosas (Finlay, 2004).

As hifas fúngicas também formam uma complexa rede que envolve as partículas de solo, contribuindo para a manutenção e formação de agregados mais estáveis, que facilitam o intercâmbio gasoso e hídrico no solo (Miller e Jastrow, 2000; Rillig, 2004), favorecendo o desenvolvimento vegetal e melhorando a qualidade do solo (Caravaca *et al.*, 2005).

Considerando a multiplicidade de papéis que os FMAs desempenham nos sistemas planta-solo, a associação micorrízica arbuscular tem sido vista como multifuncional (Newsham *et al.*, 1995) e um importante indicador para acessar a qualidade do solo (Kling e Jakobsen, 1998).

2.3. Diversidade de fungos micorrízicos arbusculares em ambiente semi-árido

As Regiões áridas e semi-áridas são caracterizadas pela flutuação sazonal do regime de chuva, com períodos prolongados de seca, elevado potencial de evapotranspiração, intensas temperaturas, baixa nebulosidade e umidade relativa do ar. Os solos dessas áreas apresentam baixa disponibilidade de nutrientes e água e alto risco de erosão, estando na maioria das vezes em processo de desertificação (Brito-Ramos *et al.*, 2006; Montaña *et al.*, 2008).

Nestes ambientes estressantes, a baixa fertilidade dos solos gera elevada dependência das plantas em relação aos FMA (Roldan-Fajardo, 1994), que minimizam a deficiência de nutrientes e os estresses hídricos (Tarafdar e Praveen-Kumar, 1996), favorecendo a retenção de umidade, estabilidade e agregação das partículas do solo e reduzindo os riscos de erosão (Augé *et al.*, 2001), além de proporcionar ao hospedeiro resistência à seca e salinidade (Sagrero, 2002).

Estudos fornecem evidências de que o desenvolvimento, a ocorrência e a diversidade de FMA podem ser afetados por fatores bióticos e abióticos, tais como: planta hospedeira, ecossistema, sazonalidade, luminosidade, temperatura, pH, umidade, teor de matéria orgânica, disponibilidade de nutrientes, tipo de solo e práticas de manejo do solo (Oehl *et al.*, 2004; Stukenbrock e Rosendahl, 2005; Moreira e Siqueira, 2006; Uhlmann *et al.*, 2006; Ling-Fei *et al.*, 2007).

Os FMA são amplamente distribuídos na maioria dos ecossistemas, estando presentes em praticamente todos os ambientes, desde regiões temperadas passando pelas tropicais e até áridas (desertos), mesmo em ilhas oceânicas (Alves, 2004). Como simbioses obrigatórios, os FMA trazem benefícios à comunidade vegetal e ao ambiente, fornecendo nutrientes e água às plantas (Augé *et al.*, 2001). Como evidenciado por Ruiz-Lozani e Azcón (1995), as micorrizas arbusculares são mais importantes para o crescimento das plantas em condições de baixa umidade do solo do que em solos de umidade adequada, trazendo assim maior benefício em ambientes áridos e semi-áridos.

A ocorrência de FMA tem sido mencionada por vários autores em regiões desérticas, áridas e semi-áridas do México (Pezzani *et al.*, 2006; Guadarrama *et al.*, 2007; Gavito *et al.*, 2008), América do Norte (Stutz *et al.*, 2000), África (Diallo *et al.*, 2000; Stutz *et al.*, 2000; Uhlmann *et al.*, 2006), Espanha (Requena *et al.*, 1996), China (Tao e Zhiwei, 2005; Tian *et al.*, 2006; Shi *et al.*, 2006; Dandan e Zhiwei, 2007; Li *et al.*, 2007; Ling-Fei *et al.*, 2007; Shi *et al.*, 2007) e Namíbia (Uhlmann *et al.*, 2004) onde já foram observadas espécies da grande maioria dos gêneros desses fungos (Silva *et al.*, 2005; Maia *et al.*, 2006; Bashan *et al.*, 2007; Guadarrama *et al.*, 2007; Albuquerque, 2008; Sousa *et al.*, 2008).

No Brasil foram identificadas 99 espécies de FMA (Stürmer e Siqueira, 2008). Com base em alguns trabalhos, foi realizado um levantamento das espécies de FMA em algumas regiões do semi-árido brasileiro (Tabela 1). De acordo com o levantamento realizado no presente trabalho, foram registradas 72 espécies de FMA no semi-árido, o que representa 72,7% daquelas citadas para o Brasil, evidenciando a alta diversidade desses fungos nessa região em relação ao resto do país.

Em caatinga nativa, na região de Xingó (AL), Souza *et al.* (2003) identificaram 24 táxons de FMAs, dos quais oito eram pertencentes ao gênero *Glomus*, sete a *Acaulospora*, quatro a *Scutellospora*, dois a *Gigaspora* e um a *Ambispora*, *Entrophospora* e *Paraglomus*. Esses autores observaram que apenas nove espécies tinham ocorrência registrada em regiões semi-áridas, dentre as quais seis (*Glomus mosseae*, *G. etunicatum*, *Paraglomus occultum*, *G. macrocarpum*, *Gigaspora margarita*, *Acaulospora scrobiculata* e *Ambispora appendicula*) foram citadas no semi-árido brasileiro. Esses autores também observaram que os fungos formavam associação com a maioria das espécies vegetais encontradas, apesar das limitações climáticas da região.

Silva *et al.* (2005), em área de caatinga preservada e em área degradada por mineração de cobre na Bahia, observaram 21 espécies, das quais 15 eram de *Glomus* e uma de cada um dos gêneros *Acaulospora*, *Ambispora*, *Entrophospora*, *Gigaspora*, *Paraglomus* e *Cetraspora*. Esses pesquisadores observaram que as espécies dos gêneros *Ambispora*, *Entrophospora*, *Gigaspora* e *Cetraspora* foram encontradas apenas na área de caatinga preservada, a qual apresentou o maior número de plantas e espécies de FMA.

Em três áreas de caatinga nativa (Caruaru, Serra Talhada e Araripina) no semi-árido pernambucano, Albuquerque (2008) observou 29 espécies de FMA, sendo 12 de *Acaulospora*, sete de *Glomus*, quatro de *Scutellospora*, duas de *Gigaspora* e uma espécie de *Cetraspora*, *Ambispora*, *Entrophospora* e *Kuklospora*. *Acaulospora scrobiculata*, *A. spinosa*, *Entrophospora infrequens*, *Gigaspora ramisporophora*, *Glomus etunicatum*, *G. aff. geosporum*, *G. macrocarpum* e *Scutellospora dipurpurescens* foram comuns às três áreas estudadas.

Mergulhão *et al.* (2009), em área de caatinga nativa e impactada por mineração de gipsita em Pernambuco, identificaram 34 espécies de FMA, distribuídas nos gêneros *Glomus*, *Acaulospora*, *Ambispora*, *Entrophospora*, *Gigaspora*, *Scutellospora*, *Dentiscutata*, *Racocetra*, *Fuscutata*, *Cetraspora* e *Paraglomus*.

Silva *et al.* (2008), descobriram uma nova espécie, *Scutellospora pernambucana*, no semi-árido pernambucano. Goto *et al.* (2009; 2010), descreveram duas novas espécies, *Racocetra intraornata* e *Dentiscutata colliculosa*, em área de caatinga de Pernambuco. As evidências indicam que existem outras possíveis novas espécies a serem encontradas na região.

Na maioria dos trabalhos realizados em regiões semi-áridas há predomínio de espécies de *Glomus* e *Acaulospora*. De acordo com Maia *et al.* (2006), em regiões semi-áridas do mundo é comum a predominância do gênero *Glomus* em relação aos demais, sendo esse o gênero com maior número de espécies descritas. Além disso, *Acaulospora* possui maior representatividade dentro do que fora do Brasil. Souza *et al.* (2003) relatam que a distribuição dos FMA pode ter relação com as diferentes estratégias de sobrevivência desses fungos, que se adaptam a condições bióticas e abióticas específicas de um determinado ambiente. Alguns autores demonstraram que espécies de *Acaulospora* tendem a ser encontradas em solos com pH menor que 6,5 e/ou com baixo teor de fósforo (Maia e Trufem, 1990; Souza *et al.*, 2003; Oehl *et al.*, 2004; Gai *et al.*, 2006).

Segundo Stürmer (1999), espécies de *Acaulospora* são mais frequentemente encontradas em solos ácidos (pH < 6,2). Gomes e Trufem (1998) encontraram espécies de *Acaulospora* e *Glomus* em solos ácidos (pH 3,2 e 3,4), confirmando a presença desses gêneros em solos com baixo pH. Carrenho *et al.* (2001) verificaram a ocorrência de *Glomus mosseae* em solos com pH neutro (6,9). De acordo com Schenck e Siqueira (1987), *G. mosseae* tem preferência por pH neutro a levemente alcalino. Silva *et al.* (2005) também observaram essa espécie em áreas com valores de pH neutro a levemente alcalino (6,2-7,8).

Allen *et al.* (1998) e Wilson *et al.* (1992) registraram maior ocorrência de espécies de *Glomus* e *Acaulospora*, respectivamente, em floresta tropical decídua, no México, e em plantações de *Terminalia* spp., numa floresta tropical na Costa do Marfim. As temperaturas médias anuais (26 a 27 °C) nestes locais são semelhantes às da região semi-árida do Nordeste, sugerindo que um gradiente latitudinal de temperatura, associado a fatores edáficos, como baixo pH, podem ter influenciado a maior ocorrência de espécies de *Glomus* e *Acaulospora*.

Os trabalhos disponíveis sobre a biodiversidade na Caatinga mostram a importância desse bioma para se ampliar o conhecimento sobre a presença de espécies de FMA no semi-árido e no Brasil.

Tabela 1. Espécies de FMA detectadas em áreas de Caatinga no semi-árido brasileiro

ESPÉCIES DE FMA	REFERÊNCIAS
<i>Acaulospora delicata</i> C.Walker, C.M. Pfeiff. & Bloss	6, 9
<i>A. denticulata</i> Sieverding & S. Toro	2, 6,
<i>A. elegans</i> Trappe & Gerd.	6
<i>A. excavata</i> Ingleby & C. Walker	2, 6, 7, 8, 9
<i>A. foveata</i> Trappe & Janos	3, 6, 7, 8
<i>A. koskei</i> Blaszk.	9
<i>A. laevis</i> Gerd. & Trappe	6
<i>A. lacunosa</i> J.B. Morton	2, 6,
<i>A. longula</i> Spain & N.C. Schenck	2, 3, 6, 7
<i>A. mellea</i> Spain & N.C. Schenck	5, 6, 7, 8
<i>A. morrowiae</i> Spain & N.C. Schenck	3, 6, 9
<i>A. rehmanii</i> Sieverding & S. Toro	2, 6, 7, 8, 9
<i>A. scrobiculata</i> Trappe	1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9
<i>A. spinosa</i> C. Walker & Trappe	3, 6, 9
<i>A. tuberculata</i> Janos & Trappe	3, 5, 6, 7, 8, 9
<i>Ambispora appendicula</i> (Spain, Sieverd. & N.C. Schenck) Spain, Oehl & Sieverd.	2, 3, 4, 6, 7, 8, 9
<i>A. gerdemanni</i> (N.C. Schenck & T.H. Nicholson) Spain, Oehl & Sieverd.	1, 6,
<i>A. leptoticha</i> (N.C. Schenck & G.S. Sm.) C. Walker, Vestberg & A. Schüssler	3, 5, 7
<i>Archaeospora trappei</i> (R.N.Ames & Lindeman) J.B. Morton & Redecker	3,
<i>Cetranspora gilmorei</i> (Trappe & Gerd.) Oehl, F.A. de Souza & Sieverd.	4,
<i>C. pellucida</i> (T.H. Nicolson & N.C. Schenck) Oehl, F.A. de Souza & Sieverd.	2, 3, 5, 6, 7, 8, 9
<i>Dentiscutata biornata</i> (Spain, Sieverd. & S. Toro) Oehl, F.A. de Souza & Sieverd.	5, 7
<i>D. cerradensis</i> (Spain & J. Miranda) Oehl, F.A. de Souza & Sieverd.	6
<i>D. colliculosa</i> B.T. Goto & Oehl	12
<i>D. scutata</i> (C. Walker & Dieder.) Oehl, F.A. de Souza & Sieverd.	7
<i>Diversispora spurcum</i> (C.M. Pfeiff., C. Walker & Bloss) C. Walker & A. Schüssler	2, 6,
<i>Entrophospora infrequens</i> (I.R. Hall) R.N. Ames & Schneid. emend. Oehl & Sieverd.	4, 6, 7, 8, 9
<i>Fuscutata heterogama</i> (T.H. Nicolson & Gerd.) Oehl, F.A. de Souza, L.C. Maia & Sieverd.	2, 6, 7, 8
<i>Gigaspora albida</i> N.C. Schenck & G.S. Sm.	2, 6,
<i>G. decipiens</i> I.R. Hall & L.K. Abbott	5, 8
<i>G. gigantea</i> (T.H. Nicholson & Gerd.) Gerd. & Trappe	6, 7
<i>G. margarita</i> W.N. Becker & I.R. Hall	1, 2, 3, 4, 6, 7, 8, 9
<i>G. ramisporophora</i> Spain, Sieverd. & N.C. Schenck	6, 9
<i>Glomus aggregatum</i> N.C. Schenck & G.S. Sm. emend. Koske	3,
<i>G. albidum</i> C. Walker & L.H. Rhodes	4,
<i>G. ambisporum</i> G.S. Sm. & N.C. Schenck	7

Continuação da tabela 1

<i>G. arboreense</i> McGee	3,
<i>G. claroideum</i> N.C. Schenck & G.S. Sm	3,
<i>G. clarum</i> T.H. Nicolson & N.C. Schenck	1, 3, 5
<i>G. clavisporum</i> ((Trappe) R.T. Almeida & N.C. Schenck	5, 7, 9
<i>G. coremioides</i> (Berk. & Broome) D. Redecker & J.B. Morton	5, 7
<i>G. diaphanum</i> J.B. Morton & C. Walker	3, 4,
<i>G. etunicatum</i> W.N. Becker & Gerd.	1, 2, 3, 4, 5, 7, 8,
<i>G. fasciculatum</i> (Thaxt.) Gerd. & Trappe emend. C. Walker & Koske	9
<i>G. geosporum</i> (T.H. Nicolson & Gerd.) C. Walker	2,
<i>G. glomerulatum</i> Sieverd.	5, 7, 8
<i>G. halonatum</i> S.L. Rose & Trappe	7, 9
<i>G. heterosporum</i> G.S. Sm. & N.C. Schenck	3,
<i>G. intraradices</i> N.C. Schenck & G.S. Sm.	7,
<i>G. invermaium</i> I.R. Hall	1, 3, 4,
<i>G. macrocarpum</i> Tul. & C. Tul.	1, 3, 4, 7, 8, 9
<i>G. microaggregatum</i> Koske, Gemma & P.D. Olexia	1, 3, 4, 8
<i>G. microcarpum</i> Tul. & C. Tul	1, 2, 3, 4, 8
<i>G. mosseae</i> (T.H. Nicolson & Gerd.) Gerd. & Trappe	1, 2, 4, 7, 8
<i>G. pallidum</i> I.R. Hall	7
<i>G. sinuosum</i> (Gerd. & B.K. Bakshi) R.T.Almeida & N.C. Schenck.	1, 4, 5, 7
<i>G. tortuosum</i> N.C.Schenck & G.S. Sm.	4,
<i>Kuklospora kentinensis</i> (Wu & Liu) Oehl & Sieverd.	2, 6,
<i>K. colombiana</i> (Spain & N.C. Schenck) Oehl & Sieverd.	3, 6, 9
<i>Paraglomus occultum</i> (C. Walker) J.B. Morton & D. Redecker	1, 2, 4, 5, 6, 7, 8
<i>Scutellospora aurigloba</i> (I.R. Hall) C.Walker & F.E. Sanders	6, 7, 9
<i>S. calospora</i> (T.H. Nicolson & Gerd.) C. Walker & F.E. Sanders	6, 7, 9
<i>S. dipurpurescens</i> J.B. Morton & Koske	9
<i>S. pernambucana</i> Oehl, D.K Silva, N. Freitas, L.C. Maia	10
<i>Racocetra coralloidea</i> (Trappe, Gerd. & I. Ho) Oehl, F.A. de Souza & Sieverd.	3, 6
<i>R. fulgida</i> (Koske & C. Walker) Oehl, F.A. de Souza & Sieverd.	8
<i>R. gregaria</i> (N.C. Schenck & T.H. Nicolson) Oehl, F.A. de Souza & Sieverd.	5, 6, 7, 8
<i>R. intraornata</i> B.T. Goto & Oehl	11
<i>R. persica</i> (Koske & C. Walker) Oehl, F.A. de Souza & Sieverd.	8
<i>R. verrucosa</i> (Koske & C. Walker) Oehl, F.A. de Souza & Sieverd.	3, 5
<i>R. weresubiae</i> (Koske & C. Walker) Oehl, F.A. Souza & Sieverd.	2, 6,
<i>Quatunica erythropus</i> (Koske & C. Walker) Oehl, F.A. de Souza & Sieverd.	6, 8

Fonte: 1. Silva, G.A. (2000); 2. Souza *et al.*, (2003); 3. Aguiar (2004); 4. Silva *et al.*, (2005); 5. Gattai (2006); 6. Maia *et al.*, (2006); 7. Mergulhão (2006); 8. Silva *et al.*, (2007); 9. Albuquerque (2008); 10. Silva *et al* (2008); 11. Goto *et al.*, (2009); 12. Goto *et al.*, (2010).

2.4. Ferramentas utilizadas na identificação dos FMA

A primeira classificação para os FMA, estabelecida por Gerdemann e Trappe (1974), incluía todas as espécies descritas na família Endogonaceae (Divisão Zygomycota, Ordem Endogonales). Esses autores forneceram a base para identificação e descrição das espécies, baseadas no tamanho e cor dos esporos, além da análise das camadas de parede fenotipicamente distintas dos esporos. Walker (1983) nomeou e representou graficamente os diferentes “tipos de paredes” nos FMA, elaborando um método aparentemente simples para identificação das espécies.

A taxonomia dos FMA baseia-se quase que exclusivamente na morfologia e ontogenia de seus esporos (Morton e Benny, 1990), as estruturas fúngicas que apresentam as melhores características para distinção ao nível de espécies (Walker, 1983), tais como a cor, forma, estruturas subcelulares, ornamentações e reações histoquímicas da parede dos esporos (Bentivenga e Morton, 1994) que, geralmente, são visualizadas com o auxílio da resina PVLG (álcool polivinílico lactoglicerol) e Reagente de Melzer. Entretanto, esta caracterização fenotípica pode ser influenciada por atributos fisiológicos dos FMA e pelas condições ambientais (Redecker *et al.*, 2003), causando problemas na identificação precisa dos esporos, visto que os mesmos, quando coletados diretamente do campo, geralmente encontram-se parasitados ou estão em fases de desenvolvimento inadequadas para a identificação das estruturas diferenciadoras (Morton *et al.*, 1995).

Além disso, o fato de os FMA serem simbiontes obrigatórios e, portanto, não serem passíveis de cultivo em meios de cultura, torna mais difícil a sua identificação morfológica. Métodos especiais como o desenvolvimento do fungo em determinadas plantas cultivadas em vasos em casas de vegetação (Souza *et al.*, 2003) ou em raízes transformadas com *Agrobacterium rhizogenes* (Becard e Fortin, 1988; Tiwari e Adholeya, 2002) seriam uma alternativa para a manutenção dessas linhagens para propósitos experimentais ou taxonômicos, entretanto, esses métodos são trabalhosos, requerem longo tempo para o desenvolvimento das plantas e são seletivos como qualquer outro tipo de meio de cultura (Carrenho *et al.*, 2002).

Devido à complexidade taxonômica dos FMA, foram desenvolvidos métodos alternativos para auxiliar na identificação desses fungos, tais como a aplicação de técnicas quimiotaxonômicas, como os padrões de ácidos graxos (Sancholle e Dalpé, 1993; Graham *et al.*, 1995; Bentivenga e Morton, 1996; van Aarle e Olsson 2003; Grigera *et al.*, 2007), o uso de isoenzimas (Dodd *et al.*, 1996) e, mais recentemente, a utilização de técnicas de biologia molecular baseadas na extração, amplificação e caracterização de ácidos nucléicos (Schüssler *et al.*, 2001; Redecker *et al.*, 2003; Stukenbrock e Rosendahl, 2005; Hempel *et al.*, 2007; Lee *et al.*, 2008; Gamper *et al.*, 2009).

Atualmente, a caracterização dos FMA por métodos moleculares vem contribuindo para considerável avanço nos conhecimentos sobre filogenia (Schwarzott *et al.*, 2001; Schüssler *et al.*, 2001; de Sousa *et al.*, 2005; Silva *et al.*, 2006; Wu *et al.*, 2007; Oehl *et al.*, 2008), ecologia (Helgason *et al.*, 1998; 2002; Husband *et al.*, 2002, Kowalchuk *et al.*, 2002), genética (Harrison 1999; Gianinazzi-Person *et al.*, 2001) e evolução (Sanders, 2002; Gandolfi *et al.*, 2003) deste grupo de fungos.

Na maioria dos estudos moleculares, a maior parte das seqüências já caracterizadas destes fungos está relacionada aos genes RNA ribossomais que estão entre as seqüências mais comuns e conservadas encontradas na natureza. Tipicamente os genes do rRNA de eucariotos são encontrados como unidade repetitivas em seqüências (100 a 200 cópias), separadas por espaços não transcritos chamados NTS (Non trascribed Spacers). Cada unidade transcrita é composta por genes do rRNA 18S, 5.8S e 28S (Figura 3), bem como de várias regiões espaçadoras internas que são transcritas chamadas ITS (Internal transcribed Spacers), que por apresentarem taxas de evolução mais rápidas que a subunidade menor do RNA ribossomal (SSU rDNA) e maior do RNA ribossomal (LSU rDNA) podem ser utilizadas na caracterização de diferentes espécies (White *et al.*, 1990; Lafranco *et al.*, 2001). A região que compreende os genes ribossomais vem sendo bastante utilizada nos estudos da filogenia e na identificação dos FMA por conterem regiões extremamente conservadas que permitem a construção de diversos iniciadores.



Figura 3. Desenho esquemático do conjunto de genes ribossomais.

Adicionalmente, o uso das técnicas moleculares, tais como a amplificação, clonagem e seqüenciamento da SSU e LSU rDNA (Schwarzott e Schüssler, 2001; Silva Júnior, 2004; Corradi *et al.*, 2007) e ITS (Colozzi-Filho e Cardoso, 2000; Lekberg *et al.*, 2007; Aldrich-Wolfe, 2007), Eletroforese em gel de gradiente desnaturante - DGGE (de Sousa *et al.*, 2004; Santos *et al.*, 2006; Novais, 2008) e o chamado "DNA fingerprinting" (Kowalchuk *et al.*, 2002; Öpik *et al.*, 2003; dos Santos, 2008), tem permitido a identificação taxonômica dos FMA a partir de esporos coletados diretamente do campo e também em raízes colonizadas.

A maioria destas técnicas baseia-se na utilização da reação em cadeia da polimerase (PCR), que consiste na amplificação *in vitro* do número de cópias de regiões do DNA que são complementadas por iniciadores específicos, sendo necessárias quantidades mínimas de DNA (Córdoba *et al.*, 2002).

Os primeiros trabalhos utilizando técnicas moleculares no rDNA em FMA foram realizados na década de 90 por Simon e colaboradores (Simon et al., 1992a, 1992b; 1993a; 1993b), os quais aplicaram técnicas de PCR ao estudo de genes nucleares codificadores do SSU rDNA, desenhando iniciadores específicos para os FMA capazes de amplificar o DNA fúngico em raízes colonizadas. No entanto, outros autores verificaram que esses iniciadores não amplificavam todas as espécies de Glomeromycota (Clapp et al., 1995; Redecker et al., 2000; Schüssler et al., 2001). Além do mais, foram identificados problemas ao amplificar amostras de raízes colonizadas oriundas do campo (Clapp et al. 1999).

Helgason et al. (1998) desenhou o iniciador AM1, que em combinação com o NS31 amplifica a região central variável da SSU rDNA (18S rDNA) dos FMA. Esta combinação de iniciadores foi largamente usada em estudos de campo (Öpik et al., 2006). No entanto, não amplificam espécies pertencentes às famílias Archaeosporaceae e Paraglomeraceae. Outros autores construíram iniciadores para a região LSU rDNA (Kjoller e Rosendahl, 2000; Gollotte et al., 2004). Entretanto, também só amplificaram um subconjunto dos Glomeromycota. Redecker (2000) desenhou uma combinação de iniciadores para as regiões SSU e ITS permitindo detectar sete gêneros do filo Glomeromycota, inclusive das famílias Archaeosporaceae e Paraglomeraceae.

No Brasil, Colozzi Filho e Cardoso (2000) utilizaram ITS5/ITS4 para amplificar o DNA de FMA de raízes de cafeeiro colonizadas e estudar a dinâmica populacional dos FMA nativos. Segundo os autores, a comparação entre os amplicons de ITS obtidas das raízes colonizadas e de esporos coletados na rizosfera permitiu concluir que a presença do esporo na rizosfera não é um indicativo seguro da colonização da raiz.

Com base em caracteres morfológicos e moleculares (SSU rDNA), Morton e Redecker (2001) propuseram duas novas famílias Paraglomeraceae e Archaeosporaceae e seus respectivos gêneros Paraglomus e Archeospora. Estas famílias são consideradas grupos ancestrais dos fungos micorrizicos arbusculares.

Kowalchuk et al. (2002) utilizaram a técnica do DGGE para o estudo de comunidades de FMA associadas a gramíneas crescendo em dunas de areia na Holanda. Os autores mencionaram que a partir dessa metodologia foi possível detectar e identificar espécies de FMA no solo e nas raízes colonizadas, sem o uso de culturas-armadilha. Foram detectadas seqüências de Glomus e Scutellospora. Os autores observaram também que a diversidade de esporos na rizosfera pode não representar a estrutura da comunidade que está colonizando as raízes.

Utilizando AM1/NS31 para amplificação do DNA de FMA colonizando raízes de Araucaria angustifolia, Moreira et al. (2005) verificaram a presença de uma espécie de Acaulospora e duas de Glomus colonizando um mesmo segmento de raiz, além de outros fungos não micorrizicos.

Lee et al. (2008) desenharam um conjunto de iniciadores específicos (AML1/AML2) que amplifica a região do 18S rDNA de todos os subgrupos de FMA, exceto *Archaeospora trappei*. A especificidade dos novos iniciadores foi testada em 23 espécies de FMA obtidos a partir de culturas-armadilha e de raízes colonizadas de *Miscanthus sinensis*, *Glycine max* e *Panax ginseng* provenientes do campo e concluíram que são mais específicos aos Glomeromycota.

Assim, técnicas moleculares são ferramentas poderosas e tem sido de grande utilidade na taxonomia e caracterização dos FMA. Na maioria dos casos, classificações baseadas em marcadores moleculares corroboram aquelas realizadas com base em características morfológicas (Mergulhão, 2006). Desta forma, estudos que incluam aspectos morfológicos e moleculares devem ser realizados de forma a se obter uma visão mais completa da biologia destes fungos, resultando em identificações mais precisas dos organismos e melhor análise da diversidade dos FMA.

2.5. Glomalina

A glomalina é uma glicoproteína hidrofóbica de elevado peso molecular, produzida por FMA. É encontrada com relativa abundância em solos de diversos ecossistemas (Rillig et al., 2002, Rillig et al., 2003; Lovelock et al., 2004; Borie et al., 2006). Segundo Nichols (2003), essa glicoproteína foi descoberta por Wright e seus colaboradores em 1996, durante trabalhos para produção de anticorpos monoclonais visando à identificação de FMA. O termo glomalina faz referência à antiga ordem Glomales, na qual estavam inseridos os FMA (Morton e Benny, 1990).

O comportamento recalcitrante da glomalina, sua natureza glicoprotéica e característica hidrófoba sugerem que esta é uma biomolécula que apresenta alta estabilidade no solo (Wright e Upadhyaya, 1998), com vida média de 6 a 42 anos e baixa velocidade de degradação, dependendo do solo de origem (Rillig et al., 2001).

Driver et al. (2005) sugeriram que a glomalina seria um componente da parede da hifa, visto que 80% fica aderida fortemente a essa estrutura e aos esporos; assim, essa proteína teria função primordial para o micélio e secundária para a agregação do solo (Gadkar e Rillig, 2006).

Duas frações de glomalina são tipicamente extraídas do solo: a facilmente extraível (GFE), que é considerada a fração da proteína depositada mais recentemente; e a glomalina total (GT), que é extremamente persistente no solo e representa a quantidade total da proteína, tanto na superfície como no interior dos agregados (Wright e Upadhyaya, 1998).

Esta proteína é quantificada por métodos bioquímicos de dosagem protéica (Bradford, 1976). A fração GFE é extraída em solução de citrato de sódio (20 mM; pH 7,0) após um ciclo em autoclave (121 oC) por 30 minutos, enquanto a GT é determinada por uma extração exaustiva a

partir do sedimento da GFE, sendo adicionado citrato de sódio mais concentrado e alcalino (50 mM; pH 8,0). Este procedimento é realizado por vários ciclos até os sobrenadantes não mais apresentarem coloração marrom-avermelhada, característica da glomalina (Wright e Upadhyaya, 1998). A quantificação da fração imunoreativa é realizada através do anticorpo monoclonal MAB 32b11, desenvolvido a partir de esporos de *Glomus intraradices*, utilizado em técnicas imunológicas, como ELISA (Wright e Upadhyaya, 1998).

Estudos recentes demonstraram que, além da glomalina, outros componentes da matéria orgânica do solo podem ser extraídos e quantificados pelos métodos utilizados (Schindler et al., 2006; Rosier et al., 2006). Diante disso, Rillig (2004) propôs que o termo “glomalina” fosse trocado por “proteínas do solo relacionadas à glomalina (PSRG)”. O autor também sugeriu que os termos Glomalina total (GT) e Glomalina facilmente extraível do solo (GEF) fossem substituídos por proteína total do solo reativa ao método de Bradford (BRPS) e proteína facilmente extraível do solo reativa ao método de Bradford (FE-BRPS), respectivamente, enquanto as frações imunoreativas deveriam ser chamadas proteínas imunorreativas totais (PSIR) e facilmente extraível do solo (FE-PSIR).

Apesar de ainda não se conhecer a estrutura química da glomalina, sabe-se que esta é composta por um complexo de aminoácidos, carboidratos e ferro (Nichols, 2003). Além disso, contém uma alta porcentagem de carbono (27,9 a 43,1%, Rillig et al., 2003), chegando a representar cerca de 52% do carbono total em solos orgânicos (Schindler et al., 2007), o qual é incorporado diretamente ao solo mediante decomposição dos propágulos fúngicos.

A glomalina é capaz de adsorver naturalmente o carbono, mantendo-o no solo, e ainda ajuda a fertilizar a terra devido à sua característica de adesão, de modo a agregar as partículas do solo, criando espaços sob a superfície que permitem a penetração de água, oxigênio e raízes (Rillig et al., 2002; Rillig, 2004).

Dentre as várias propriedades da glomalina pode-se citar a contribuição para aumentar a estabilização de agregados (Wright e Upadhyaya, 1998; Knorr et al., 2003), a capacidade de seqüestrar elementos potencialmente tóxicos (González-Chávez et al., 2004) e a sua importância como reservatório de carbono no solo (Rillig et al., 1999). Além disso, serve como fonte de nitrogênio e carbono para os microrganismos (Harner et al., 2005) e contribui para a manutenção da estrutura do solo, reduzindo os riscos de erosão em áreas degradadas (Caravaca et al., 2005).

A concentração da fração da proteína facilmente extraível (FE-BRPS) em áreas revegetadas com plantas micorrizadas pode chegar a 3,65 mg g⁻¹ solo (Caravaca et al., 2005). Em áreas agrícolas, os valores de glomalina facilmente extraível estão em torno de 0,5 mg g⁻¹ solo (Rillig et

al., 2003); porém em regiões semi-áridas varia de 0,3 e 0,6 mg g⁻¹ solo (Bird et al., 2002). Em solo de floresta, Rillig et al. (2001) conseguiram extrair > 60 mg glomalina g⁻¹ solo.

Lovelock et al. (2004), em solos tropicais da Costa Rica, observaram valores médios de glomalina em torno de 3,94 mg g⁻¹ de BRPS e 1,68 mg g⁻¹ de FE-BRPS. Os autores estabeleceram correlações entre a glomalina e características relacionadas à fertilidade do solo. Para esses autores, o maior acúmulo de glomalina em solos menos férteis pode estar relacionado à menor taxa de decomposição e maior complexação de compostos orgânicos observada nestes ambientes, quando comparados a solos férteis. Porém, Silva (2006) registrou, na rizosfera de maracujazeiros doce, correlações positivas entre frações de glomalina e teores de P, matéria orgânica e valores de CTC (Capacidade de troca de cátions), observando também aumento na produção da proteína em solo com alta fertilidade. Segundo González-Chávez et al. (2004), a glomalina pode ser uma molécula com potencial para remediação de solos contaminados com metais pesados. Esses autores observaram que essa glicoproteína atuou no seqüestro de diferentes metais pesados.

A maioria dos trabalhos até então desenvolvidos com a glomalina mostra que parece ser um atributo não sensível a variações sazonais. No entanto, esse comportamento depende da fração e do ambiente estudado (Steinberg e Rillig, 2003; Albuquerque, 2008).

Pouco se conhece sobre os depósitos de glomalina em solos brasileiros, devendo-se incentivar estudos com esta biomolécula, visto que a análise da glomalina pode ser incorporada em protocolos para avaliação da qualidade microbiológica do solo (Mello, 2006).

2.6. Atividade microbiana do solo

O solo é um recurso natural dinâmico e não renovável, essencial ao desenvolvimento vegetal e ao funcionamento dos ecossistemas terrestres (Moreira e Siqueira, 2002). Como um sistema vital, regula o balanço global de energia, e serve como meio para a maioria dos ciclos biogeoquímicos. Além disso, promove o crescimento vegetal, disponibilizando água, nutrientes e oxigênio às plantas e atua na regulação hídrica do ambiente e na transformação e degradação de compostos poluentes (Doran et al., 1996).

O solo é um habitat que oferece ambiente propício para um vasto, diverso e interativo conjunto de microrganismos, os quais participam de processos chave no ecossistema tais como decomposição e transformação da matéria orgânica, produção de húmus, ciclagem de nutrientes e energia, fixação do nitrogênio atmosférico, agregação do solo e decomposição de xenobióticos. Além disso, esses organismos atuam no controle biológico de pragas e doenças (Lambais et al.,

2005) e estabelecem relações simbióticas com a maioria das plantas (Chimner, 2004; Monson et al., 2006; Moreira e Siqueira, 2006).

Esses processos microbianos têm grande influência na determinação de propriedades químicas e físicas do solo (Viana, 2002), contribuindo para a manutenção de sua qualidade (Nielsen e Winding, 2002; Barea et al., 2005; Acosta-Martinez et al., 2008; Fernández et al., 2008). Gil-Sotres et al. (2005) definiram a qualidade do solo como equilíbrio entre todos os componentes do ambiente edáfico e a capacidade de manutenção de alta produtividade, causando o mínimo de distúrbios ambientais.

A microbiota edáfica e suas comunidades estão continuamente mudando e se adaptando às alterações ambientais. A dinâmica natural desses organismos faz deles indicadores potencialmente sensíveis para se avaliar as mudanças no solo resultantes de diferentes práticas e sistemas de manejo. Assim, a atividade microbiana do solo é considerada indicador no monitoramento dos distúrbios, devido ao seu papel no funcionamento do ecossistema (Facci, 2008).

De acordo com Grisi (1995), ao se avaliar a atividade dos microrganismos pode-se ter uma idéia sobre a importância do seu papel nos ecossistemas, ou seja, se em determinadas condições ambientais as populações microbianas estão em atividade, decompondo a necromassa, promovendo a biogeociclagem dos nutrientes.

Moreira e Siqueira (2002) definem a atividade microbiológica como toda reação catalisada pelos microrganismos do solo, refletindo o estado fisiológico de células ativas. Esta atividade pode ser dividida em geral - proveniente de todos ou quase todos os microrganismos edáficos (exemplo: a respiração); e específica - exercida por grupos específicos de microrganismos (exemplo: a atividade de determinadas enzimas). Alguns parâmetros são utilizados para avaliação da atividade microbiana do solo, dentre os quais a estimativa da respiração basal do solo e a atividade enzimática têm sido utilizadas como bioindicadores da microbiota edáfica, sendo importantes na determinação da qualidade dos solos em sistemas naturais e manejados (Caravaca et al., 2002; Gil-Sotres et al., 2005; Bastida et al., 2006, Chaer e Tólot, 2007; Bastida et al., 2008; Batista, 2008).

A respiração basal do solo é definida como a oxidação da matéria orgânica a CO₂ pelos microrganismos heterotróficos que ocupam posição chave no ciclo do carbono nos ecossistemas terrestres (Araújo et al., 2008). Esse parâmetro tem sido um bom indicador da qualidade do solo, sendo comumente utilizado para quantificar a atividade da microbiota edáfica (Nsabimana et al., 2004; Penã et al., 2005; Costa et al., 2006; Franchini et al., 2007). Bakke et al. (2001) relatam que estudos da respiração edáfica ajudam a explicar muitos processos que ocorrem no solo e são de fundamental importância para a recuperação de áreas degradadas. Assim como outras atividades metabólicas, a respiração é dependente do estado fisiológico da célula, sendo influenciada por

diversos fatores no solo, tais como: umidade, temperatura, estrutura do solo e disponibilidade de nutrientes (Carvalho, 2005).

Valores médios de respiração do solo variam amplamente dentro e entre os diversos biomas. Os índices mais baixos de respiração do solo ocorrem nos biomas mais frios (tundra) e mais secos (desertos e regiões semi-áridas). Os índices mais altos ocorrem em florestas tropicais úmidas, onde tanto a temperatura como a umidade são elevadas durante todo o ano (Raich e Schlesinger, 1992).

Segundo Sing e Gupta (1977), em regiões de clima temperado, os solos de floresta apresentam respiração, em média, de 0,1 a 0,5 g CO₂.m⁻².h⁻¹ e em campos cultiváveis até 1,0 g CO₂.m⁻².h⁻¹. Em solos de floresta tropical ricos em material nutritivo pode-se medir uma taxa entre 1,0 e 1,2 g CO₂.m⁻².h⁻¹ durante o período úmido do ano; sobre solos arenosos, regiões secas e nas tundras a taxa varia de 0,05 a 0,2 g CO₂.m⁻².h⁻¹.

A determinação da atividade de várias enzimas no solo é outra forma de se avaliar a atividade microbiana. As enzimas são mediadoras diretas no catabolismo biológico do solo orgânico e dos componentes minerais, por isso têm sido sugeridas como potenciais indicadores da qualidade do solo, indicando mudanças ocorridas na microbiota edáfica sem, entretanto, relacioná-las a algum grupo específico de organismo (Andrade e Silveira, 2004).

Existem vários tipos de enzimas presentes no solo produzidas por microrganismos (fungos e bactérias), ou derivadas de tecidos animais e vegetais. Dentre elas, as desidrogenases são enzimas intracelulares, encontradas nas membranas das células vivas. Essas enzimas fazem parte da cadeia respiratória que possui O₂ como aceptor final de elétrons. Elas oxidam compostos orgânicos pela transferência de um par de elétrons para um aceptor, NAD ou NADP, formando o NADH ou NADPH (Rogers e Tate, 2001). A atividade da desidrogenase reflete, portanto, a taxa da respiração microbiológica (Majer, 2000), fornecendo informações da parte ativa da comunidade microbiológica do solo. A atividade da desidrogenase tem sido utilizada desde 1956 para estimar a atividade microbiana do solo (Zatore, 2008), sendo considerada boa indicadora do metabolismo oxidativo (Stromberger et al., 2005).

Estudos sobre o monitoramento das propriedades biológicas do solo são importantes para avaliar a sustentabilidade de áreas naturais e suprir a ausência de informações que possam ser utilizadas em programas de conservação e sustentabilidade dos ecossistemas. Indicadores biológicos que estimam a atividade microbiana têm sido bastante utilizados nos estudos de qualidade do solo, pois são mais sensíveis e respondem rapidamente às mudanças ocorridas por diferentes tipos de manejo ou condições ambientais (Fialho et al., 2006; Souto et al., 2008).

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. Caracterização da área de estudo

O estudo foi desenvolvido em área de caatinga nativa na Estação Experimental do Instituto Agrônomo de Pernambuco - IPA (8°13' S, 35° 55' W, 560 m de altitude), situada no município de Caruaru, na mesorregião do agreste de Pernambuco (Figura 1). O agreste compreende uma área de transição, entre as zonas fisiográficas da Mata Atlântica e do Sertão (Prado, 2003). O clima é estacional, com precipitação pluviométrica anual de 710 mm, a temperatura média compensada é de 22,7 °C e a média da umidade relativa do ar 59%. A estação chuvosa concentra-se de março a agosto e a estação de estiagem estende-se de setembro a fevereiro (Araújo *et al.*, 2005).



Figura 1. Entrada da Estação Experimental do Instituto Agrônomo de Pernambuco (IPA), no município de Caruaru, PE.

O solo da área é do tipo Podzólico amarelo eutrófico, com textura franco-arenosa e relevo ondulado. A vegetação predominante é a Caatinga hipoxerófila, classificada como Caducifólia Espinhosa e composta, principalmente, pelas seguintes famílias: Euphorbiaceae, Mimosaceae, Caesalpiniaceae, Malvaceae, Poaceae, Asteraceae e Convolvulaceae (Alcoforado-Filho *et al.*, 2003).

3.2. Coleta das amostras

Foram realizadas coletas de solo e raízes em dois períodos de amostragem: início do período chuvoso (março/2008) e de estiagem (setembro/2008) (Figura 2).

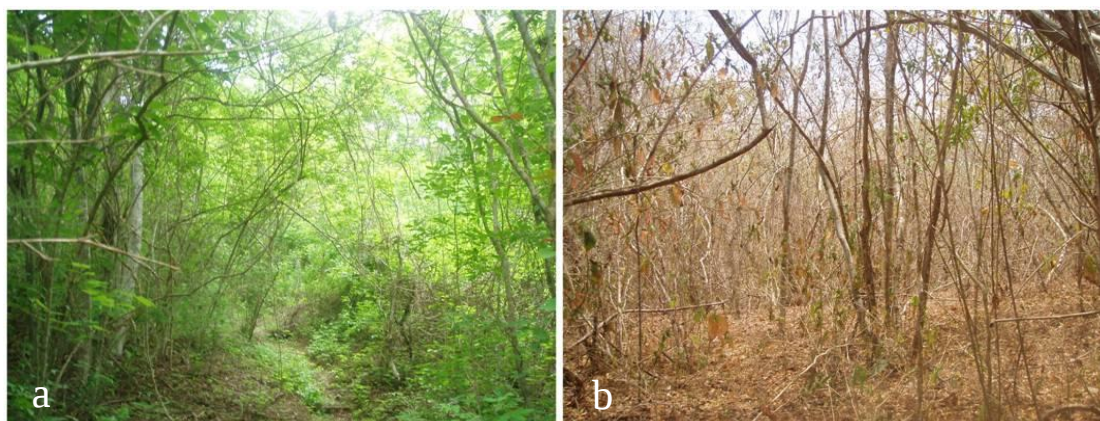


Figura 2. Estação Experimental do Instituto Agrônomo de Pernambuco (IPA) no Município de Caruaru no período chuvoso (a) e no de estiagem (b) .

As precipitações pluviométricas durante os meses de coleta foram 144,3 mm em março e 10,8 mm em setembro (Tabela 1).

Tabela 1. Precipitação pluviométrica mensal média (mm) registrada no município de Caruaru, PE

	Meses											
	2007						2008					
	Out	Nov	Dez	Jan	Fev	Mar	Abr	Mai	Jun	Jul	Ago	Set
Precipitação pluviométrica (mm)	0,0	10,4	23,6	127,0	32,5	162,2	89,0	88,2	57,7	79,0	75,3	10,8

Fonte: LAMEPE/ITEP ([http:// www.itep.br/LAMEPE.asp](http://www.itep.br/LAMEPE.asp))

Nas duas estações climáticas foram coletadas, em zig-zag, 20 amostras (formadas de três subamostras) do solo da rizosfera de plantas escolhidas aleatoriamente. Após a triagem manual das raízes, as amostras de cada quatro pontos localizados proximamente foram homogeneizadas para formar cinco amostras compostas para a montagem dos vasos de culturas armadilha. Parte do solo foi encaminhada à sede do IPA, no Recife, para as análises químicas e físicas e parte conduzida ao Laboratório de Micorrizas (Dept. de Micologia da UFPE) para a avaliação dos parâmetros da micorrização e análise da matéria orgânica.

Para a análise da atividade microbiana foram coletadas 10 amostras do solo rizosférico, as quais foram transportadas ao laboratório em recipiente com gelo e ficaram acondicionadas a 4 °C até a realização das análises.

3.3. Culturas armadilha

Com objetivo de multiplicar os FMA nativos presentes no solo rizosférico e facilitar a sua identificação foram montados vasos de culturas armadilha (Figura 3).



Figura 3. Potes de culturas armadilha 15 dias após a semeadura com sorgo e painço.

Cerca de 400g de solo das amostras compostas foram colocados em copos plásticos de 500 mL. O solo foi umedecido e semeado com painço (*Panicum miliaceum* L.) e sorgo (*Sorghum bicolor* Moench). A cultura armadilha foi mantida por três ciclos de multiplicação (três meses cada) em casa de vegetação, sendo os pots regados em dias alternados. Após cada ciclo, os esporos foram extraídos do solo e foram preparadas lâminas para identificação das espécies de FMA, sendo consultada a bibliografia especializada.

3.4. Extração de esporos do solo

Os esporos de FMA foram extraídos a partir de alíquota de 50 g de solo seguindo a técnica de peneiramento úmido (Gerdeemann e Nicolson, 1963) e centrifugação em água e sacarose 50% (Jenkins, 1964). Os esporos foram recolhidos em placa canaletada e quantificados em

estereomicroscópio (40X). Esporos íntegros e de aparência saudável foram separados em dois grupos. Os do primeiro grupo foram recolhidos em um tubo Eppendorf e armazenados a -20 °C para serem utilizados posteriormente em análises moleculares. Os do segundo grupo foram avaliados em microscópio estereoscópico sobre um vidro de relógio e utilizados para identificação morfológica das espécies de FMA.

3.5. Identificação morfológica das espécies de FMA

Para a identificação das espécies de FMA, os esporos foram agrupados por tamanho, cor e forma, sendo montados entre lâmina e lamínula com PVLG (álcool polivinílico em lactoglicerol) e PVLG/reagente de Melzer (1:1 v/v), e observados ao microscópio. Para identificação foram usados o manual de identificação de Schenck e Pérez (1990) e descrições morfológicas fornecidas no site da International Culture Collection of Arbuscular Mycorrhizal Fungi – INVAM (<http://www.invam.caf.wvu.edu>), bem como literatura pertinente.

3.6. Colonização micorrízica

As raízes coletadas foram separadas, lavadas e conservadas em álcool a 70% até serem diafanizadas e coradas com azul de tripano (0,05%), segundo o método de Phillips e Hayman (1970). Em geral, as raízes apresentaram-se muito pigmentadas, sendo necessário adicionar peróxido de hidrogênio para sua despigmentação. Após a coloração, as raízes foram conservadas em glicerol a 50%. Para a verificação da colonização micorrízica, fragmentos de raízes foram observados com auxílio do microscópio, sendo registrada a presença ou ausência de estruturas típicas de FMA nas raízes das plantas. A percentagem de colonização foi estimada pela técnica da lâmina (Giovannetti e Mosse, 1980).

3.7. Análise da matéria orgânica

A determinação da quantidade de matéria orgânica do solo foi realizada segundo Cantarella *et al.* (2001), e se baseia na sua oxidação a CO₂ por íons dicromato, em meio fortemente ácido. Pesou-se 0,5g de solo em frascos Erlenmeyer, adicionou-se 10 mL da solução de dicromato de potássio e 20 mL de ácido sulfúrico concentrado. Após agitação manual por 1 minuto, deixou-se resfriar por 30 minutos. Posteriormente, foram adicionados 200 mL de água destilada e em seguida

a solução foi filtrada. Foram adicionados 10 mL de ácido fosfórico e 6 gotas do indicador difenilamina. Titulou-se com solução de sulfato ferroso amoniacal ($0,167 \text{ mol L}^{-1}$) até a viragem de azul para verde. A realização do teste em branco foi feita da mesma forma citada acima, entretanto, sem a utilização do solo. Os valores obtidos foram expressos em g kg^{-1}

3.8. Avaliação da respiração basal do solo

A respiração microbiana basal do solo foi avaliada segundo Grisi (1978). Amostras com 100 g de solo foram colocadas em frascos de vidro hermeticamente fechados contendo 15 mL de água destilada e um recipiente com 10 mL de KOH (0,5 N). Após a incubação no escuro por 14 dias, o CO_2 absorvido foi titulado com HCl (0,1 N) utilizando-se os indicadores de pH fenolftaleína (1%) e alaranjado de metila (0,1%). Os valores obtidos foram expressos em $\mu\text{g C-CO}_2 \text{ g}^{-1}$ de solo dia^{-1} .

3.9. Atividade de desidrogenase

Foi determinada em alíquotas de 5g de solo pesados em frascos âmbar e misturados com 5 mL da solução de 2, 3, 5 Cloreto de trifeniltetrazólio (TTC) a 1%. Os frascos foram agitados e incubados em banho-maria por 24 h a 37°C . Após o período de incubação, adicionou-se 10 mL de metanol, seguindo-se de filtração com posterior leitura em espectrofotômetro a 485 nm (Casida *et al.*, 1964). Os valores obtidos foram expressos em $\mu\text{g TTF}$ (Trifenil formazan) g^{-1} solo.

3.10. Quantificação da glomalina

A fração facilmente extraível de proteínas do solo relacionadas à glomalina (FE-BRPS) foi obtida a partir de alíquotas de 0,25 g de solo com citrato de sódio (20 mM; pH 7,0), após um ciclo em autoclave ($121^\circ \text{C}/30 \text{ min}$) (Wright e Upadhyaya, 1998) e quantificada pelo método de Bradford (1976), em espectrofotômetro (595 nm). Os dados foram expressos em mg de glomalina g^{-1} de solo.

3.11. Análise estatística

Os dados de número de esporos de FMA, colonização micorrízica, respiração basal do solo, atividade da desidrogenase, a fração facilmente extraível de proteínas do solo relacionadas à glomalina (FE-BRPS) e matéria orgânica foram submetidos à análise do t-Test, utilizando-se o

programa Statistica 6.0 (Stasoft, 2001). Para fins de análise, os dados de número de esporos de FMA foram transformados em $\log(x+1)$ e os da colonização e umidade foram transformados em arcoseno ($x/100$). Também foram realizadas análises de correlação de Pearson (r) entre as variáveis estudadas e de similaridade entre as espécies de FMA ocorrentes nos períodos de estiagem e chuvoso pelo Índice de Sørensen (Brower e Zar, 1984).

3.12. Limpeza e extração de DNA de esporos de FMA

Os esporos de FMA extraídos do solo por peneiramento úmido foram limpos com auxílio de banho ultra-sônico (Ultra Cleaner 750, 25KHz, Unique Ind. e Com. de Produtos Eletrônicos Ltda) antes da extração de DNA. Os esporos foram sonicados três vezes, por 30 segundos em água destilada. Os esporos limpos e íntegros foram separados em tubos Eppendorf e armazenados em freezer a -20°C até a extração de DNA.

O DNA de apenas um esporo foi extraído mediante a quebra do mesmo em um gota ($\sim 5\ \mu\text{l}$) de água ultrapura autoclavada sobre lâmina, com auxílio de uma agulha. O conteúdo citoplasmático do esporo foi então colocado diretamente em microtubos de PCR com o mix de reação (item 3.13), sendo a amplificação realizada imediatamente.

3.13. Amplificação da região 18S do rDNA através de PCR

A amplificação de fragmentos do rDNA 18S foi realizada em duas etapas (PCR “*nested*”). A primeira reação da amplificação foi realizada com os iniciadores NS1 e NS4 ($\sim 700\text{pb}$, White *et al.*, 1990) em microtubos estéreis contendo $5\ \mu\text{l}$ do DNA alvo, $0,4\ \mu\text{M}$ de cada iniciador, $200\ \mu\text{M}$ de dNTPs, $2\ \text{mM}$ de cloreto de magnésio (MgCl_2), $1\ \text{U}$ da enzima Taq DNA polimerase e 1X o tampão de reação, totalizando o volume de $25\ \mu\text{l}$. O programa térmico utilizado incluiu a desnaturação inicial a 94°C por $4\ \text{min}$, 39 ciclos de desnaturação a 95°C por $45\ \text{s}$, anelamento a 56°C por $1\ \text{min}$, extensão a 72°C por $1\ \text{min}$ e $15\ \text{s}$, seguidos de um período final de extensão de $7\ \text{min}$ a 72°C .

O produto da reação acima, foi usado como molde para a segunda reação. Na segunda reação foram utilizados o par de primers específicos AML1/AML2 ($\sim 600\text{pb}$, Lee *et al.*, 2008), utilizados para amplificação de rDNA 18S de FMA. Em microtubo estéril foi usado $2\ \mu\text{l}$ do produto de PCR anterior diluído ($1:100$) como DNA alvo, $0,4\ \mu\text{M}$ de cada iniciador, $200\ \mu\text{M}$ de dNTPs, $1,5\ \text{mM}$ de cloreto de magnésio (MgCl_2), $1\ \text{U}$ da enzima Taq DNA polimerase e 1X o tampão de reação, totalizando o volume de $25\ \mu\text{l}$. O programa térmico da PCR nested foi de desnaturação

inicial a 94°C por 4 min, 39 ciclos de desnaturação a 95°C por 45 s, anelamento a 58°C por 1 min, extensão a 72°C por 1 min, seguidos de um período final de extensão de 7 min a 72° C.

Em todas as reações, o DNA de *Gigaspora albida* foi usado como controle positivo. Um controle negativo foi feito sem a adição do DNA molde. O resultado obtido das reações de amplificação foi verificado, após eletroforese, em gel de agarose 0,8% e os fragmentos de DNA resultantes foram visualizados mediante coloração com brometo de etídio e fotografados sob luz UV.

Os fragmentos de rDNA 18S amplificados foram purificados (kit Purelink Genomic DNA purification – Invitrogen) e enviados ao Centro de Estudos de Genoma Humano (USP) para o seqüenciamento.

3.14. Alinhamento das sequências e análise filogenética

As sequências de nucleotídeos dos amplicons obtidos foram comparados utilizando-se a ferramenta BLAST X (Basic Local Alignment Search Tool, NCBI, Altschul *et al.*, 1990), com sequências homologas em bancos de dados “National Center for Biotechnology Information – NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast>). O alinhamento de múltiplas sequências foi realizado com o programa CLUSTAL X (Larkin *et al.*, 2007). A partir do alinhamento foram construídas árvores filogenéticas.

Os parâmetros para a análise filogenética da árvore de distância via máxima verossimilhança (ML) foram obtidos com o programa ModelTest 3.7 (Posada e Crandall, 1998), sendo a árvore gerada a partir do modelo de substituição nucleotídica GTR + I + G com os seguintes parâmetros: a = 1.2412, b = 3.3311, c = 1.5599, d = 0.9415, e = 5.2797; número de tipos de substituições = 6; frequência nucleotídica (A = 0.27300, C = 0.19500, G = 0.25350, T = 0.27850); ‘rates’ = gamma; ‘shape’ = 0.6138 e proporção de sítios invariáveis = 0.4026. Também foram geradas árvores construídas a partir de análises de máxima parcimônia (MP) e neighbor joining (NJ). Mil bootstraps foram calculados para esses dois últimos métodos com o auxílio do programa PAUP* 4.0b10 (Swofford, 2002).

4. ATIVIDADE MICROBIANA EM SOLO DE CAATINGA EM PERNAMBUCO ¹

Resumo

A Caatinga vem sofrendo ações antrópicas e acelerado processo de desertificação, influenciando a dinâmica e a composição da microbiota do solo. Os microrganismos são excelentes mediadores das condições biológicas do ambiente, dentre os quais os fungos micorrízicos arbusculares (FMA) contribuem para a composição florística e a estabilidade do ecossistema. O objetivo deste trabalho foi determinar o efeito da variação sazonal na atividade micorrízica e microbiana do solo em área de Caatinga no agreste pernambucano. Atributos microbiológicos como respiração basal do solo, atividade de desidrogenase, teor de umidade do solo, quantificação da matéria orgânica, número de esporos de FMA, colonização micorrízica, e produção de proteínas do solo relacionadas à glomalina foram avaliados em amostras de solo coletadas em dois períodos (estiagem e chuvoso). Diferenças foram observadas entre os períodos de coleta para atividade da desidrogenase, colonização micorrízica, número de esporos de FMA, teor de umidade do solo e quantificação da matéria orgânica. A respiração basal do solo e a produção de proteínas do solo relacionada à glomalina não apresentaram diferença entre os períodos estudados. Houve correlação positiva entre a atividade de desidrogenase e a colonização micorrízica. No entanto, correlações negativas entre número de esporos e colonização micorrízica e atividade de desidrogenase foram observadas. As flutuações climáticas contribuem para alterações nas comunidades de FMA, com a estiagem favorecendo a esporulação. Melhores condições de umidade do solo favorecem a atividade da desidrogenase na área de Caatinga estudada; Condições de maior umidade do solo estimulam a atividade micorrízica e microbiana no solo.

Palavras chaves: Caatinga, FMA, Atividade microbiana, Sazonalidade

¹ Artigo a ser submetido para publicação como Ferreira, A.C.F., Malosso, E. 2010. Atividade microbiana em solo de caatinga em Pernambuco, na revista *Soil Biology & Biochemistry*.

1.Introdução

A Caatinga, único bioma exclusivamente brasileiro, ocupa uma área de aproximadamente 900.000 km², distribuídos em grande parte da região nordeste do Brasil. O clima é semi-árido caracterizado por curto período de chuvas torrenciais e irregulares (Andrade *et al.*, 2005). Atualmente, a Caatinga possui cerca de 50% do bioma alterado por atividades antrópicas e uso inadequado dos seus recursos, e o elevado processo de degradação deste ambiente tem resultado em perda de habitat e de diversidade, além da degradação permanente dos solos da região (Castelletti *et al.*, 2003; Leal, 2005).

Os problemas de ordem ambiental e antrópica deste bioma são agravados pela baixa fertilidade natural e redução da cobertura vegetal, que ocasiona perda no conteúdo de matéria orgânica e de nutrientes do solo (Menezes e Sampaio, 2000). As condições climáticas, tais como variações na umidade e na temperatura e as atividades humanas influenciam a dinâmica e a composição da comunidade microbiana do solo (Morgan *et al.*, 2005).

A microbiota do solo participa de processos chave no ecossistema, tais como ciclagem de nutrientes e energia, decomposição e transformação da matéria orgânica e agregação do solo. Essas atividades têm grande influência nas propriedades químicas e físicas do solo (Viana, 2002), contribuindo para a manutenção da qualidade edáfica dos ecossistemas (Barea *et al.*, 2005; Acosta-Martinez *et al.*, 2008; Fernández *et al.*, 2008).

Dentre os microrganismos do solo, os fungos micorrízicos arbusculares (FMA) destacam-se pela simbiose formada com as raízes da maioria das espécies vegetais, aumentando a área de absorção de água e nutrientes, proporcionando ao vegetal maior tolerância a estresses bióticos e abióticos, tornando-se fundamentais para manutenção de ecossistemas naturais, principalmente os áridos e semi-áridos, visto que essas regiões apresentam escassez de água e baixa fertilidade do solo (Rao e Tarafdar, 1998).

Métodos para estimar a atividade microbiana em solos de regiões semi-áridas são fundamentais no monitoramento ambiental e recuperação de áreas degradadas (Pereira *et al.*, 2004). Os parâmetros relacionados à microbiota são mais sensíveis por fornecerem resposta mais rápida às mudanças no solo resultantes de diferentes práticas e sistemas de manejo (Facci, 2008). Entre esses métodos se destacam a avaliação da atividade enzimática (desidrogenase) e a estimativa da respiração basal do solo, que têm sido utilizados como bioindicadores da microbiota edáfica e, conseqüentemente, da determinação da qualidade do solo em sistemas naturais e manejados (Gil-Sotres *et al.*, 2005; Bastida *et al.*, 2006, Chaer e Tólota, 2007; Bastida *et al.*, 2008; Batista, 2008; Doi e Ranamukhaarachchi, 2009).

A atividade dos FMA pode ser estimada indiretamente pela produção de uma glicoproteína, denominada glomalina, que em estudos recentes tem sido relacionada com os processos de agregação do solo (Steinberg e Rillig, 2003; Rillig, 2005), contribuindo para o estabelecimento de plantas e manutenção da estrutura do solo, reduzindo os riscos de erosão em áreas degradadas (Caravaca *et al.*, 2005). A quantificação da glomalina pode constituir importante indicador de mudanças causadas pelo uso do solo e podendo ser utilizada como bioindicadora de reabilitação e qualidade do solo (Rillig *et al.*, 2003).

Informações sobre a atividade microbiana em solos do semi-árido nordestino são escassas. Estudos sobre o monitoramento das propriedades biológicas do solo são importantes para avaliar a sustentabilidade de áreas naturais e manutenção da qualidade dos solos, além de suprir informações que possam ser utilizadas em programas de conservação e sustentabilidade dos ecossistemas (Fialho *et al.*, 2006; Souto *et al.*, 2008). Diante disso, o objetivo deste trabalho foi determinar o efeito da variação sazonal na atividade micorrízica e microbiana do solo em área de Caatinga no agreste pernambucano.

2. Material e métodos

2.1. Área de estudo

O estudo foi desenvolvido em área de Caatinga nativa na Estação Experimental do Instituto Agrônomo de Pernambuco - IPA (8°13' S, 35° 55' W, 560 m de altitude), situada no município de Caruaru, na mesorregião do agreste de Pernambuco. O clima é estacional, com precipitação pluviométrica anual de 710 mm, a temperatura média é 22,7 °C e a média da umidade relativa do ar 59%. A estação chuvosa concentra-se de março a agosto e a estação de estiagem estende-se de setembro a fevereiro (Araújo *et al.*, 2005).

O solo da área é do tipo Podzólico amarelo eutrófico, com textura franco-arenosa e relevo ondulado. A vegetação predominante é a Caatinga hipoxerófila, classificada como Caducifólia Espinhosa e composta, principalmente, por espécies das famílias: Euphorbiaceae, Mimosaceae, Caesalpinhiaceae, Malvaceae, Poaceae, Asteraceae e Convolvulaceae (Alcoforado-Filho *et al.*, 2003).

2.2. Coleta das amostras

Foram realizadas coletas de solo e raízes em dois períodos de amostragem: início do período chuvoso (março/2008) e de estiagem (setembro/2008). As precipitações pluviométricas durante os meses de coleta foram 144,3 mm em março e 10,8 mm em setembro (Tabela 1).

Tabela 1. Precipitação pluviométrica mensal média (mm) registrada no município de Caruaru, PE

	Meses											
	2007						2008					
	Out	Nov	Dez	Jan	Fev	Mar	Abr	Mai	Jun	Jul	Ago	Set
Precipitação pluviométrica (mm)	0,0	10,4	23,6	127,0	32,5	162,2	89,0	88,2	57,7	79,0	75,3	10,8

Fonte: LAMEPE/ITEP (<http://www.itep.br/LAMEPE.asp>)

Nas duas estações climáticas foram coletadas, em zig-zag, 10 amostras (formadas de três subamostras) de solo da rizosfera de plantas escolhidas aleatoriamente. Parte do solo foi encaminhada à sede do IPA, no Recife, para as análises químicas e físicas (Tabela 2) e parte conduzida ao Laboratório de Micorrizas (Dept. de Micologia da UFPE) para o estudo microbiológico. O solo utilizado para a análise da atividade microbiana foi acondicionado a 4 °C.

Tabela 2. Características químicas e físicas do solo de área de Caatinga nativa da Estação Experimental do Instituto Agrônomo de Pernambuco – IPA, município de Caruaru – PE

pH	P	K	Al	Ca	Mg	CTC	Análise Textural (%)			
H ₂ O	mg.dm ⁻³			cmolc.dm ⁻³			Areia Grossa	Areia Fina	Argila	Silte
5,3	10,4	0,49	0,04	3,94	1,36	10,7	53,2	16,4	11,6	18,8

2.3. Extração de esporos do solo

Os glomerosporos foram extraídos de alíquota de 50 g de solo coletado do campo seguindo a técnica de peneiramento úmido (Gerdemann e Nicolson, 1963) e centrifugação em água e sacarose 50% (Jenkins, 1964) e foram posteriormente quantificados em estereomicroscópio (40X).

2.4. Colonização micorrízica

As raízes coletadas juntamente com o solo do campo foram separadas, lavadas, diafanizadas com KOH (10%) e coradas com azul de tripano (0,05%) segundo Phillips e Hayman (1970). A colonização micorrízica foi estimada pela técnica de lâmina (Giovannetti e Mosse, 1980).

2.5. Quantificação da glomalina

A fração facilmente extraível de proteínas do solo relacionadas à glomalina foi obtida a partir de alíquotas de 0,25 g de solo com citrato de sódio (20 mM; pH 7,0), após um ciclo em autoclave (121° C/ 30 min.) (Wright e Upadhyaya, 1998) e quantificada pelo método de Bradford (1976), em espectrofotômetro (595 nm). Os dados foram expressos em mg glomalina g⁻¹ solo.

2.6. Atividade de desidrogenase

A atividade da desidrogenase foi determinada em alíquotas de 5g de solo em frascos âmbar com 5 mL da solução de 2, 3, 5 Cloreto de trifeniltetrazólio (TTC) a 1%. Os frascos foram agitados e incubados em banho-maria por 24 h a 37°C. Após o período de incubação, adicionou-se 10 mL de metanol, seguindo-se de filtração com posterior leitura em espectrofotômetro a 485 nm (Casida *et al.*, 1964). Os valores obtidos foram expressos em µg TTF (Trifenilformazan) g⁻¹ solo.

2.7. Avaliação da respiração basal do solo

A respiração microbiana basal do solo foi obtida a partir da incubação de 100 g de solo em frascos de vidro hermeticamente fechados contendo 15 mL de água destilada e um recipiente com 10 mL de KOH (0,5 N) durante 14 dias, mantidas no escuro. Após esse período, a evolução de CO₂ foi avaliada por titulação com HCl (0,1 N) utilizando-se os indicadores de pH fenolftaleína (1%) e alaranjado de metila (0,1%) (Grisi, 1978). O CO₂ emitido da respiração basal do solo foi expresso em µg C-CO₂ g⁻¹ solo dia⁻¹.

2.8. Análise da matéria orgânica

A determinação da quantidade de matéria orgânica do solo foi realizada segundo Cantarella *et al.* (2001), com base na oxidação a CO_2 por íons dicromato, em meio fortemente ácido. Foram pesados 0,5g de solo em Erlenmeyer e adicionou-se 10 mL da solução de dicromato de potássio e 20 mL de ácido sulfúrico concentrado. Após agitação manual por 1 minuto e resfriamento por 30 minutos, foram adicionados 200 mL de água destilada e em seguida a solução foi filtrada, recebendo 10 mL de ácido fosfórico e 6 gotas do indicador difenilamina. Titulou-se com solução de sulfato ferroso amoniacal ($0,167 \text{ mol L}^{-1}$) até a mudança da cor azul para verde. A realização do teste em branco foi feita da mesma forma, entretanto sem a utilização do solo. Os valores obtidos foram expressos em g kg^{-1} .

2.9. Análise estatística

Os dados foram submetidos à análise do t-Test, utilizando-se o programa Statistica 6.0 (Stasoft, 2001). Para fins de análise, os dados de número de esporos de FMA foram transformados em $\log(x+1)$, os da umidade do solo e os da colonização em arcoseno ($x/100$). Também foram realizadas análises de correlação de Pearson (r) entre as variáveis estudadas.

3. Resultados

O número de esporos, a colonização micorrízica, a atividade da desidrogenase e a quantidade de matéria orgânica e o teor de umidade do solo, diferiram significativamente entre os períodos de coleta. Entretanto, não houve diferença significativa ao se comparar a produção de proteínas do solo relacionadas à glomalina e a respiração basal do solo entre as estações climáticas estudadas (Tabela 3).

De modo geral, o número de esporos no solo variou de 8 a 131 por amostra de 50g de solo. Isoladamente, o número de esporos de FMA foi maior na estação de estiagem em relação à chuvosa, apresentando valores médios de 1,44 e 0,47 esporos por g^{-1} solo, respectivamente. De modo similar, a maior quantidade de matéria orgânica foi observada no período de estiagem ($39,25 \text{ g kg}^{-1}$). No entanto, as maiores taxas de colonização micorrízica e atividade de desidrogenase foram registradas durante o período chuvoso (73,9% e $125,39 \mu\text{g TTF g}^{-1}$ solo, respectivamente).

Em relação à respiração basal do solo e produção de proteínas do solo relacionadas à glomalina não houve diferença significativa entre os períodos de coleta, embora maiores estimativas tenham sido registradas no período de estiagem.

Tabela 3. Número de esporo de FMA, colonização micorrízica, atividade da desidrogenase, respiração basal, produção de proteínas do solo relacionadas à glomalina e quantidade de matéria orgânica nos períodos chuvoso e de estiagem em solo de Caruaru – PE

Variáveis	Períodos	
	Chuvoso	Estiagem
Número de esporos ** (g ⁻¹ solo)	0,47 b	1,44 a
Colonização micorrízica ** (%)	73,90 a	44,95 b
Atividade da desidrogenase * (µg TTF g ⁻¹ solo)	125,39 a	61,96 b
Respiração basal do solo (µg C-CO ₂ g ⁻¹ solo dia ⁻¹)	5,37 a	6,93 a
Proteínas do solo relacionadas a glomalina (mg glomalina g ⁻¹ solo)	1,97 a	2,47 a
Matéria orgânica * (g kg ⁻¹)	31,30 b	39,25 a
Umidade do solo (%)	8,65 a	2,35 b

Médias seguidas de mesma letra, na linha, não diferem estatisticamente pelo t-Test ($P < 0,05$). ** $P < 0,001$; * $P < 0,05$.

A colonização micorrízica (CM) foi positivamente correlacionada com a atividade de desidrogenase (AD). No entanto, observaram-se correlações negativas entre número de esporos (NE) e colonização micorrízica (CM) e atividade da desidrogenase (AD) (Tabela 4).

Tabela 4. Coeficientes de correlação simples de Pearson (r) entre as variáveis estudadas ($P < 0,05$)

Variáveis	NE	CM	MO	AD	RBS	PSRG
NE	-					
CM	- 0,78	-				
MO	0,48	- 0,46	-			
AD	- 0,54	0,63	ns	-		
RBS	ns	ns	ns	ns	-	
PSRG	0,48	- 0,48	ns	ns	ns	-

NE = Número de Esporos, CM= Colonização Micorrízica, MO= Matéria orgânica, AD= Atividade de Desidrogenase, RBS= Respiração Basal do Solo, PSRG = Proteínas do solo relacionadas à glomalina, ns= Não significativo.

4. Discussão

O número de esporos de FMA na área em estudo corrobora os resultados de outros trabalhos realizados em regiões semi-áridas (Requena *et al.*, 1996; Silva *et al.*, 2001; Souza *et al.*, 2003; Uhlmann *et al.*, 2004; Mergulhão, 2006; Whitcomb e Stutz, 2007; Albuquerque, 2008). Segundo Bashan *et al.* (2000), a baixa densidade de esporos é típica de regiões áridas e semi-áridas devido à presença de espécies de FMA com baixa capacidade de esporulação ou de espécies crípticas nestes ambientes.

Para os diferentes sistemas, o número de esporos pode ser alto ou baixo em função das necessidades de nutrientes dos hospedeiros (Anderson *et al.*, 1983, Maia e Trufem 1990, Brundrett *et al.*, 1996) e a quantidade de esporos de FMA pode ser influenciada pelos fatores do solo, fenologia das plantas hospedeiras e pela irregularidade das chuvas, característica marcante de ambientes áridos e semi-áridos (Mohammad *et al.*, 2003).

O maior número de glomerosporos na estação de estiagem pode estar relacionado à restrição da disponibilidade hídrica durante esse período. Como a coleta de solo foi feita no início do mês de setembro, período em que o balanço hídrico da região assume um estado de deficiência, a redução do índice pluviométrico (10,8 mm), após longo período de chuvas (tabela 1), e a conseqüente baixa de umidade do solo (Tabela 3), pode ter representado importante fator de estresse. Durante esse período, as plantas apresentam menor vigor vegetativo, induzindo nos microorganismos a elas associados, mecanismos de adaptação, como a elevação da esporulação (O'Connor *et al.*, 2001; Collier *et al.*, 2003; Bonfim *et al.*, 2007).

A produção de esporos pode ser ativada quando a planta entra em estado de dormência ou reduz a atividade fisiológica em decorrência de estresses ambientais (Brundrett *et al.*, 1999). Esse fato é explicado na literatura, uma vez que os esporos são estruturas de resistência e a sua presença no sistema costuma ser reduzida no período de chuvas, quando germinam e outras estruturas, como hifas, são mais abundantes (Caproni *et al.*, 2001).

A colonização micorrízica no período chuvoso possivelmente foi estimulada pela condição de maior precipitação pluviométrica (144,2 mm) no mês da coleta (março) (Tabela 1) resultando em maior umidade do solo (Tabela 3) o que pode ter favorecido a produção de novas raízes, aumentando, conseqüentemente, a disponibilidade de sítios livres para o estabelecimento da associação (Requena *et al.*, 1996). Ressalta-se, ainda, que nessa época na área de coleta, as plantas estavam com as folhas, o que, provavelmente pode ter influenciado os resultados obtidos. Guadarrama e Alvarez-Sánchez (1999) sugerem que a umidade favorece a germinação dos esporos, resultando em alta colonização e baixa produção de esporos.

As raízes das plantas podem crescer continuamente ao longo de todo o ano, porém, a disponibilidade de nutrientes e as condições de umidade do solo interferem na proliferação das mesmas. As condições de deficiência hídrica induz á suberificação das paredes das células do parequima cortical mais periférico (Taiz e Zeiger, 2004), o que pode dificultar a entrada do fungo e diminuir, as chances de colonização. Desta forma, características semi-áridas mais acentuadas, juntamente com a condição do solo, podem ter contribuído para menor colonização micorrizica.

O aumento do teor de matéria orgânica no solo durante o período de estiagem provavelmente está relacionado ao acúmulo de matéria remanescente do período chuvoso e à elevada quantidade de resíduos vegetais e animais em diversas fases de decomposição. Em resposta ao estresse hídrico, a vegetação típica de regiões semi-áridas perde suas folhas, como medida preventiva à alta perda de água por transpiração (Alves *et al.*, 2006), aumentando assim os resíduos orgânicos presentes no solo. A entrada de matéria orgânica no solo é resultante principalmente do acúmulo de compostos vegetais e microbianos que são mais resistentes à mineralização devido à proteção física, biológica e química na matriz do solo (Rice *et al.*, 2004). Novaes e Smith (1999) relatam que em regiões tropicais a deposição de matéria orgânica durante o estresse hídrico é devida a condições desfavoráveis à mineralização de resíduos orgânicos no solo, sendo uma “solução” para estocagem de nutrientes. Outros pesquisadores em áreas de Caatinga hiper e hipoxerófila também observaram aumento de matéria orgânica no período de estiagem (Medeiros, 1999; Benvinda, 2005; Sousa, 2006).

A deposição de compostos orgânicos corresponde a uma das etapas mais importantes da ciclagem de nutrientes em um bioma (Alves *et al.*, 2006). De acordo com Menezes e Sampaio (2000), a formação e o acúmulo de matéria orgânica no solo dependem da relação entre os aportes de resíduos orgânicos ao solo e os processos que os consomem ou os redistribuem. Os autores relatam que as taxas mudam muito por conta da enorme variação na disponibilidade hídrica, em função da precipitação, da topografia e da capacidade de acumulação dos solos.

A atividade da desidrogenase no solo reflete a ação oxidativa total da microbiota e, como é intracelular e de baixa atividade quando em estado livre no solo, pode atuar como um bom indicador da microbiota edáfica (Garcia *et al.*, 1997). A atividade da desidrogenase é fortemente alterada por diversos fatores do solo, sendo estimulada em solos com altos níveis de umidade que estabelecem melhores condições para essa enzima (Garcia *et al.*, 2000). Nesse trabalho, a ação da enzima foi maior durante o período chuvoso (Tabela 3), o que pode estar relacionado com a maior disponibilidade de água. Garcia *et al.* (1994) também observaram que a atividade da desidrogenase, aumentava durante a estação chuvosa, em solos de região árida no sudeste da Espanha. Outros

fatores como umidade e temperatura (Brzezinska *et al.*, 2001) e exsudatos radiculares dos vegetais (Tejada e Gonzalez, 2007) também estimulam a atividade da desidrogenase.

Os valores de respiração basal do solo parecem ser estáveis na área estudada, não diferindo estatisticamente entre os períodos estudados. Isso pode estar relacionado ao aporte de material vegetal e à heterogeneidade de fontes de carbono provenientes da matéria orgânica, que mantém a população microbiana mais estável ao longo do ano (de Fede *et al.*, 2001; Grayston *et al.*, 2001). Utilizando a respiração microbiana como indicadora de qualidade do solo em ecossistema florestal, também não encontraram variações na atividade microbiana ao longo das estações do ano (Peña *et al.*, 2005).

A uniformidade das concentrações da FE-BRPS (fração facilmente extraível) entre os períodos estudados corrobora dados de outros trabalhos que referem à ausência de influência de variações sazonais (Steinberg e Rillig, 2003; Rillig *et al.*, 2003; Purin *et al.*, 2006; Albuquerque, 2008) e possível estabilidade desta fração em ecossistemas naturais (Lutgen *et al.*, 2003).

Apesar de ainda não se conhecer a estrutura química da glomalina, sabe-se que esta contém uma alta porcentagem (27,9 a 43,1%) de carbono (Rillig *et al.*, 2003), chegando a representar cerca de 52% do carbono total em solos orgânicos (Schindler *et al.*, 2007), o qual é incorporado diretamente ao solo mediante decomposição dos propágulos fúngicos. A glomalina é capaz de adsorver naturalmente as partículas de solo favorecendo a formação de agregados, melhorando a penetração de água, oxigênio e raízes no solo (Rillig *et al.*, 2002; Rillig, 2004).

A correlação negativa entre número de esporos e colonização micorrízica pode estar relacionada aos mecanismos de sobrevivência e adaptabilidade dos FMA a diversas condições ambientais, como sugerido por Souza *et al.* (2003). Avaliando a dinâmica sucessional, Hart *et al.* (2001) sugeriram que os FMA utilizam duas estratégias (colonização e persistência) para sobreviver num ambiente. No primeiro caso se enquadram as espécies mais hábeis em colonizar novos hospedeiros e no segundo, as que conseguem permanecer no sistema (solo/raiz) mesmo sob condições adversas.

4.3. Conclusões

- As flutuações climáticas contribuem para alterações nas comunidades de FMA, com o período de estiagem estimulando a esporulação;
- Melhores condições de umidade do solo favorecem a atividade da desidrogenase na área de Caatinga estudada;
- Condições de maior umidade no solo estimulam a atividade micorrízica e microbiana no solo.

5. DIVERSIDADE DE FUNGOS MICORRIZICOS ARBUSCULARES (FMA) EM SOLO DE CAATINGA, EM PERNAMBUCO, BRASIL²

Resumo

Os fungos micorrízicos arbusculares (FMA), amplamente distribuídos nos ecossistemas terrestres, formam importante associação com raízes da maioria das plantas, proporcionando ao hospedeiro aumento na absorção de nutrientes. O semi-árido brasileiro, em grande parte coberto por vegetação de Caatinga, é caracterizado por alta diversidade de plantas e animais, e estudos vêm sendo conduzidos para ampliar o conhecimento também sobre a micota local. O objetivo deste trabalho foi ampliar o conhecimento sobre a diversidade de FMA na Caatinga e analisar sequências da SSU rDNA de algumas espécies desse grupo de fungos encontradas na área de estudo, situada no município de Caruaru, confirmando a posição e afinidade filogenética. Foram identificadas 43 espécies de FMA distribuídas em dez gêneros: *Acaulospora*, *Ambispora*, *Entrophospora*, *Gigaspora*, *Glomus*, *Scutellospora*, *Racocetra*, *Fuscutata*, *Cetraspora* e *Paraglomus*. Maior diversidade foi observada no período de estiagem, com 33 táxons, em relação ao período chuvoso (24 espécies identificadas). Os gêneros *Acaulospora* e *Glomus* foram os mais encontrados, representando cada um 28% do total de espécies registradas. A árvore filogenética obtida confirma que o filo Glomeromycota é monofilético e Ambisporaceae é o grupo mais basal desse filo. *Acaulospora morrowiae* e *Ambispora appendicula* foram agrupadas com espécies de *Acaulospora* e *Ambispora*, respectivamente. *Racocetra intraornata* foi agrupada no clado de *Gigaspora*. *Entrophospora infrequens* se posicionou com as espécies de *Glomus* grupo B. *Scutellospora* sp.1, *Scutellospora* sp.2, *Scutellospora* sp.3, *Cetraspora* sp. e *Racocetra verrucosa* não formaram grupos específicos. Os resultados deste estudo confirmam evidências de que regiões semi-áridas possuem alta diversidade de FMA. O período de estiagem favorece o registro de maior diversidade de espécies de FMA nos solos examinados. As flutuações ambientais podem influenciar a distribuição das espécies de FMA. A sequência parcial da SSU rDNA utilizada é viável para confirmar a identificação morfológica de *Acaulospora morrowiae*, *Ambispora appendicula*, *Entrophospora infrequens* e *Racocetra intraornata*.

Palavras-Chave: FMA, Caatinga, Diversidade, rDNA, Análise filogenética

² Artigo a ser submetido para publicação como Ferreira, A.C.F., Goto, B.T., Silva, G.A., Malosso, E. 2010. Diversidade de fungos micorrizicos arbusculares (FMA) em solo de caatinga, em Pernambuco, Brasil, na *New Hedwigia*.

1.Introdução

A Caatinga ocupa uma área de aproximadamente 900.000 km², o que representa 54% da Região Nordeste e 11% do território Nacional (Andrade *et al.*, 2005). O clima é semi-árido caracterizado por curto período de chuvas torrenciais e irregulares, com 6 a 9 meses de seca e precipitação média anual entre 500 a 750 mm (Prado, 2003). Apresenta temperaturas médias anuais mínima e máxima de 23 e 27 °C, respectivamente, elevado potencial de evapotranspiração e baixa taxa de umidade relativa do ar (Sampaio, 1995).

Estudos recentes têm demonstrado a elevada riqueza da caatinga em termos de biodiversidade (MMA, 2002; Leal *et al.*, 2003; Gusmão e Maia, 2006). Entretanto, os ecossistemas desse bioma estão entre os menos conhecidos da América do Sul, o que justifica a necessidade de se ampliar rapidamente o conhecimento sobre a distribuição dos organismos e sua organização em comunidades dentro deste sistema.

Em ambientes semi-áridos, a baixa fertilidade dos solos e o déficit hídrico geram elevada dependência das plantas pelos fungos micorrízicos arbusculares (FMA) (Roldan-Fajardo, 1994), que minimizam a deficiência de nutrientes e os estresses hídricos (Tarafdar e Praveen-Kumar, 1996), favorecendo a retenção de umidade, estabilidade e agregação das partículas do solo e reduzindo os riscos de erosão (Haselwandter, 2000; Augé *et al.*, 2001), além de proporcionar ao hospedeiro resistência à seca e à salinidade do solo (Sagrero, 2002).

Os FMA, pertencentes ao filo Glomeromycota, constituem um dos principais grupos de microrganismos da biota edáfica e formam associação mutualística com as raízes da maioria das plantas, sendo de fundamental importância para 90% das espécies de plantas vasculares (Siqueira, 1991). Entretanto, apesar de reconhecidamente importantes na maioria dos ecossistemas terrestres, são ainda pouco conhecidos no Bioma Caatinga.

A capacidade muito limitada de crescimento dos FMA em meios de cultura, a partir de glomerosporos ou fragmentos de raízes infectados, e a impossibilidade de caracterização da fase sexuada em seu ciclo de vida fazem com que a identificação e a classificação desses fungos sejam baseadas, quase que exclusivamente, na morfologia e estrutura dos glomerosporos (Morton, 1993). Entretanto, essas características morfológicas podem ser influenciadas por atributos fisiológicos do FMA e pelas condições ambientais (Redecker *et al.*, 2003), causando problemas na identificação precisa desses organismos, visto que os mesmos, quando coletados diretamente do campo, podem estar parasitados ou em fases de desenvolvimento inadequadas à identificação das suas estruturas diferenciadoras (Morton *et al.*, 1995).

As dificuldades na caracterização dos FMA prejudicam o estudo da sua diversidade ambiental. As limitações dos métodos tradicionalmente utilizados para a análise desses fungos podem ser remediadas com o emprego de técnicas moleculares, as quais têm sido usadas para a identificação desses organismos a partir de esporos coletados diretamente do campo, contribuindo para ampliar o conhecimento da diversidade microbiana. Além disso, a biologia molecular também está contribuindo para o conhecimento das relações filogenéticas entre os FMA (Silva Júnior, 2004; Silva *et al.*, 2006; Wu *et al.*, 2007).

Devido à importância ecológica das micorrizas e à sua diversidade (Öpik *et al.*, 2003), existe a necessidade de direcionar os estudos deste grupo de fungos para o esclarecimento dos mecanismos que controlam a distribuição de espécies de FMA no ambiente, além da contribuição das comunidades de FMA para o funcionamento do ecossistema. Assim, estudos que incluam aspectos morfológicos e moleculares resultarão em identificações mais precisas dos organismos e uma melhor análise da diversidade dos FMA, contribuindo para o conhecimento sobre a distribuição e ecologia desses fungos na Caatinga.

Dessa forma, o presente trabalho tem o objetivo de ampliar o conhecimento sobre a diversidade de FMA na Caatinga pernambucana e no semi-árido nordestino e analisar sequências de DNA de algumas espécies de FMA encontradas na área de Caruaru (Agreste), confirmando a posição e afinidade filogenética.

2. Material e métodos

3.1. Caracterização da área de estudo

O estudo foi desenvolvido em área de caatinga nativa na Estação Experimental do Instituto Agrônomo de Pernambuco - IPA (8°13' S, 35° 55' W, 560 m de altitude), situada no município de Caruaru, na mesorregião do agreste de Pernambuco. O agreste compreende uma área de transição entre as zonas fisiográficas da Mata Atlântica e do Sertão (Prado, 2003). O clima é estacional, com precipitação pluviométrica anual de 710 mm, a temperatura média é de 22,7 °C e a média da umidade relativa do ar 59%. A estação chuvosa concentra-se de março a agosto e a estação seca estende-se de setembro a fevereiro (Araújo *et al.*, 2005).

O solo da área é do tipo Podzólico amarelo eutrófico, com textura franco-arenosa e relevo ondulado. A vegetação predominante é a Caatinga hipoxerófila, classificada como Caducifólia Espinhosa e composta, principalmente, pelas famílias: Euphorbiaceae, Mimosaceae,

Caesalpinaceae, Malvaceae, Poaceae, Asteraceae e Convolvulaceae (Alcoforado-Filho *et al.*, 2003).

3.2. Coleta das amostras

Foram realizadas coletas de solo e raízes em dois períodos de amostragem: início do período chuvoso (março/2008) e de estiagem (setembro/2008). As precipitações pluviométricas durante os meses de coleta foram 144,3 mm em março (período chuvoso) e 10,8 mm em setembro (período de estiagem) (Tabela 1).

Tabela 1. Precipitação pluviométrica mensal média (mm) registrada no município de Caruaru, PE

	Meses											
	2007						2008					
	Out	Nov	Dez	Jan	Fev	Mar	Abr	Mai	Jun	Jul	Ago	Set
Precipitação pluviométrica (mm)	0,0	10,4	23,6	127,0	32,5	162,2	89,0	88,2	57,7	79,0	75,3	10,8

Fonte: LAMEPE/ITEP (<http://www.itep.br/LAMEPE.asp>)

Nas duas estações climáticas foram coletadas 20 amostras (formadas de três subamostras) do solo da rizosfera de plantas escolhidas aleatoriamente. Após a triagem manual das raízes, as amostras de cada quatro pontos localizados proximamente foram homogeneizadas para formar cinco amostras compostas para a montagem dos vasos de culturas armadilhas. Parte do solo foi encaminhada à sede do Instituto Agrônomo de Pernambuco - IPA, no Recife, para as análises químicas e físicas (Tabela 2) e parte conduzida ao Laboratório de Micorrizas (Depto. de Micologia da UFPE) para a análise da diversidade e análise molecular.

Tabela 2. Características químicas e físicas do solo de área de Caatinga da Estação Experimental do Instituto Agrônomo de Pernambuco – IPA, município de Caruaru – PE

pH	P	K	Al	Ca	Mg	CTC	M.O	Análise Textural (%)			
H ₂ O	mg.dm ⁻³			cmolc.dm ⁻³			g kg ⁻¹	Areia Grossa	Areia Fina	Argila	Silte
5,3	10,4	0,49	0,04	3,94	1,36	10,7	35,3	53,2	16,4	11,6	18,8

3.3. Culturas armadilha

Com objetivo de multiplicar os FMA nativos presentes no solo rizosférico e facilitar a sua identificação foram montados vasos de culturas armadilhas. Cerca de 400g de solo das amostras compostas foram colocados em copos plásticos de 500 mL. O solo foi umedecido e semeado com painço (*Panicum miliaceum* L.) e sorgo (*Sorgum bicolor* Moench). As culturas armadilhas foram mantidas por três ciclos de multiplicação (três meses cada) em casa de vegetação, sendo os potes regados em dias alternados. Após cada ciclo, os esporos foram extraídos do solo e montados em lâminas para identificação das espécies de FMA, sendo consultada a bibliografia especializada.

3.4. Extração de glomerosporos do solo

Glomerosporos foram extraídos a partir de alíquota de 50 g de solo, do campo e das culturas armadilha, seguindo a técnica de peneiramento úmido (Gerdemann e Nicolson, 1963) e centrifugação em água e sacarose 50% (Jenkins, 1964). Esporos íntegros e de aparência saudável foram separados em dois grupos. Os do primeiro grupo foram recolhidos em um tubo Eppendorf e armazenados a -20 °C para serem utilizados posteriormente em análises moleculares; os do segundo grupo foram utilizados para identificação morfológica das espécies de FMA.

3.5. Identificação morfológica das espécies de FMA

Para identificação das espécies de FMA os esporos foram agrupados por tamanho, cor e forma, montados entre lâmina e lamínula com PVLG (álcool polivinílico em lactoglicerol) e PVLG/reagente de Melzer (1:1 v/v) e observados ao microscópio. Para identificação foram usados o manual de identificação de Schenck e Pérez (1990) e descrições fornecidas na página da International Culture Collection of Arbuscular Mycorrhizal Fungi – INVAM (<http://www.invam.caf.wvu.edu>), bem como literatura pertinente. A análise de similaridade de espécies de FMA ocorrentes nos períodos de estiagem e chuvoso foi realizada pelo Índice de Sørensen (Brower e Zar, 1984).

3.6. Limpeza e extração de DNA dos glomerosporos

Os glomerosporos foram limpos com auxílio de banho ultra-sônico (Ultra Cleaner 750, 25KHz, Unique Ind. e Com. de Produtos Eletrônicos Ltda) antes da extração de DNA. Os esporos foram sonicados três vezes, por 30 segundos, em água destilada. Os esporos limpos e íntegros foram separados em tubos Eppendorf e armazenados em freezer a -20°C até a extração de DNA.

O DNA de apenas um esporo foi extraído mediante a quebra do mesmo em um gota (~ 5 µl) de água ultrapura autoclavada sobre lâmina, com auxílio de uma agulha. O conteúdo citoplasmático do esporo foi então colocado diretamente em microtubos de PCR, sendo a amplificação realizada imediatamente.

3.7. Amplificação da região 18S do rDNA através de PCR e seqüenciamento do DNA

A amplificação de fragmentos do rDNA 18S foi realizada em duas etapas (PCR “*nested*”). A primeira reação da amplificação foi realizada com os iniciadores NS1 e NS4 (White *et al.*, 1990) em microtubos estéreis contendo 5µl do DNA alvo, 0,4 µM de cada iniciador, 200µM de dNTPs, 2 mM de cloreto de magnésio (MgCl₂), 1 U da enzima Taq DNA polimerase e 1X o tampão de reação, totalizando o volume de 25 µl. O programa térmico utilizado incluiu a desnaturação inicial a 94°C por 4 min, 39 ciclos de desnaturação a 95°C por 45 s, anelamento a 56°C por 1 min, extensão a 72°C por 1 min e 15 s, seguidos de um período final de extensão de 7 min a 72° C.

O produto da reação acima, foi usado como molde para a segunda reação. Na segunda reação foram utilizados o par de iniciadores específicos AML1/AML2 (Lee *et al.*, 2008), utilizados para amplificação de rDNA 18S de FMA. Em microtubo estéril foi usado 2 µl do produto de PCR anterior diluído (1:100) como DNA alvo, 0,4 µM de cada iniciador, 200µM de dNTPs, 1,5 mM de cloreto de magnésio (MgCl₂), 1 U da enzima Taq DNA polimerase e 1X o tampão de reação, totalizando o volume de 25 µl. O programa térmico da PCR nested foi de desnaturação inicial a 94°C por 4 min, 39 ciclos de desnaturação a 95°C por 45 s, anelamento a 58°C por 1 min, extensão a 72°C por 1 min, seguidos de um período final de extensão de 7 min a 72° C.

Em todas as reações, o DNA de *Gigaspora albida* foi usado como controle positivo. Um controle negativo foi feito sem a adição do DNA molde. O resultado das reações de amplificação foi verificado, após eletroforese, em gel de agarose 0,8% e os fragmentos de DNA resultantes visualizados mediante coloração com brometo de etídio e fotografados sob luz UV.

Os fragmentos de rDNA 18S amplificados foram purificados (kit Purelink Genomic DNA purification – Invitrogen) e enviados ao Centro de Estudos de Genoma Humano (USP) para o seqüenciamento.

3.8. Alinhamento das sequências e análise filogenética

As sequências de nucleotídeos dos amplicons obtidos foram comparados utilizando-se a ferramenta BLAST X (Basic Local Alignment Search Tool, NCBI, Altschul *et al.*, 1990), com sequências homologas em bancos de dados “National Center for Biotechnology Information – NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast>). O alinhamento de múltiplas sequências foi realizado com o programa CLUSTAL X (Larkin *et al.*, 2007). A partir do alinhamento foram construídas árvores filogenéticas.

Os parâmetros para a reconstrução filogenética pelo método máxima verossimilhança (ML) foram obtidos com o programa ModelTest 3.7 (Posada e Crandall, 1998), sendo a árvore gerada a partir do modelo de substituição nucleotídica GTR + I + G com os seguintes parâmetros: a = 1.2412, b = 3.3311, c = 1.5599, d = 0.9415, e = 5.2797; número de tipos de substituições = 6; frequência nucleotídica (A = 0.27300, C = 0.19500, G = 0.25350, T = 0.27850); ‘rates’ = gamma; ‘shape’ = 0.6138 e proporção de sítios invariáveis = 0.4026. Também foram geradas árvores construídas a partir de análises de máxima parcimônia (MP) e neighbor joining (NJ). Mil bootstraps foram calculados para esses dois últimos métodos com o auxílio do programa PAUP* 4.0b10 (Swofford, 2002).

3. Resultados

Foram registradas 43 espécies de FMA distribuídas em dez gêneros: *Acaulospora*, *Ambispora*, *Entrophospora*, *Gigaspora*, *Glomus*, *Scutellospora*, *Racocetra*, *Fuscutata*, *Cetraspora* e *Paraglomus*. A maior diversidade ocorreu no período de estiagem, sendo registrados 33 táxons; no período chuvoso foram encontradas 24 espécies (Tabela 3). O índice de similaridade de FMA entre as estações foi de 49,1%, sendo encontradas 14 espécies em ambos os períodos de coleta.

Táxons de *Acaulospora* e *Glomus* foram os mais encontrados, representando cada um 28% do total de espécies registradas; os demais gêneros tiveram menos de 10% de representatividade em número de espécies (Figura 1).

Dos 43 táxons encontrados, 15 não foram identificados ao nível de espécie; desses, nove apresentaram glomerosporos parasitados e, em muitos casos, não estavam com todas as estruturas subcelulares intactas para permitir um estudo mais detalhado, e seis (*Acaulospora* sp.2, *Cetraspora* sp., *Scutellospora* sp.2, *Scutellospora* sp.3, *Scutellospora* sp.4 e *Glomus* sp.3) não se enquadravam nas descrições disponíveis na literatura, o que sugere a possibilidade de serem novas espécies de FMA (Tabela 3).

Tabela 3. Espécies de fungos micorrízicos arbusculares (FMA) em área de Caatinga na Estação Experimental do Instituto Agrônômico de Pernambuco – IPA, município de Caruaru – PE

ESPÉCIES	PERÍODOS	
	Chuvoso	Estiagem
<i>Acaulospora excavata</i> Ingleby & C. Walker	X	-
<i>Acaulospora foveata</i> Trappe & Janos	X	X
<i>Acaulospora longula</i> Spain & N.C. Schenck	-	X
<i>Acaulospora morrowiae</i> Spain & N.C. Schenck	X	X
<i>Acaulospora rehmsii</i> Sieverding & S. Toro	X	X
<i>Acaulospora rugosa</i> J.B. Morton	X	-
<i>Acaulospora scrobiculata</i> Trappe	X	X
<i>Acaulospora spinosa</i> C. Walker & Trappe	-	X
<i>Acaulospora tuberculata</i> Janos & Trappe	X	X
<i>Acaulospora</i> sp. 1	X	-
<i>Acaulospora</i> sp. 2	X	-
<i>Acaulospora</i> sp. 3	X	X
<i>Ambispora appendicula</i> (Spain, Sieverd. & N.C. Schenck) Spain, Oehl & Sieverd.	-	X
<i>Cetranspora pellucida</i> (T.H. Nicolson & N.C. Schenck) Oehl, F.A. de Souza & Sieverd.	X	X
<i>Cetranspora</i> sp.	-	X
<i>Entrophospora infrequens</i> (I.R. Hall) R.N. Ames & Schneid. emend. Oehl & Sieverd.	X	X
<i>Fuscutata heterogama</i> Oehl, F.A. de Souza, L.C. Maia & Sieverd.	-	X
<i>Fuscutata savanicola</i> (R.A. Herrera e Ferrer) Oehl, F.A. de Souza & Sieverd.	-	X
<i>Gigaspora decipiens</i> I.R. Hall & L.K. Abbott	X	X
<i>Gigaspora gigantea</i> (T.H. Nicholson & Gerd.) Gerd. & Trappe	X	-
<i>Gigaspora</i> sp. 1	X	-
<i>Gigaspora</i> sp. 2	-	X
<i>Glomus clavisporum</i> (Trappe) R.T. Almeida & N.C. Schenck	X	X
<i>Glomus coremioides</i> (Berk. & Broome) D. Redecker & J.B. Morton	-	X
<i>Glomus halonatum</i> S.L. Rose & Trappe	X	-
<i>Glomus invermaium</i> I.R. Hall	X	X
<i>Glomus microaggregatum</i> Koske, Gemma & P.D. Olexia	-	X
<i>Glomus nanolumen</i> Koske & Gemma	X	-
<i>Glomus sinuosum</i> (Gerd. & B.K. Bakshi) R.T.Almeida & N.C. Schenck	X	X
<i>Glomus</i> sp. 1	-	X
<i>Glomus</i> sp. 2	-	X
<i>Glomus</i> sp. 3	-	X
<i>Glomus</i> sp. 4	X	-
<i>Glomus</i> sp. 5	-	X
<i>Paraglomus occultum</i> (C. Walker) J.B. Morton & D. Redecker	X	X
<i>Racocetra gregaria</i> (N.C. Schenck & T.H. Nicolson) Oehl, F.A. de Souza & Sieverd.	-	X
<i>Racocetra intronata</i> B.T. Goto & Oehl	X	X
<i>Racocetra verrucosa</i> (Koske & C. Walker) Oehl, F.A. de Souza & Sieverd.	-	X
<i>Racocetra weresubiae</i> (Koske & C. Walker) Oehl, F.A. de Souza & Sieverd.	-	X
<i>Scutellospora</i> sp. 1	X	-
<i>Scutellospora</i> sp. 2	-	X
<i>Scutellospora</i> sp. 3	-	X
<i>Scutellospora</i> sp. 4	-	X
TOTAL DE ESPÉCIES	24	33

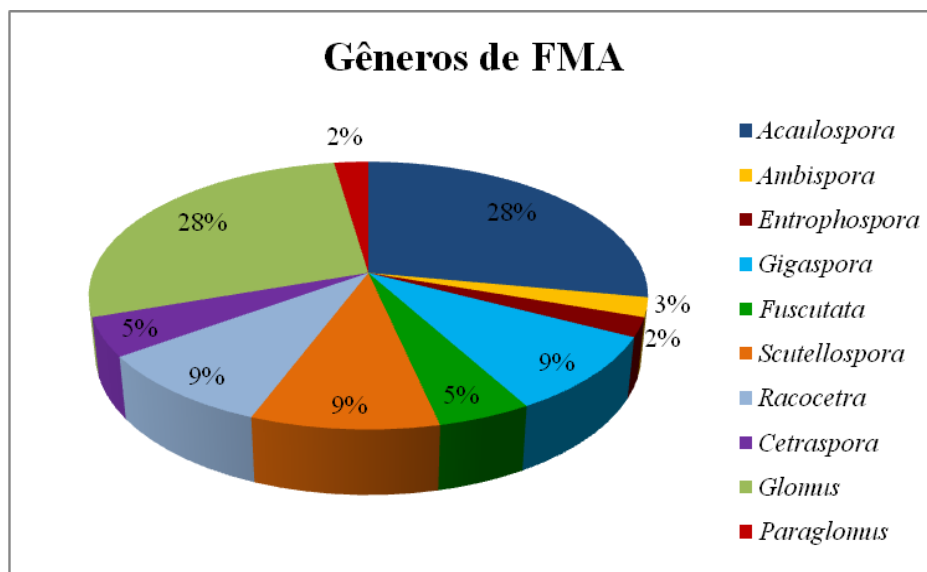


Figura 1. Representatividade, em número de espécies, dos gêneros de FMA em área de Caatinga, no município de Caruaru – PE.

As culturas armadilha permitiram a detecção espécies de FMA, não observadas nas amostras de campo recém coletadas. *Entrophospora infrequens* e *Glomus invermaium* foram recuperados nas duas estações climáticas. *Acaulospora excavata*, *A. rugosa*, *A. tuberculata*, *Cetraspora pellucida*, *Gigaspora decipiens*, *Glomus halonatum* e *G. nanolumen* foram observados apenas nos vasos de plantio provenientes de amostras do período chuvoso, enquanto *Fuscutata heterogama* e *Glomus coremioides* foram identificados exclusivamente nas culturas com solo coletado no período de estiagem.

Com a obtenção das seqüências, foi estudada a similaridade com seqüências de genes já conhecidos. A similaridade, com valores de E menores do que 10^{-5} (1e-05) pode ser considerada significativa. Trinta e seis seqüências de FMA foram usadas para a árvore filogenética, sendo nove obtidas de espécies encontradas no presente estudo e 28 retiradas do GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Genbank/>) (Tabela 4.). Como grupo externo foram usadas seqüências de *Mortierella polycephala* (X89436.1) e *Endogone pisiformis* (DQ322628.1).

Para a análise filogenética, as espécies de FMA encontradas na área em estudo foram selecionadas de acordo com os critérios de representatividade nas amostras de solo, ausência de seqüências moleculares no Genbank, problemática na taxonomia e dificuldade de identificação (possíveis novas espécies). Os táxons selecionados foram: *Acaulospora morrowiae*, *Ambispora appendicula*, *Entrophospora infrequens*, *Racocetra intraornata*, *Racocetra verrucosa*, *Cetraspora* sp., *Scutellospora* sp.1, *Scutellospora* sp.2 e *Scutellospora* sp.3.

Tabela 4. Espécies de Glomeromycota utilizadas na análise filogenética.

Espécimes	Número de acesso
<i>Acaulospora mellea</i>	FJ009670.1
<i>A. morrowiae</i>	
<i>A. scrobiculata</i>	AJ306442.1
<i>A. spinosa</i>	Z14004.1
<i>Ambispora appendicula</i>	
<i>A. fennica</i>	AM268192.1
<i>A. leptoticha</i>	AB220172.1
<i>Cetraspora gilmorei</i>	AJ276094.2
<i>C. pellucida</i>	Z14012.1
<i>Cetraspora sp.</i>	
<i>Dentiscutata reticulata</i>	AJ871273.1
<i>D. cerradensis</i>	AB041345.1
<i>Entrophospora infrequens</i>	
<i>Fuscutata heterogama</i>	AY635832.1
<i>Gigaspora albida</i>	AJ852599
<i>G. decipiens</i>	U96146.1
<i>G. gigantea</i>	Z14010
<i>G. margarita</i>	AJ852604.1
<i>G. rosea</i>	AJ852606.1
<i>Glomus clarum</i>	AJ852597.1
<i>G. claroideum</i>	AJ276087
<i>G. etunicatum</i>	Z14008.1
<i>G. fasciculatum</i>	Y17640.2
<i>G. lamellosum</i>	AJ276087.2
<i>G. mosseae</i>	AY635833.1
<i>Kuklospora colombiana</i>	AB220170.1
<i>Racocetra fulgida</i>	AJ306435.1
<i>R. gregaria</i>	AJ871274.1
<i>R. intraornata</i>	
<i>R. verrucosa</i>	
<i>R. weresubiae</i>	AJ306444.1
<i>Scutellospora aurigloba</i>	AJ276092.2
<i>S. nodosa</i>	AJ30643.1
<i>S. projecturata</i>	AJ242729.1
<i>Scutellospora sp.1</i>	
<i>Scutellospora sp.2</i>	
<i>Scutellospora sp.3</i>	

*Espécimes em negrito foram sequenciados neste estudo (ainda sem número de acesso).

Os resultados da análise filogenética confirmam Glomeromycota como grupo monofilético, apresentando valores de bootstrap de 100% em ambas as análises de NJ e MP (Figura 2). Foram observados dois grupos com suporte de 100% dentro do filo Glomeromycota: um composto pela família Ambisporaceae e o outro com os taxa: Glomeraceae, Entrophosporaceae, Acaulosporaceae, Gigasporaceae, Dentiscutataceae, Racocetraceae e Scutellosporaceae. A árvore apresentada mostra o gênero *Ambispora* como grupo basal em relação aos outros gêneros.

As seqüências parciais da SSU rDNA utilizadas no presente trabalho permitiram o agrupamento das famílias Acaulosporaceae, Gigasporaceae, Entrophosporaceae e Ambisporaceae em clados bem definidos. Entretanto, as espécies das famílias Dentiscutataceae, Racocetraceae e Scutellosporaceae não formaram um clado agrupando seus representantes.

Confirmando o esperado, *Acaulospora morrowiae*, com suporte de 99% (NJ) e 95% (MP), e *Ambispora appendiculla*, com 87% (NJ) e 96% (MP), posicionaram-se dentro dos respectivos gêneros.

Racocetra intraornata, apresentando valores de bootstrap de 84% (NJ) e 54% (MP) agrupou-se no clado das espécies de *Gigaspora*. *Entrophospora infrequens* se posicionou basalmente no clado dos *Glomus* grupo B, com suporte de 100% para ambas as análises de NJ e MP.

Scutellospora sp.1, *Scutellospora* sp.2, *Scutellospora* sp.3, *Cetraspora* sp. e *Racocetra verrucosa* agruparam-se na família Racocetraceae, porém não houve delimitação de gênero.

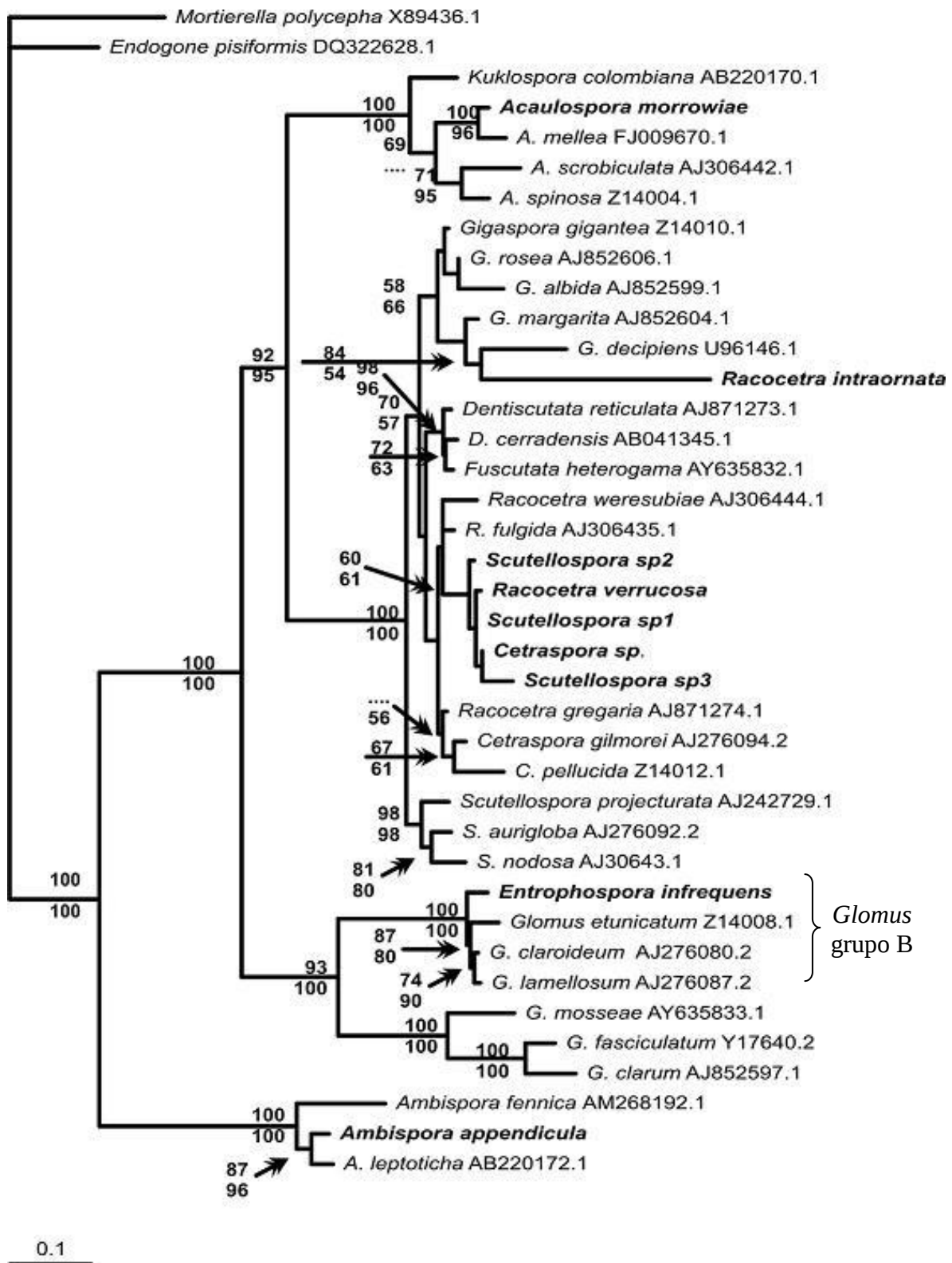


Figura 2. Árvore filogenética de Glomeromycota. A árvore é um fenograma obtido a partir de análises de máxima parcimônia (MP) e neighbor joining (NJ), baseado em um alinhamento de seqüências parciais da SSU rDNA. Os números nos ramos indicam valores de bootstrap de 1000 replicatas, NJ (acima) e MP (abaixo). As seqüências obtidas no “GenBank” são seguidas pelos números de acesso. —> Suporte (bootstrap) do clado.

4. Discussão

Considerando os estudos de ocorrência de FMA realizados anteriormente em outras áreas semi-áridas (Diallo *et al.*, 2000; Stutz *et al.*, 2000; Souza *et al.*, 2003; Silva *et al.*, 2005; Pezzani *et al.*, 2006; Uhlmann *et al.*, 2006; Guadarrama-Chávez *et al.*, 2007), o número total de espécies de encontrado no presente trabalho foi elevado, indicando alta diversidade desses fungos na área estudada, como sugerido para o semi-árido brasileiro (Maia *et al.*, 2006). Em regiões semi-áridas da Namíbia, Uhlmann *et al.* (2004) encontraram 44 espécies de FMA e Ling-Fei *et al.* (2007) registraram 47 táxons em ecossistema árido do sudoeste da China.

Acaulospora excavata, *A. foveata*, *A. morrowiae*, *A. rehmsii*, *A. scrobiculata*, *A. spinosa*, *A. tuberculata*, *Entrophospora infrequens*, *Ambispora appendicula*, *Gigaspora decipiens*, *G. gigantea*, *Fuscutata heterogama*, *Racocetra gregaria*, *R. verrucosa*, *Cetranspora pellucida*, *Glomus halonatum*, *G. microaggregatum*, *G. sinuosum* e *Paraglomus occultum* foram encontradas por outros autores em regiões semi-áridas do México (Pezzani *et al.*, 2006; Guadarrama *et al.*, 2007; Gavito *et al.*, 2008), China (Tao e Zhiwei, 2005; Tian *et al.*, 2006; Dandan e Zhiwei, 2007; Ling-Fei *et al.*, 2007; Shi *et al.*, 2007), África (Diallo *et al.*, 2000; Stutz *et al.*, 2000; Uhlmann *et al.*, 2004; Uhlmann *et al.*, 2006) e América do Norte (Stutz *et al.*, 2000).

Em relação à ocorrência em regiões do semi-árido brasileiro, todas as espécies registradas no presente estudo, exceto *Acaulospora rugosa* e *Glomus nanolumen*, foram citadas anteriormente em áreas de Caatinga de Pernambuco (Gattai, 2006; Mergulhão, 2006; Silva *et al.*, 2007; Albuquerque, 2008; Goto *et al.*, 2009; Mergulhão *et al.*, 2009), da Bahia (Silva *et al.*, 2005), da Paraíba (Aguiar, 2004; Sousa, 2009) e de Alagoas (Souza *et al.*, 2003). Como mencionado, *A. rugosa* e *G. nanolumen* são novos registros para o semi-árido.

A maior diversidade de FMA no período de estiagem em relação ao chuvoso pode estar relacionada às flutuações climáticas, como a distribuição das chuvas torrenciais e irregulares. Souza *et al.* (2003) estudando a diversidade de FMA em área de caatinga do estado de Alagoas, também registraram maior diversidade no período de estiagem em comparação ao chuvoso. Segundo Yachi e Loreau (1999), tal efeito é esperado, visto que espécies distintas respondem diferentemente às alterações ambientais. Outros autores relatam que algumas espécies podem ser mais tolerantes a variações ambientais, enquanto outras são mais sensíveis (Picone, 2000; Jansa *et al.*, 2002). A distribuição dos FMA também pode ter relação com as diferentes estratégias de sobrevivência desses fungos, que se adaptam de maneira diferenciada a condições bióticas e abióticas específicas de um determinado ambiente (Souza *et al.*, 2003), havendo assim, influência das características do ecossistema (Albuquerque, 2008).

A ocorrência de maior número de espécies de *Glomus* e *Acaulospora* (Figura 1) corrobora resultados de outros trabalhos realizados em regiões semi-áridas (Stutz *et al.*, 2000; Souza *et al.*, 2003; Aguiar, 2004; Silva *et al.*, 2005; Tao e Zhiwei, 2005; Gattai, 2006; Mergulhão, 2006; Dandan e Zhiwei, 2007; Guadarram *et al.*, 2007; Ling-Fei *et al.*, 2007; Silva *et al.*, 2007; Albuquerque, 2008; Mergulhão *et al.*, 2009). De acordo com Maia *et al.* (2006), em regiões semi-áridas do mundo, é comum a predominância de táxons de *Glomus* e *Acaulospora* em relação aos demais grupos, sendo esses os gêneros com maior número de espécies descritas.

Carrenho (1998) relata que estes gêneros apresentam maior capacidade de adaptação a solos submetidos a diferentes variações nos teores de matéria orgânica, calagem, textura, entre outros fatores, demonstrando a existência de espécies resistentes a perturbações ambientais. Espécies de *Glomus* e *Acaulospora* ocorrem em uma ampla faixa de ambientes e condições do solo, desde ecossistemas naturais a solos agrícolas ou impactados (Wang *et al.*, 2008; Jansa *et al.*, 2002; Lovelock *et al.*, 2003; Mergulhão, 2006).

O predomínio desses gêneros também pode ter sido influenciado pelo pH ácido (5,3) e/ou baixo teor de fósforo ($10,4 \text{ mg.dm}^{-3}$) do solo em estudo (Tabela 1). Alguns autores demonstraram que espécies de *Acaulospora* e *Glomus* tendem a ser encontradas em solos com pH menor que 6,5 e/ou com baixo teor de fósforo (Maia e Trufem, 1990; Souza *et al.*, 2003; Gai *et al.*, 2006). Gomes e Trufem (1998) encontraram espécies de *Acaulospora* e *Glomus* em solos ácidos (pH 3,2 e 3,4), confirmando a presença destes gêneros em solos com baixo pH.

A recuperação de espécies nas culturas armadilhas no presente estudo corrobora outros trabalhos (Stutz e Morton, 1996; Franke-Snyder *et al.*, 2001; Muthukumar e Udaian 2002; Leal, 2005; Purin, 2005; Bartz *et al.*, 2008; Mergulhão, 2009; Oehl *et al.*, 2009). De acordo com Franke-Snyder *et al.* (2001), culturas armadilhas tendem a proporcionar esporulação de espécies de FMA, mesmo sob diferentes condições. Em área árida dos EUA, Stutz e Morton (1996) recuperaram, depois de três ciclos de cultura armadilha, 15 espécies a mais do que aquelas encontradas nas amostras de solo recém coletadas. Esses autores mostraram que a estação, a localização geográfica, a planta hospedeira, e outros fatores podem influenciar a esporulação de espécies de FMA.

A utilização de culturas armadilhas fornece informações adicionais sobre a diversidade de FMA, complementando dados obtidos em amostras de campo e possibilitando melhor avaliação das espécies, principalmente em solos de regiões áridas e semi-áridas, com informações importantes sobre a biologia desses fungos (Morton *et al.*, 1993; Brundrett *et al.*, 1999).

Foi confirmada a monofilia do filo Glomeromycota (Schussler *et al.*, 2001; Redecker e Raab, 2006). O agrupamento de *Racocetra intraornata* em Gigasporaceae indica que há uma relação evolutiva entre essa espécie e os outros táxons de *Gigaspora*. de Souza *et al.* (2005) e Sýkorová *et al.* (2007) observaram uma relação evolutiva próxima entre algumas espécies de *Racocetra* e *Gigaspora*. *Racocetra intraornata* foi descoberta recentemente em área de caatinga de Pernambuco por Goto *et al.* (2009) e apesar de não haver ainda dados moleculares disponíveis a respeito desse táxon, os autores relatam que a espécie possui algumas características morfológicas semelhantes às de outros representantes de *Gigaspora*. Os nossos resultados fortalecem a proposta desses autores de que esta nova espécie talvez esteja relacionada evolutivamente a *Gigaspora*.

O posicionamento basal de *Entrophospora infrequens* em *Glomus* grupo B também foi observado por G. Silva (comunicação pessoal). Estes resultados reforçam a proposta de Sieverding e Oehl (2006), os quais sugeriram que não há relação entre *Entrophospora infrequens* e membros de Acaulosporaceae. Rodriguez *et al.* (2001) relataram que embora alguma característica morfológica de esporos de *Acaulospora* e *Entrophospora* possa ser convergente, nenhum relacionamento genético parece existir entre *E. infrequens* e o gênero *Acaulospora*.

Scutellospora sp.1, *Scutellospora* sp.2, *Scutellospora* sp.3 foram identificadas morfolologicamente como espécies de Scutelosporaceae, pois apesar da impossibilidade de visualização da placa germinativa (glomerosporos jovens), os glomerosporos apresentavam duas camadas na parede interna, diferentemente dos representantes da família Racocetraceae que apresentam uma camada na parede interna de seus esporos.

A sequência de DNA usada nesse trabalho não abrangeu toda a SSU rDNA, apenas a região intermediária. Isso pode ter obscurecido as relações filogenéticas das espécies: *Scutellospora* sp.1, *Scutellospora* sp.2, *Scutellospora* sp.3, *Cetraspora* sp. e *Racocetra verrucosa*, não sendo possível posicioná-las claramente nos seus grupos genéricos. Para esclarecer a relação filogenética dessas espécies seria necessário o estudo de outras regiões da SSU r DNA.

4.3. Conclusões

Os resultados confirmam que os solos de Caatinga têm alta diversidade de FMA.

O período de estiagem favorece o registro de maior diversidade de espécies de FMA nos solos examinados.

As flutuações ambientais podem influenciar a distribuição das espécies de FMA.

A sequência parcial da SSU rDNA utilizada, do nucleotídeo 320 a 1130, aproximadamente, é viável para confirmar a posição e afinidade filogenética das espécies *Acaulospora morrowiae*, *Ambispora appendicula*, *Entrophospora infrequens* e *Racocetra intraornata*.

6. CONSIDERAÇÕES GERAIS

A diversidade de FMA em diferentes ecossistemas tem sido frequentemente estudada, incrementando as informações sobre a distribuição e os principais fatores do solo que influenciam a distribuição das espécies o grupo. O conhecimento sobre os FMA, sua diversidade e funcionalidade nos ecossistemas (naturais ou agrícolas) é de grande importância para as tomadas de decisões nos programas de preservação ambiental, reflorestamento de áreas impactadas e aumento da produtividade agrícola.

Este estudo representa uma tentativa de ampliar os conhecimentos sobre ecologia, diversidade e distribuição de FMA na Caatinga. Com base nos resultados conclui-se que as flutuações climáticas e as condições do solo podem influenciar a comunidade de FMA e a distribuição de suas espécies. Os resultados fornecem, ainda, evidências de que, mesmo com as limitações ambientais da Caatinga, este bioma possui alta diversidade de FMA e que, possivelmente, ainda há grande número de novas espécies a serem descobertas no semi-árido brasileiro. Estudos que incluam aspectos morfológicos e moleculares minimizam os erros na identificação das espécies de FMA e melhoram a análise da diversidade desses fungos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abdalla, M.E., Abdel-Fattah, G.M. 2000. Influence of the endomycorrhizal fungus *Glomus mosseae* on the development of peanut pod rot disease in Egypt. *Mycorrhiza* 10: 29-35.
- Acosta-Martínez, V., Acosta-Mercado, D., Sotomayor-Ramírez, D., Cruz-Rodrigues, L. 2008. Microbial communities and enzymatic activities under different management in semiarid soils. *Applied Soil Ecology* 38: 249-260.
- Aguiar, R.L.F. 2004. Uso e propriedades do solo: efeitos nas micorrizas arbusculares. Tese de Doutorado, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, PE. 63 p.
- Albuquerque P.P. 2008. Diversidade de Glomeromycetes e atividade microbiana em solos sob vegetação nativa do Semi-árido de Pernambuco. Tese de Doutorado, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, PE. 113 p.
- Albuquerque, S.G., Bandeira, G.R.L. 1995. Effect of thinning and slashing on forage piphytomass from a caatinga of Petrolina, Pernambuco, Brazil. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 30: 885-981.
- Alcoforado-Filho, F.G., Sampaio, E.V.S.B., Rodal, M.J.N. 2003. Florística e fitossociologia de um remanescente de vegetação caducifólia espinhosa arbórea em Caruaru, Pernambuco. *Acta Botanica Brasilica* 17: 287-303.
- Aldrich-Wolfe, L. 2007. Distinct mycorrhizal fungal communities on new and established host species in a transitional tropical plant community. *Ecology* 88: 559-566.
- Allen, E.B., Rincon, E., Allen, M.F., Jimenez, A.P., Huante, P. 1998. Disturbance and seasonal dynamics of mycorrhizae in a tropical deciduous forest in México. *Biotropica* 30: 61-274.
- Altschul, S.F., Gish, W., Miller, W., Myers, E.W., Lipman, D.L. 1990. A basic local alignment search tool. *Journal of Molecular Biology* 215: 403-410.
- Alves, J.J.A., Araújo, M.A., Nascimento, S.S. 2008. Degradação da caatinga: uma investigação ecogeográfica. *Caminhos de Geografia* - revista on line 9: 143-155.
- Alves, L.J. 2004. Efeito da fragmentação florestal sobre comunidades de FMAs da floresta atlântica do extremo sul da Bahia. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal da Bahia. 84 p.
- Alves, A.R., Souto, J.S, Souto, P.C., Holanda, A.C. 2006. Aporte e decomposição de serrapilheira em área de Caatinga, na Paraíba. *Revista de Biologia e Ciências da Terra* 6: 194 - 203.
- Anderson, R.C., Liberta, A.E., Dickman, L.A., Katz, A.J. 1983. Spatial variation in vesicular-arbuscular mycorrhiza spore density. *Bulletin of the Torrey Botanical Club* 110:519-525.
- Andrade, L.A., Pereira, I. M., Leite, U. T., Barbosa, M.R.V. 2005. Análise da cobertura de duas fitofisionomias da Caatinga, com diferentes históricos de uso, no município de São João do Cariri, estado da Paraíba. *Revista Cerne*, Lavras, 11: 253-262.

- Andrade-Lima, D. 1981. The caatingas dominium. *Revista Brasileira de Botânica* 4: 149-163
- Andrade, S.A.L., Silveira, A.P.D. 2004. Biomassa e atividade microbianas do solo sob influência de chumbo e da rizosfera da soja micorrizada. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 39: 1191-1198.
- Araújo, E.L., Silva, K.A., Ferraz, E.M.N., Sampaio, E.V.S.B., Silva, S.I. 2005. Diversidade de herbáceas em microhabitats rochoso, plano e ciliar em uma área de caatinga, Caruaru-PE. *Acta Botanica Brasilica* 19: 285-294.
- Araujo, K.D., Parente, H.N., Correia, K.G., Dantas, R.T., Andrade, A.P., Pazera Jr., E. 2009. Liberação de dióxido de carbono (CO₂) em área de caatinga no semi-árido da Paraíba. *Geoambiente On-line* 1:12-53.
- Augé, R.M., Stodola, A.J.W., Tims, J.E., Saxton, A.M. 2001. Moisture retention properties of a mycorrhizal soil. *Plant and Soil* 230: 87-97.
- Azcón-Aguilar C., Barea J.M. 1997. Applying mycorrhiza biotechnology to horticulture: significance and potentials. *Scientia Horticulturae* 68: 1-24.
- Bakke, I. A., Lira, J.E., Oliveira, V.M., Leite, R.M.B., Souto, P.C., Maia, E.L., Souto, J.S., Araújo, G.T. 2001. Cinética da respiração edáfica em dois ambientes distintos no semi-árido da Paraíba. In: *Encontro Nordestino de Biogeografia – ENB*, 2. Maceió. Anais... Maceió: UFAL, 2001. 225-231.
- Barea J.M, Pozo M.J, Azcón R., Azcón-Aguilar C. 2005. Microbial co-operation in the rhizosphere. *Journal of Experimental Botany* 56: 1761–1778.
- Bartz, M.L.C., Carrenho, R., Costa, S.M.G., Colozzi-Filho, A., Tormena, C.A. 2008. Comparação entre as técnicas de amostragem direta em campo e cultura-armadilha para mensuração da diversidade de espécies de fungos micorrízicos arbusculares. *Hoehnea* (São Paulo), 35: 159-164.
- Bashan, Y., Davis, E.A., Carrillo-Garcia, A., Linderman, R.G. 2000. Assessment of mycorrhizal inoculum potencial in relation to the establishment of cactus seedlings under mesquite nurse-trees in the Sonoran Desert. *Applied Soil Ecology* 14:165-175.
- Bashan, Y., Khaosaad, T., Salazar, B.G., Ocampo, J.A., Wiemken, A., Oehl, F., Vierheilig, H. 2007. Mycorrhizal characterization of the boojum tree, *Fouquieria columnaris*, an endemic ancient tree from the Baja California Peninsula, Mexico. *Trees* 21: 329-335.
- Bastida, F., Barberá, G.G., García, C., Hernández, T. 2008. Influence of orientation, vegetation and season on soil microbial and biochemical characteristics under semiarid conditions. *Applied Soil Ecology* 38:62-70.
- Bastida, F., Moreno, J.L., Hernández, T., García, C. 2006. Microbial degradation index of soils in semiarid climate. *Soil Biology & Biochemistry* 38: 3463-3473.
- Batista, Q.R., Freitas, M.S.M., Martins, M.A., Silva, C.F. 2008. Bioqualidade da área degradada pela extração de argila, revegetada com *Eucalyptus* spp e sabiá. *Revista Caatinga* 21: 169-178.

- Becard, G., Fortin, J.A. 1988. Early events of vesicular arbuscular mycorrhiza formation on RI T-DNA transformed roots. *New Phytologist* 108: 211-218.
- Bentivenga, S.P., Morton, J.B. 1994. Systematics of glomalean endomycorrhizal fungi: current views and future directions. In: Pfleger, F.F., Linderman, R.G. (eds.). *Mycorrhizae and Plant health*. St. Paul: APS Press, pp. 283-308.
- Bentivenga, S.P., Morton, J.B. 1996. Congruence of fatty acid methyl ester profiles and morphological characters of arbuscular mycorrhizal fungi in Gigasporaceae. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. USA 93: 5659–5662.
- Benvinda, J.M.S. 2005. Decomposição de resíduos de nim (*Azadiractha indica*) em ecossistema do semi-árido da Paraíba. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Campina Grande, Patos, PB, 41 p.
- Bird, S.B., Herrick, J.E., Wander, M.M., Wright, S.F. 2002. Spatial heterogeneity of aggregate stability in soil carbon in semi-arid rangeland. *Environmental Pollution* 116: 445-455.
- Bonfim, J.A., Matsumoto, S.N., Santos, M A.F., Araújo, G. S. 2007. Determinação da densidade de esporos de fungos micorrízicos arbusculares em cafeeiros cultivados em sistema agrofloreto e a pleno sol, no município de Vitória da Conquista. *Revista Brasileira de Agroecologia*, Bahia. 2(2): 727-729.
- Borie, F., Rubio, R., Rouanet, J.L, Morales, A., Borie, G., Rojas, C. 2006. Effects of tillage systems on soil characteristics, glomalin and mycorrhizal propagules in a Chilean Ultisol. *Soil & Tillage Research* 88: 253-261.
- Bradford, M.M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry* 72: 248-254.
- Brito-Ramos, A.B., Braga, D.V.V., Braga, J.D. 2006. Caatinga - conhecer para preservar. Recife: *Companhia Hidro Elétrica do São Francisco*, Vol. 1. pp. 20.
- Brower, J.E., Zar, J.H. 1984. Community similarity. In: Brower, J.E., Zar, J.H. (eds) *Field and Laboratory for General Ecology*. Win C. Brown Publishers, Dubuque, p.161-164.
- Brundrett, M.C., Ashwath, N., Jasper, D.A. 1996. Mycorrhizas in the Kakadu region of tropical Australia. *Plant and Soil* 184: 173-184
- Brundrett, M.C., Abbott, L.K., Jasper, D.A. 1999. Glomalean mycorrhizal fungi from tropical Australia. I. Comparison of the effectiveness and specificity of different isolation procedure. *Mycorrhiza* 8: 305-314.
- Brundett, M. 2002. Coevolution of roots and mycorrhizas of land plants. *New Phytologist* 154: 275-304.
- Brzezińska, M., Stępniewska, Z., Stępniewski, W. 2001. Dehydrogenase and catalase activity of soil irrigated with municipal wastewater. *Polish Journal of Environmental Studies* 10: 307-311.

- Cantarella, H., Quaggio, J.A., van Raij, B. 2001. Determinação da matéria orgânica. In: van Raij, B., Andrade, J.C., Cantarella, H., Quaggio, J.A (eds.). *Análise química para avaliação da fertilidade de solos tropicais*. Campinas, Instituto Agrônômico, pp. 173-180.
- Caproni, A.L. 2001. Fungos micorrízicos arbusculares em áreas reflorestadas remanescentes da mineração de bauxita em Porto Trombetas/PA. Tese de Doutorado, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica,. 186p.
- Caravaca., F., Alguacil, M.M., Barea, J.M. e Roldán, A. 2005. Survival of inocula and native AM fungi species associated with shrubs in a degraded Mediterranean ecosystem. *Soil Biology & Biochemistry* 37: 227-233.
- Carrenho, R. 1998. Influência de diferentes espécies de plantas hospedeiras e fatores edáficos no desenvolvimento de fungos micorrízicos arbusculares (FMA). Tese de Doutorado, Universidade Estadual de São Paulo, Rio Claro.
- Carrenho, R., Silva, E.S., Trufem, S.F.B., Bononi, V.L.R. 2001. Successive cultivation of maize and agricultural practices on root colonization, number of spores and species of arbuscular mycorrhizal fungi. *Brazilian Journal of Microbiology* 32: 262-270.
- Carrenho, R., Trufem, S.F.B., Bononi, V.L.R. 2002. Effects of using different host plants on the detected biodiversity of arbuscular mycorrhizal fungi from an agroecosystem. *Revista Brasileira de Botânica* 25: 93-101.
- Carvalho, F. 2005. Atributos bioquímicos como indicadores da qualidade do solo em florestas de *Araucarioa angustifolia* (Bert.) O. Ktze. no estado de São Paulo. Dissertação de Mestrado, Piracicaba: USP, 79p.
- Casida, L.E., Klein, D.A., Santoro, T. 1964. Soil dehydrogenase activity. *Soil Science* 98: 371-376.
- Castelletti, C.H.M., Silva, J.M.C., Tabarelli, M., Santos, A.M.M. 2003. Quanto ainda resta da Caatinga? Uma estimativa preliminar. In: Silva, J.M.C., Tabarelli, M., Fonseca, M.T., Lins, L.V. (orgs.). *Biodiversidade da Caatinga: áreas e ações prioritárias para a conservação*. Ministério do Meio Ambiente, Brasília. pp. 91-100.
- Chaer, G.M., Tótola, M.R. 2007. Impacto do manejo de resíduos orgânicos durante a reforma plantios eucalipto sobre indicadores qualidade solo. *Revista Brasileira de Ciência do Solo* 31: 1381-1396.
- Chen, X., Wu, C., Tang, J., Hu, S. 2005. Arbuscular mycorrhizae enhance metal lead uptake and growth of host plants under a sand culture experiment. *Chemosphere* 60: 665-671.
- Chimner, R.A. 2004. Soil respiration rates of tropical peatlands in Micronesia and Hawaii. *Wetlands*, Washington, 24(1): 51-56.
- Clapp, J.P., Fitter, A.H., Young, J.P.W. 1999. Ribosomal small subunit sequence variation within spores of an arbuscular mycorrhizal fungus, *Scutellospora* sp. *Molecular Ecology* 8: 915-921.
- Clapp, J.P., Young, J.P.W., Merryweather, J.W., Fitter, A.H. 1995. Diversity of fungal symbionts in arbuscular mycorrhizas from a natural community. *New Phytologist* 130: 259–265.

- Collier, SC., Yarnes, C.T., Herman, R.P. 2003. Mycorrhizal dependency of Chihuahuan Desert plants is influenced by life history strategy and root morphology. *Journal Arid Environments* 55: 223–229.
- Colozzi-Filho, A., Cardoso, E.J.B.N. 2000. Detecção de fungos micorrízicos arbusculares em raízes de cafeeiro e de crotalária cultivada na entrelinha. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 35: 2033–2042.
- Córdoba, A.S., Mendonça, M.M., Araújo, E.F. 2002. Avaliação da diversidade genética de fungos micorrízicos arbusculares em três estádios de estabilização de dunas. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 26: 931–937.
- Corradi, N., Crool, D., Colard, A., Khun, G., Ehinger, M., Sanders, I.R. 2007. Gene copy number polymorphisms in an Arbuscular Mycorrhizal Fungal population. *Applied And Environmental Microbiology* 73: 366–369.
- Costa, E.A., Goedert, W.J., de Souza, D.M.G. 2006. Qualidade do solo submetido a sistemas de cultivo com preparo convencional e plantio direto. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 41: 1185–1191.
- Dandan, Z., Zhiwei, Z. 2007. Biodiversity of arbuscular mycorrhizal fungi in the hot-dry valley of the Jinsha River, southwest China. *Applied Soil Ecology* 37: 118–128.
- de Fede, K.L., Panaccione, D.G., Sextone, A.J. 2001. Characterization of dilution enrichment cultures obtained from size-fractionated soil bacteria by community-level physiological profiles and restriction analysis of 16S rDNA genes. *Soil Biology & Biochemistry*, 33: 1555–1562.
- de-la-Rosa-Mera, C.J., Monroy-Ata, A. 2006. Mosaicos de vegetación para la restauración ecológica en una zona semiárida TIP *Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas* 9: 96–100.
- de Souza, F.A., Kowalchuk, G.A., Leeflang, P., van Veen, J.A., Smit, E. 2004. PCR-denaturing gradient gel electrophoresis profiling of inter- and intraspecies 18S rRNA gene sequence heterogeneity is an accurate and sensitive method to assess species diversity of arbuscular mycorrhizal fungi of the genus *Gigaspora*. *Applied and Environmental Microbiology* 70: 1413–1424.
- de Souza, F.A., Declerck, S., Smit, E., Kowalchuk, G.A. 2005. Morphological, ontogenetic and molecular characterization of *Scutellospora reticulata* (Glomeromycota). *Mycological Research* 109: 697–706.
- Diallo, A.T., Samb, P.I., Ducousso, M. 2000. Arbuscular mycorrhizal fungi in the semi-árid areas of Senegal. *European Journal of Soil Biology* 35: 65–75.
- Dodd, J.C., Rosendahl, S., Giovannetti, M., Broome, A., Lanfranco, L., Walker, C. 1996. Inter- and intraspecific variation within the morphologically-similar arbuscular mycorrhizal fungi *Glomus mosseae* and *Glomus coronatum*. *New Phytologist*. 133: 113–122.

- Doi, R., Ranamukhaarachchi, S.L. 2009. Soil dehydrogenase in a land degradation–rehabilitation gradient: observations from a savanna site with a wet/dry seasonal cycle; *Revista Biologia Tropical* 57: 223–234.
- Doran, J.W., Sarrantonio, M., Liebig, M., 1996. Soil health and sustainability. In: Sparks, D.L. (ed.), *Advances in Agronomy*, Vol. 56, Academic Press, San Diego, CA, USA, pp. 1–54.
- Driver, J.D., Holben, W.E., Rillig, M.C. 2005. Characterization of glomalin as a hyphal wall component of arbuscular mycorrhizal fungi. *Soil Biology & Biochemistry* 37: 101-106.
- 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. 2000. Estratégias para uso sustentável da biodiversidade da Caatinga. In: Silva, J.M.C., Tabarelli, M. (coord.) *Workshop: Avaliação e identificação de ações prioritárias para a conservação, utilização sustentável e repartição de benefícios da biodiversidade do bioma Caatinga*. Petrolina.
- Facci, L.D. 2008. Variáveis microbiológicas como indicadoras da qualidade do solo sob diferentes usos. Dissertação de Mestrado, Instituto Agronômico de Campinas, Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo.
- Fernández, M.T.H., Izquierdo, C.G., Stamford, N.P., Moreno, M.C.M. 2008. Enzimas que actúan em la matéria orgânica del suelo. In: Figueiredo, M.V.B., Burity, H.A., Stamford, N.P., Santos, C.E.R.S. (Eds.). *Microrganismos e Agrobiodiversidade: o novo desafio para a agricultura*. Editora da UFPE, p. 351-375.
- Fialho, J.S., Gomes, V.F.F., Oliveira, T.S., Júnior, J.M.T.S. 2006. Indicadores da qualidade do solo em áreas sob vegetação natural e cultivo de bananeiras na Chapada do Apodi- CE. *Revista Ciência Agronômica*, 37: 250-257.
- Finlay, R.D. 2004. Mycorrhizal fungi and their multifunctional roles. *Mycologist* 18: 91-96.
- Franchini, J.C., Crispino, C.C., Souza, R.A., Torres, E., Hundria, M. 2007. Microbiological parameters as indicators of soil quality under various soil management and crop rotation systems in southern Brazil. *Soil & Tillage Research* 92: 18-29.
- Franke-Snyder, M., Douds Jr., D.D., Galvez, L., Philips, J.G., Wagoner, P., Drinkwater, L., Morton, J. 2001. Diversity of communities of arbuscular mycorrhizal (AM) fungi present in conventional versus low-input agricultural sites in eastern Pennsylvania, USA. *Applied Soil Ecology*, 16: 35-48.
- Gadkar, V., Rillig, M.C. 2006. The arbuscular mycorrhizal fungal protein glomalin is a putative homolog of heat shock protein 60. *FEMS Microbiology Letters* 263: 93-101.
- Gai, J.P., Feng, G., Cai, X.B., Christie, P., Li, X.L. 2006. A preliminary survey of arbuscular mycorrhizal status of grassland plants in southern Tibet. *Mycorrhiza* 16: 191-196.
- Gamper, H., Walker, C., Schüssler, A. 2009. *Diversispora celata* sp. nov.: molecular ecology and phylotaxonomy of an inconspicuous arbuscular mycorrhizal fungus. *New Phytologist* 182: 495-506.

- Gandolfi, A., Sanders, I.R., Rossi, V., Menozzi, P. 2003. Evidence of recombination in putative ancient asexuals. *Molecular Biology and Evolution*, Oxford, 20: 754-761.
- Gattai., G.S. 2006. Efeitos dos fungos micorrízicos arbusculares sobre o crescimento de espécies arbustivas e atividade microbiana em solo contaminado com metais pesados. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Pernambuco, Recife – PE.
- García, C., Hernandez, T., Costa, F. 1994. Microbial activity in soils under Mediterranean environmental conditions. *Soil Biology & Biochemistry* 26:1185–1191.
- García, C., Hernandez, T., Costa, F. 1997. Potential use of dehydrogenase activity as index of microbial activity in degraded soils. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 28: 123-134.
- García, C., Hernández, M.T., Pascual, J., Moreno, J.L., Ros, M. 2000. Actividad microbiana en suelos del sureste español sometidos a procesos de degradacion y desertificacion. Estrategias para su rehabilitation. In: Garcia-Izquierdo, C., Hernández, M.T. (eds.). *Investigación y Perspectivas de la Enzimología de Suelos en España*. CSIC. Madrid.
- Gavito, M.E., Pérez-Castillo, D., González-Monterrubio, C.F., Vieyra-Hernández, T., Martínez-Trujillo, M. 2008. High compatibility between arbuscular mycorrhizal fungal communities and seedlings of different land use types in a tropical dry ecosystem. *Mycorrhiza* 19: 47-60.
- Gerdemann, J.W., Nicolson, T.H. 1963. Spores of mycorrhizal Endogone species extracted from soil by wet sieving and decanting. *Transaction British Mycological Society* 46: 235-244.
- Gerdemann, J.W., Trappe, J.M. 1974. The Endogonaceae of the Pacific Northwest. *Micologie Memoir* 5: 1-76.
- Gianinazzi-Pearson, V., van Tuinen, D., Dumas-Gaudot, E., Dulieu, H. 2001. Exploring the genome of Glomalean fungi. In: Hock, B. (Ed.). *The mycota, fungal associations*. Berlin: Springer-Verlag, p. 3-17.
- Gil-Sotres, F., Trasar-Cepeda, C., Leirós, M.C., Seoane, S. 2005. Different approaches to evaluating soil quality using biochemical properties. *Soil Biology & Biochemistry* 37: 877-887.
- Giovanetti, M., Mosse, B. 1980. An evaluation of techniques for measuring vesicular arbuscular mycorrhizal infection in roots. *New Phytologist* 84: 489-500.
- Giulietti, A.M., Bocage Neta, A.L., Castro, A.A.J.F., Gamarra-Rojas, C.F.L, Sampaio, E.V.S.B., Virgínio, J.F., Queiroz, L.P., Figueiredo, M.A., Rodal, M.J.N., Barbosa, M.R.V., Harley, R.M. 2003. Diagnóstico da vegetação nativa do bioma Caatinga. In: Silva, J.M.C., Tabarelli, M., Fonseca, M.T., Lins, L.V. (orgs.). *Biodiversidade da Caatinga: áreas e ações prioritárias para a conservação*. Ministério do Meio Ambiente, Brasília. pp. 48-90.
- Gollotte, A., van Tuinen, D., Atkinson, D. 2004. Diversity of arbuscular mycorrhizal fungi colonising roots of the grass species *Agrostis capillaris* and *Lolium perenne* in a field experiment. *Mycorrhiza* 14: 111-117.

- Gomes, S.P., Trufem, S.F.B. 1998. Fungos micorrízicos arbusculares (Glomales, Zygomycota) na Ilha dos Eucaliptos, Represa do Guarapiranga, São Paulo, SP. *Acta Botânica Brasílica* 12(3): 393-401.
- González-Chávez, M.C., Carrillo-González, R., Wright, S.F., Nichols, K.A. 2004. The role of glomalin, a protein produced by arbuscular mycorrhizal fungi, in sequestering potentially toxic elements. *Environmental Pollution* 130: 317-323.
- Goto, B.T., Maia, L.C., Silva, G.A., Oehl, F. 2009. *Racocetra intraornata*, a new species in the Glomeromycetes with a unique spore wall structure. *Mycotaxon* 109: 483-491.
- Goto, B.T., Silva, G.A., Maia, L.C., Oehl, F. 2010. *Dentiscutata colliculosa*, a new species in the Glomeromycetes from Northeastern Brazil with colliculate spore ornamentation. *Nova Hedwigia*, in press.
- Graham, J.H., Hodge, N.C., Morton, J.B. 1995. Fatty acid methyl ester profiles for characterization of of Glomalean fungi and their Endomycorrhizae. *Applied and Environmental Microbiology* 61: 58-64.
- Grayston, S.J., Grifithi, G.S., Mawdesley, J.L., Campebell, C.D., Bardgett, R.D. 2001. Accounting of variability in soil microbial communities of temperate upland grassland ecosystem. *Soil Biology & Biochemistry*, 33: 533-551.
- Grigera, M.S., Drijber, R.A., Shores-Morrow, R.H., Wienhold, B.J. 2007. Distribution of the arbuscular mycorrhizal biomarker C16:1cis11 among neutral, glyco and phospholipids extracted from soil during the reproductive growth of corn. *Soil Biology & Biochemistry* 39: 1589–1596.
- Grisi, B.M. 1978. Método químico de medição da respiração edáfica: alguns aspectos técnicos. *Ciência e Cultura* 30: 82-88.
- Grisi, B.M. 1995. Biomassa e atividade de microrganismos do solo: Revisão metodológica. *Revista Nordestina de Biologia* 10: 1-22.
- Guadarrama, P., Álvarez-Sánchez, F.J. 1999. Abundance of arbuscular mycorrhizal fungi spores in different environments in a tropical rain forest. Veracruz, Mexico. *Mycorrhiza* 8: 267-270.
- Guadarrama, P., Camargo-Ricalde, S.L., Hernández-Cuevas, L., Castillo Argüero, S. 2007. Los hongos micorrizógenos arbusculares de la región de Nizanda, Oaxaca, México. *Boletín de la Sociedad Botánica de México* 81: 133-139.
- Gusmão, L.P., Maia, L.C. 2006. Os fungos (Capítulo II). In: Gusmão, L.F.P., Maia, L.C. (Org.) *Diversidade e caracterização dos fungos do Semi-árido Brasileiro*. 1ª ed. Recife, Associação Plantas do Nordeste-APNE, 2: 27-47.
- Harner, M.J., Ramsey, P.W., Rillig, M.C. 2005. Protein accumulation and distribution in floodplain soils and river foam. *Ecology Letters* 7: 829-836.
- Harrison, M.J. 1999. Molecular and cellular aspects of the arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 50: 361–89

- Haselwandter, K. 2000. Soil micro-organisms, mycorrhiza, and restoration ecology. In: Urbanska, K.M., Webb, N.R., Edwards, P.J. (eds.). *Restoration Ecology and Sustainable Development*, Cambridge University Press, Cambridge, pp 65-80.
- Hart, M.M., Reader, R.J., Klironomos, J.N. 2001. Life-history strategies of arbuscular mycorrhizal fungi in relation to their sucessional dynamics. *Mycologia* 93:1186-1194.
- Helgason, T., Daniell, T.J., Husband, R., Fitter, A.H., Young, J.P.W. 1998. Ploughing up the wood-wide web? *Nature* 384: 431.
- Helgason, T., Merryweather, J.W., Denison, J., Wilson, P., Young, J.P.W., Fitter, A.H. 2002. Selectivity and functional diversity in arbuscular mycorrhizas of co-occurring fungi and plants from a temperate deciduous woodland. *Journal of Ecology* 90: 371-384.
- Hempel, S., Renker, C., Buscot, F. 2007. Differences in the species composition of arbuscular mycorrhizal fungi in spore, root and soil communities in a grassland ecosystem. *Environmental Microbiology* 9: 1930–1938.
- Husband, R., Herre, E.A., Turner, S.L., Gallery, R., Young, J.P.W. 2002. Molecular diversity of arbuscular mycorrhizal fungi and patterns of host association over time and space in a tropical forest. *Molecular Ecology*, Oxford, 11: 2669-2678.
- IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Mapa de Biomas do Brasil, 2005.
- Jansa, J., Mozafar, A., Anken, T., Ruh, R., Sanders, I.R., Frossard, E. 2002. Diversity and structure of AMF communities as affected by tillage in a temperate soil. *Mycorrhiza* 12: 225-234.
- Jenkins, W.R. 1964. A rapid centrifugal-flotation technique for separating nematodes from soil. *Plant Disease Reporter* 48: 692.
- Kaya, C., Higgs, D., Kirnak, H., Tas, I., 2003. Mycorrhizal colonization improves fruit yield and water use efficiency in watermelon (*Citrullus lanatus* Thunb.) grown under well-watered and water-stressed conditions. *Plant and Soil* 253: 287-292.
- Kling, M., Jakobsen, I. 1998. Arbuscular mycorrhiza in soil quality assessment. *Ambio* 27: 29–34.
- Knorr, M.A., Boerner, R.E.J., Rillig, M.C. 2003. Glomalin content of forest soils in relation to fire frequency and landscape position. *Mycorrhiza* 13: 205-210.
- Koide, R.T. 1991. Nutrient supply, nutrient demand and plant response to mycorrhizal infection. *New Phytologist*. 117: 365-386.
- Koide, R.T., Schreiner, R.P. 1992. Regulation of the vesicular-arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 43: 557-581.
- Kjoller, R., Rosendahl, S. 2000. Detection of arbuscular mycorrhizal fungi (Glomales) in roots by nested PCR and SSCP (Single Stranded Conformation Polymorphism). *Plant and Soil* 226: 189-196.

- Kowalchuk, G.A., de Souza, F.A., van Veen, J.A. 2002. Community analysis of arbuscular mycorrhizal fungi associated with *Ammophila arenaria* in Dutch coastal sand dunes. *Molecular Ecology* 11: 571-581.
- Lanfranco, L., Bianciotto, V., Lumini, E., Souza, M., Morton, J.B., Bonfante, P. 2001. A combined morphological and molecular approach to characterize isolates of arbuscular mycorrhizal fungi in *Gigaspora* (Glomales). *New Phytologist* 152: 169-179.
- Lambais, M.R., Cury, J.C., Maluche-Baretta, C.R., Büll, R.C. 2005. Diversidade microbiana nos solos: definindo novos paradigmas. In: Vidal-Torrado, P., Alleoni, L.R.F., Cooper, M., Silva, A.P., Cardoso, E.J., (orgs.) *Tópicos em ciência do solo*. Viçosa, MG, Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 4: 43-84.
- Larkin, M.A., Blackshields, G., Brown, N.P., Chenna, R., McGettigan, P.A., McWilliam, H., Valentin, F., Wallace, I.M., Wilm, A., Lopez, R., Thompson, J.D., Gibson, T.J., Higgins, D.G. 2007. Clustal W and Clustal X version 2.0. *Bioinformatics* 23: 2947-2948.
- Leal, P.L.L. 2005. Fungos micorrízicos arbusculares isolados em culturas armadilhas de solos sob diferentes sistemas de uso na Amazônia. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Lavras.
- Leal, I.R., Silva, J.M.C., Tabarelli, M., Lacher-Jr, T.E. 2005. Changing the course of biodiversity conservation in the Caatinga of northeastern Brasil. *Conservation Biology* 19: 701- 706.
- Leal, I.R., Tabarelli, M., Silva, J.M.C. 2003. *Ecologia e Conservação da Caatinga*. Universitária, UFPE, pp. 822.
- Lee, J., Lee, S., Young, J.P.W. 2008. Improved PCR primers for the detection and identification of arbuscular mycorrhizal fungi. *FEMS Microbiology Ecology* 65: 339–349.
- Lekberg, Y., Koide, R.T., Rohr, J.R., Aldrich-Wolfe, L., Morton, J.B. 2007. Role of niche restrictions and dispersal in the composition of arbuscular mycorrhizal fungal communities. *Journal of Ecology* 95: 95-105.
- Ling-Fei, L., Tao L., Zhi-Wei, Z. 2007. Differences of arbuscular mycorrhizal fungal diversity and community between a cultivated land, an old field, and a never-cultivated field in a hot and arid ecosystem of southwest China. *Mycorrhiza* 17: 655-665.
- Lovelock, C.E., Andersen, K., Morton, J.B. 2003. Influence of host tree species and environmental variables on arbuscular mycorrhizal communities in tropical forests. *Oecologia* 135: 268–279.
- Lovelock, C.E., Wright, S.F., Clark, D.A., Ruess, R.W. 2004 Soil stocks of glomalin produced by arbuscular mycorrhizal fungi across a tropical rain forest landscape. *Journal of Ecology* 92: 278-287.
- Lutgen, E.R., Muir-Clairmont, D., Graham, J., Rillig, M.C. 2003. Seasonality of arbuscular mycorrhizal hyphae and glomalin in a western Montana grassland. *Plant and Soil* 257: 71-83.
- Maia, L.C., Trufem, S.F.B. 1990. Fungos micorrízicos vesículo-arbusculares em solos cultivados no Estado de Pernambuco, Brasil. *Revista Brasileira de Botânica* 13: 89-95.

- Maia, L.C., Yano-Melo, A.M., Goto, B.T. 2006. Filo Glomeromycota. Cap. VI. pp. 109-126. In: Gusmão, L.F.P., Maia, L.C. (eds) *Diversidade e caracterização dos fundos do semi-árido*. Série Instituto milênio do semi-árido, Vol. II. Recife, Associação Plantas do Nordeste – APNE e MCT.
- Majer, R.M., Pepper, I. L., Gerba, C.P. 2000. *Environmental microbiology*. 1 ed. Canadá: Academic Press, 585 p.
- Medeiros, E.V. 1999. Variação sazonal na biomassa de raízes finas sob vegetação da caatinga. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 48 p.
- Mehrotra, V.S. 2005. Mycorrhiza: a premier biological tool for managing soil fertility. In: Mehrotra, V.S. (Ed.) *Mycorrhiza: role and applications* pp. 1-65.
- Mello, C.M.A. 2006. Utilização da glomalina como indicador bioquímico da qualidade do solo. Trabalho de Conclusão de Curso. Monografia, Universidade Federal de Pernambuco.
- Mendes, B.V. 1997. *Biodiversidade e Desenvolvimento Sustentável do Semi-Árido*. Fortaleza: SEMACE.
- Menezes, R.S.C., Sampaio, E.V.S.B. 2000. Agricultura sustentável no semi-árido nordestino. In: Oliveira, T.S., Romero, R.E., Assis Jr., R.N., Silva, J.R.C.S. (eds.) *Agricultura, sustentabilidade e o semi-árido*. Fortaleza, Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, Universidade Federal do Ceará, p. 20-46.
- Mergulhão, A.C.E.S. 2006. Aspectos ecológicos e moleculares de fungos micorrízicos arbusculares. Tese de Doutorado, Universidade Federal de Recife, Recife - PE, pp.152.
- Mergulhão, A.C.E.S., Figueiredo, M.V.B., Burity, H.A., Maia, L.C. 2009. Hospedeiros e ciclos sucessivos de multiplicação afetam a detecção de fungos micorrízicos arbusculares em áreas impactadas por mineração gesseira. *Revista Árvore* 33: 227-236.
- Miller, R.M., Jastrow, J.D. 2000. Mycorrhizal fungi influence soil structure. In: Kapulnik, Y., Douds, D. (eds) *Arbuscular Mycorrhizas: Physiology and Function*. Dordrecht (Netherlands): Kluwer Academic Publishers, London. pp. 3-18.
- MMA – Ministério do Meio Ambiente, dos Recursos Hídricos e da Amazônia Legal 2002. *Avaliação e ações prioritárias para a conservação da biodiversidade da Caatinga*. Universidade Federal de Pernambuco, Conservation International do Brasil e Fundação Biodiversitas, Brasília.
- Mohammad, M.J., Hamad, S.R., Malkawi, H.I. 2003. Population of arbuscular mycorrhizal fungi in semiarid environment of Jordan as influenced by biotic and abiotic factors. *Journal of Arid Environments* 53: 409-417.
- Monson, R.K., Lipson, D.L., Burns, S.P., Turnipseed, A.A., Delany, A.C., Williams, M.W., Schmidt, S.K. 2006. Winter forest soil respiration controlled by climate and microbial community composition. *Nature*, 439: 711-714.

- Montaño, N.M., Camargo-Ricalde, S.L., García-Sánchez, R., Monroy-Ata, A. Micorrizas arbusculares en ecosistemas áridos y semiáridos (Arbuscular mycorrhizae in arid and semi-arid ecosystems). *Mundi-Prensa SA de CV, Instituto Nacional de Ecología-SEMARNAT, UAM-Iztapalapa, FES-Zaragoza-UNAM*. Mexico, Distrito Federal, México.
- Moreira, F.M.S., Siqueira, J.O. 2002. Micorriza. In: Moreira, F.M.S., Siqueira, J.O. (eds.) *Microbiologia e bioquímica do solo*. Lavras, UFLA, pp. 473-439.
- Moreira, F.M.S., Siqueira, J.O. 2006. *Microbiologia e bioquímica do solo*. Lavras: UFLA, pp. 729.
- Moreira, M., Gomes, J.E., Tsai, S.M., Cardoso, E.J.B.N. 2005. Identificação de fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) em raízes de *Araucária angustifolia* através de métodos moleculares. In: *XXX Congresso Brasileiro de Ciência do Solo*, Recife, 2005. Cd-Rom.
- Morgan, J.A.W., Bending, G.D, White, P.J. 2005. Biological costs and benefits to plant-microbe interactions in the rhizosphere. *Journal Experimental Botany* 56: 1729-1739.
- Morton, J.B. 1993. Problems and solutions for the integration of Glomalean taxonomy, systematic biology, and the study of endomycorrhizal phenomena. *Mycorrhiza* 2: 97-109.
- Morton, J.B. 1995. Taxonomic and phylogenetic divergence among five *Scutellospora* species (Glomales, Zygomycetes) based on comparative developmental sequence. *Mycologia* 87: 127 – 137.
- Morton, J.B., Benny, G.L. 1990. Revised Classification of arbuscular mycorrhizal fungi (Zygomycetes). A new order, Glomales, two new suborders, Glomineae and Gigasporineae, and two new families, Acaulosporaceae and Gigasporaceae, with an emendation of Glomaceae. *Mycotaxon* 37: 471 – 491.
- Morton, J.B., Bentivenga, S.P., Wheeler, W.W. 1993. Germ plasm in the International Collection of Arbuscular and Vesicular-Arbuscular Mycorrhizal Fungi (INVAM) and procedures for culture development, documentation and storage. *Mycotaxon* 48: 491-528.
- Morton, J.B., Redecker, D. 2001. Two new families of Glomales, Archaeosporaceae and Paraglomaceae, with two new genera *Archaeospora* and *Paraglomus*, based on concordant molecular and morphological characters. *Mycologia* 93: 181-195.
- Muthukumar, T., Udaiyan, K. 2002. Seasonality of vesicular arbuscular mycorrhizae in sedges in a semi-arid tropical grassland. *Acta Oecologica* 23: 337–347.
- Newsham, K.K., Fitter, A.H., Watkinson, A.R. 1995. Multi-functionality and biodiversity in arbuscular mycorrhizas. *Trends in Ecology & Evolution* 10: 407-411.
- Nichols, K. 2003. Characterization of glomalin, a glycoprotein produced by arbuscular mycorrhizal fungi. PhD Dissertation, University of Maryland, College Park, Maryland.
- Nielsen, M.N., Winding, A. 2002. Microorganisms as indicators of soil health. National Environmental Reserch Institute, Denmark. *Technical Report*, n. 388.
- Novaes, R.F., Smith, T.J. 1999. *Fósforo em solo e planta sob condições tropicais*. Raleigh: Universidade Federal de Viçosa – North Carolina State University,

- Novais, C.B. 2008. Colonização fenotípica e molecular de fungos micorrízicos arbusculares mantidos em cultura. Dissertação de Mestrado, Lavras: Universidade Federal de Lavras (UFLA), p. 73.
- Nsabimana, D., Haynes, R.J., Wallis, F.M. 2004. Size, activity and catabolic diversity of the soil microbial biomass as affected by land use. *Applied Soil Ecology* 26: 81-92.
- O'Connor, P.J., Smith, S.E., Smith, F.A. 2001. Arbuscular mycorrhizal associations in the Simpson Desert. *Australian Journal Botany* 49: 493-499
- Oehl, F., Sieverding, E., Ineichen, K., Mäder, P., Dubois, D., Boller, T., Wiemken, A. 2004. Impact of long-term conventional and organic farming on the diversity of arbuscular mycorrhizal fungi. *Oecologia* 138: 574-583.
- Oehl F, de Souza FA, Sieverding E. 2008. Revision of *Scutellospora* and ription odescl five new genera and three new families in the arbuscular mycorrhiza-forming Glomeromycetes. *Mycotaxon* 106: 311-360.
- Oehl, F., Sieverding, E., Ineichen, K., Mäder, P., Wiemken, A., Boller, T. 2009. Distinct sporulation dynamics of arbuscular mycorrhizal fungal communities from different agroecosystems in long-term microcosms. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 134: 257-268.
- Oliveira, J.A., Gonçalves, P.R., Bonvicino, C.R. 2003. Mamíferos da Caatinga. In: Leal, I.R., Tabarelli, M., Silva, J.M.C. (eds.) *Ecologia e conservação da Caatinga*. Editora Universitária, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Brasil, pp. 275-333.
- Öpik, M., Moora, M., Liira, J., Kõljalg, U., Zobel, M., Sen, R. 2003. Divergent arbuscular mycorrhizal fungal communities colonize roots of *Pulsatilla* spp. in boreal Scots pine forest and grassland soils. *New Phytologist* 160: 581-593.
- Öpik, M., Moora, M., Liira, J., Zobel, M. 2006. Composition of root-colonizing arbuscular mycorrhizal fungal communities in different ecosystems around the globe. *Journal of Ecology* 94:778-790.
- Palenzuela, J.; Ferrol, N.; Boller, T.; Azcon-Aguilar, C.; Oehl, F. 2008. *Otospora bareai*, a new fungal species in the Glomeromycetes from a dolomitic shrub-land in the Natural Park of Sierra de Baza (Granada, Spain). *Mycologia* 99: 296-305.
- Parniske, M. 2000. Intracellular accommodation of microbes by plants: a common developmental program for symbiosis and disease? *Current Opinion in Plant Biology* 3: 320-328.
- Peña, M.L.P., Marques, R., Jahnel, M.C., Anjos, A. 2005. Respiração microbiana como indicador de qualidade de solo em ecossistema florestal. *Floresta* 35: 117-127.
- Pereira, S.V., Martinez, C.R., Porto, E.R., Oliveira, B.R.B., Maia, L.C. 2004. Atividade microbiana em solo do Semi-Árido sob cultivo de *Atriplex nummularia*. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 39: 757-762.

- Pezzani, F., Montana, C., Guevara, R. 2006. Associations between arbuscular mycorrhizal fungi and grasses in the successional context of a twophase mosaic in the Chihuahuan Desert. *Mycorrhiza* 16: 285-295.
- Phillips, J.M., Hayman, D. 1970. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular arbuscular fungi for rapid assessment of infection. *Transactions of the British Mycological Society* 55: 158-161.
- Picone, C. 2000. Diversity and abundance of arbuscular-mycorrhizal fungus spores in tropical forest and pasture. *Biotropica* 32: 734–750.
- Posada, D., Crandall, K. A. 1998. MODELTEST: testing the model of DNA substitution. *Bioinformatics* 14: 814-817.
- Prado, D.E. 2003. As Caatingas da América do Sul. In: Leal, R.I., Tabarelli, M., Silva, J.M.C. da. *Ecologia e Conservação da Caatinga*. Ed. Universitária, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, pp. 823.
- Primack, R.B. 1995. *A primer of conservation biology*. Sinauer Associates Inc., Massachusetts.
- Purin, S. 2005. Fungos micorrízicos arbusculares: atividade, diversidade e aspectos funcionais em sistemas de produção de maçã. Dissertação de Mestrado, Lages: Universidade do Estado de Santa Catarina – UDESC.
- Purin, S., Klauberg-Filho, O., Strümer, S.L. 2006. Mycorrhizae activity and diversity in conventional and organic apple orchards from Brazil. *Soil Biology & Biochemistry* 38: 1831-1839.
- Raich, J.W., Schlesinger, W.H. 1992. The global carbon dioxide flux in soil respiration and its relationship to vegetation and climate. *Tellus* 44B: 81-99.
- Rao, A.V., Tarafdar, J.C. 1998. Significance of micro-organisms in afforestation programmes in arid zone. *Annals of Arid Zone* 37: 337-346.
- Redecker, D., Hijri, I., Wiemken, A. 2003. Molecular identification of arbuscular mycorrhizal fungi in roots: perspectives and problems. *Folia Geobotanica* 38: 113–124.
- Redecker D., Morton J.B., Bruns T.D. 2000. Ancestral lineages of arbuscular mycorrhizal fungi (*Glomales*). *Molecular Phylogenetics Evolution* 14: 276–284.
- Redecker, D., Raab, P. 2006. Phylogeny of the Glomeromycota (arbuscular mycorrhizal fungi): recent developments and new gene markers. *Mycologia* 98: 885-895.
- Requena, N., Jeffries, P., Barea, J.M. 1996. Assessment of natural mycorrhizal potential in a desertified semiarid ecosystem. *Applied and Environmental Microbiology* 62: 842–847.
- Rice, A.H., Pyle, E.H., Saleska, S.R., Hutyra, L., Palace, M., Keller, M., de Camargo, P.B., Portilho, K., Marques, D.F., Wofsy, S.C. 2004. Carbon balance and vegetation dynamics in an old-growth Amazonian forest. *Ecological Applications* 14: 55–71.

- Rillig, M.C. 2004. Arbuscular mycorrhizae, glomalin, and soil aggregation. *Canadian Journal of Soil Science* 84: 355-363.
- Rillig, M.C., Allen, M.F. 1999. What is the role of arbuscular mycorrhizal fungi in plant-to ecosystem responses to elevated atmospheric CO₂? *Mycorrhiza* 9: 1-8.
- Rillig, M.C., Lutgen, E.R., Ramsey, P.W., Klironomos, J.N., Gannon, J.E., 2005. Microbiota accompanying different arbuscular mycorrhizal fungal isolates influence soil aggregation. *Pedobiologia* 49: 251-259.
- Rillig, M.C., Ramsey, P.W., Morris, S., Paul, E.A., 2003. Glomalin, an arbuscular-mycorrhizal fungal soil protein, responds to land-use change. *Plant and Soil* 253: 293-299.
- Rillig, M.C., Wright, S.F., Eviner, V. 2002. The role of arbuscular mycorrhizal fungi and glomalin in soil aggregation: comparing effects of five plant species. *Plant and Soil* 238: 325-333.
- Rillig, M.C., Wright, S.F., Nichols, K.A., Schmidt, W.F. e Torn, M.S. 2001. Large contribution of arbuscular mycorrhizal fungi to soil carbon pools in tropical forest soils. *Plant and Soil* 233: 167-177.
- Rodal, M.J.N., Sampaio, E.V.S.B. 2002. A vegetação do bioma caatinga In: Sampaio, E.V.S.B., Giulietti, A.M., Virgínio, J., Gamarra-Rojas, C.F.L. (org.) *Vegetação e Flora da Caatinga*. Recife: APNE/ CNIP, pp. 176.
- Rodrigues, M.T. 2003. Herpetofauna da Caatinga. In: Leal, I.R., Tabarelli, M., Silva, J.M.C. (eds.) *Ecologia e conservação da Caatinga*. Ed. Universitária, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Brasil, pp. 181-236
- Rodriguez, A., Dougall, T., Dodd, J.C., Clapp, J.P. 2001. The large subunit ribosomal RNA genes of *Entrophospora infrequens* comprise sequences related to two different glomalean families. *New Phytologist* 152: 159 – 167.
- Rogers, B.F., Tate, R.L. 2001. Temporal analysis of the soil microbial community along a toposequence in Pineland soils. *Soil Biology & Biochemistry* 33: 1389-1401.
- Roldan-Fajardo, B.E. 1994. Effect of indigenous arbuscular mycorrhizal endophytes on the development of six wild plants colonising a semi arid area in south-east Spain. *New Phytologist* 127: 115-122.
- Rosa, R.S., Menezes, N.A., Britski, H.A., Costa, W.J.E.M., Groth, F. 2003. Diversidade, padrões de distribuição e conservação dos peixes da Caatinga. In: Leal, I.R., Tabarelli, M., Silva, J.M.C. (eds.). *Ecologia e conservação da Caatinga*. Editora Universitária, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, pp. 135-180.
- Rosier, C.L., Hoyer, A.T., Rillig, M.C.. 2006. Glomalin-related soil protein: Assessment of current detection and quantification tools. *Soil Biology & Biochemistry*. 38: 2205-2211.
- Ruiz-Losano, J.M., azcón, R. 1995. Hyphal contribution to water uptake in mycorrhizal plants as affected by the fungal species and water status. *Physiologia Plantarum*, 95: 472-478.

- Sagrero, A.T. 2002. Presencia de hongos micorrízicos arbusculares en plantas silvestres de suelos salinos en el estado de Colima. Dissertação de Mestrado, Universidad de Colima - Facultad de Ciencias Biológicas y Agropecuarias, México, pp. 124
- Sampaio, E.V.S.B. 1995. Overview of the Brazilian Caatinga. In: Bullock, S.H., Mooney, H.A., Medina, E. (eds) *Seasonally dry tropical forests*. Cambridge University Press, Cambridge, pp. 35-63.
- Sancholle, M., Dalpé, Y. 1993. Taxonomic relevance of fatty acids of arbuscular mycorrhizal fungi and related species. *Mycotaxon* 49: 187-193.
- Sanders, I.R. 2002. Ecology and evolution of multigenomic arbuscular mycorrhizal fungi. *The American Naturalist* 160: 5128-5141.
- Santos, J.C., Finlay, R.D., Tehler, A. 2006. Molecular analysis of arbuscular mycorrhizal fungi colonising a semi-natural grassland along a fertilisation gradient. *New Phytologist* 172: 159-168.
- Santos, J.G.D. 2008. Riqueza de fungos micorrízicos arbusculares no solo e o crescimento inicial de espécies arbóreas nativas. Tese de Doutorado. Lavras: Universidade Federal de Lavras (UFLA), Minas Gerais. p. 80
- Schenck, N.C., Pérez, Y. 1990. *Manual for the identification of VA Mycorrhizal fungi*. 3° ed. Synergistic Publications: Gainesville. 241p.
- Schenck, N.C., Siqueira, J.O. 1987. Ecology of VA mycorrhizal fungi in temperate agroecosystems. In: Sylvia, D.M., Hung, L.L., Graham, J.H., (Ed). *Mycorrhizae in the Next Decade*. North American Conference on Mycorrhizae, Vol. 7. Proceedings. Gainesville, pp. 2-4.
- Schindler, F.V., Mercerb, E.J., James, A. 2006. Rice chemical characteristics of glomalin-related soil protein (GRSP) extracted from soils of varying organic matter content. *Soil Biology & Biochemistry* 39: 320-329.
- Schindler, F.V., Mercer, E.J., Rice, J.A. 2007. Chemical characteristics of glomalin-related soil protein (GRSP) extracted from soils of varying organic matter content. *Soil Biology and Biochemistry* 39:320–329.
- Schüssler, A., Schwarzott, D., Walker, C. 2001. A new fungal phylum, the Glomeromycota: phylogeny and evolution. *Mycological Research* 105: 1413-1421.
- Schwarzott, D., Schüssler, A. 2001. A simple and reliable method for SSU rRNA gene DNA extraction, amplification, and cloning from single AM fungal spores. *Mycorrhiza* 10: 203-207.
- Schwarzott, D., Walker, C., Schüssler, A. 2001. *Glomus*, the largest genus of the arbuscular mycorrhizal fungi (*Glomales*), is nonmonophyletic. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 21: 190-197.
- Shi, Z.Y., Feng, G., Christie, P., Li, X.L. 2006. Arbuscular mycorrhizal status of spring ephemerals in the desert ecosystem of Junggar Basin, China. *Mycorrhiza* 16: 269-275.

- Shi, Z.Y., Zhang, L.Y., Li, X.L., Feng, G., Tian, C.Y., Christie, P. 2007. Diversity of arbuscular mycorrhizal fungi associated with desert ephemerals in plant communities of Junggar Basin, northwest China. *Applied Soil Ecology* 35: 10-20.
- Sieverding, E., Oehl, F. 2006. Revision of *Entrophospora* and description of *Kuklospora* and *Intraspora*, two new genera in the arbuscular mycorrhizal Glomeromycota. *Journal of Applied Botany and Food Quality* 80: 69-81.
- Silva, G.A. 2000. 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.
- Silva, G.A., Lumini, E., Maia, L.C., Bonfante, P., Bianciotto, V. 2006. Phylogenetic analysis of Glomeromycota by partial LSU rDNA sequences. *Mycorrhiza* 16: 183-189.
- Silva, G.A., Maia, L.C., Silva, F.S.B., Lima, P.C.F. 2001. Potencial de infectividade de fungos micorrízicos arbusculares oriundos de área de caatinga nativa e degradada por mineração, no Estado da Bahia, Brasil. *Revista Brasileira de Botânica* 24: 135-143.
- Silva, G.A., Trufem S.F.B., Saggin Júnior, O.S., Maia, L.C. 2005. Arbuscular mycorrhizal fungi in a semiarid copper mining area in Brazil. *Mycorrhiza* 15: 47-53.
- Silva, F.S.B. 2006. Fase assimiótica, produção, infectividade e atividade de fungos micorrízicos arbusculares (FMA) em substratos com adubos orgânicos. Tese de Doutorado, Universidade Federal de Pernambuco, Recife-PE, 291p.
- Silva, J.M.C., Souza, M.A., Bieber, A.G.D., Carlos, C.J. 2003. Aves da Caatinga: status, uso do habitat e sensibilidade. In: Leal, I.R., Tabarelli, M. e Silva, J.M.C. (eds.). *Ecologia e conservação da Caatinga*. Ed. Universitária, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Brasil, pp. 237-273.
- Silva, J.R.C. 2000. Erosão e produtividade do solo no semi-árido. In: Oliveira, T. S., Assis Jr., R. N., Romero, R. E. Silva, J. R. C. (ed.), *Agricultura, Sustentabilidade e o Semi-Árido*. Universidade Federal do Ceará, Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, pp.170-213.
- Silva Júnior, J.P. 2004. Comunidades de fungos micorrízicos arbusculares associadas à pupunha e ao cupuaçu cultivados em sistema agroflorestal e em monocultivo na Amazônia central. Tese de Doutorado, Solos e Nutrição de Plantas, ESALQ / Universidade de São Paulo, Piracicaba – SP, pp. 95.
- Silva, L.X., Figueiredo, M.V.B., Silva, G.A., Goto, B.T., Oliveira, J.P., Burity, H.A. 2007. Fungos micorrízicos arbusculares em áreas de plantio de leucena e sábia no estado de Pernambuco. *Revista Árvore*, 31: 427-435.
- Simon, L., Lalonde, M., Bruns, T.D. 1992a. Specific amplification of 18S fungal ribosomal genes from vesicular–arbuscular endomycorrhizal fungi colonizing roots. *Applied Environmental Microbiology* 58: 291-295.
- Simon, L., Bousquet, J., Lévesque, R.C., Lalonde, M. 1993b. Origin and diversification of endomycorrhizal fungi and coincidence with vascular land plants. *Nature*, London, 363: 67-69.

- Simon, L., Lévesque, R.C., Lalonde, M. 1992b. Rapid quantitation by PCR of endomycorrhizal fungi colonising roots. *PCR Methods and Applications* 2: 76-80.
- Simon, L., Lévesque, R.C., Malonde, M. 1993a. Identification of endomycorrhizal fungi colonizing roots by fluorescent single-strand conformation polymorphism polymerase chain reaction. *Applied Environmental Microbiology*, 58: 4211-4215.
- Singh, J.S., Gupta, S.R. 1977. Plant decomposition and soil respiration in terrestrial ecosystems. *Botanical Review*, 43: 449-528.
- Siqueira, J.O. 1994. Micorrizas arbusculares. In: Araújo, R.S., Hungria, M. *Microrganismos de importância agrícola*. Brasília – DF: EMBRAPA – SPI. pp. 152-194.
- Siqueira, J.O., Carneiro, M.A.C., Curi, N., Rosado, S.C.S., Davide, A.C. 1998. Mycorrhizal colonization and mycotrophic growth of native woody species as related to successional groups in Southeastern Brazil. *Forest Ecology and Management* 107: 241-252.
- Siqueira, J.O., Nair, M.G., Hammerschmidt, R., Safir, G.R. 1991. Significance of phenolic compounds in plant-soil microbial systems. *Critical Reviews Plant Sciences* 10: 63-121.
- Smith, S.E., Read, D.J. 2008. *Mycorrhizal Symbiosis* 3th edition. Academic Press, San Diego, 815p.
- Souto, P.C., Souto, J.S., Miranda, P.J.R., Santos, R.V., Alves, A.R. 2008. Comunidade microbiana e mesofauna edáficas em solo sob caatinga no semi-árido da Paraíba. *Revista Brasileira de Botânica*, 32: 151-160.
- Sousa, C.S. 2008. Diversidade e atividade de fungos micorrízicos arbusculares em agroecossistemas do semi-árido paraibano. Tese de Doutorado. Departamento de Energia Nuclear da Universidade Federal de Pernambuco. 136p.
- Sousa, C.S., Maia, L.C., Menezes, R.S.C., Sampaio, E.V.S.B., Garrido, M.S. 2008. Fungos micorrízicos arbusculares no semi-árido nordestino. In: Menezes, R.S.C., Sampaio, E.V.S.B., Salcedo, I.H. (org.). *Fertilidade do solo e produção de biomassa no semi-árido*. Recife, PE: Editora Universitária UFPE, pp 255-280.
- Sousa, S.M.S.C. 2006. Relações entre vegetação, relevo, fertilidade do solo e matéria orgânica em bacia hidrográfica de região semi-árida. Dissertação de Mestrado, Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal da Paraíba. 64p.
- Souza, S.S., Tomasella, J., Gracia, M.G., Menezes, P.C.P., Amorin, M.C., Pinto, C.A.M. 2001. O Programa de Monitoramento Climático em Tempo Real na área de atuação da SUDENE : PROCLIMA. *Boletim da Revista Brasileira de Meteorologia*. 25(1): 15-24.
- Souza, R.G., Maia, L.C., Sales, M.F., Trufem, S.F.B. 2003. Potencial de infectividade de fungos micorrízicos arbusculares oriundos de área de caatinga nativa e degradada por mineração, no Estado da Bahia. Brasil. *Revista Brasileira de Botânica* 26: 49-60.
- Statsoft. 2001. Statistica for windows. *Tulsa* (CD-ROM).
- Steinberg, P.D., Rilling, M.C. 2003. Differential decomposition of arbuscular mycorrhizal fungal hyphal and glomalin. *Soil Biology & Biochemistry* 35: 191-194.

- Stromberger, M.E, Klose, S., Ajwa, H., Trout, T., Fennimore, S. 2005. Microbial populations and enzyme activities in soils fumigated with methyl bromide alternatives. *Soil Science Society of America Journal* 69: 1987-1999.
- Stukenbrock, E.H., Rosendahl, S. 2005. Distribution of dominant arbuscular mycorrhizal fungi among five plant species in undisturbed vegetation of a coastal grassland. *Mycorrhiza* 15: 497–503.
- Stürmer, S.L. 1999. Evolução, classificação e filogenia dos fungos micorrízicos arbusculares. In: Siqueira, J.O., Moreira, F.M.S., Lopes, A.S., Guilherme, L.R.G., Faquin, V., Furtini Neto, A.E. e Carvalho, J.G. (eds.). *Inter-relação fertilidade, biologia do solo e nutrição de plantas*. Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, Lavras, pp. 797-817.
- Stürmer, S.L., Siqueira, J.O. 2008. Diversidade de Fungos Micorrízicos Arbusculares em Ecossistemas Brasileiros. In: Moreira, F.M.S., Siqueira, J.O., Brussaard, L. (Org.). *Biodiversidade do Solo em Ecossistemas Brasileiros*. Lavras, MG: Editora UFLA, pp. 537-583.
- Stutz, J.C., Copeman, R., Martin, C.A., Morton, J.B., 2000. Patterns of species composition and distribution of arbuscular mycorrhizal fungi in arid regions of southwestern North America and Namibia, Africa. *Canadian Journal Botany* 78: 237-245.
- Stutz, J.C., Morton, J.B. 1996. Successive pot cultures reveal high species richness of arbuscular endomycorrhizal fungi in arid ecosystems. *Canadian Journal of Botany* 74: 1883–1889
- Sýkorová, Z., Ineichen, K., Wiemken, A., Redecker, D. 2007. The cultivation bias: different communities of arbuscular mycorrhizal fungi detected in roots from the field, from bait plants transplanted to the field, and from a greenhouse trap experiment. *Mycorrhiza* 18: 1–14.
- Sylvia, D.M. 1992. Quantification of external hyphae of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. In: Norris, J.R., Read, D.J. e Varma, A.K. (eds.). *Methods in Mycobiology: Techniques for the Study of Mycorrhiza*. Academic Press, New York, pp. 53-66.
- Swofford, D.L. 2002. PAUP*. Phylogenetic analysis using parsimony (*and other methods). Sinauer Associates, Sunderland MA
- Tabarelli, M., Vicente, A. 2003. Conhecimento Sobre Plantas Lenhosas da Caatinga: lacunas geográficas e ecológicas. In: Silva, J.M.C, Tabarelli, M., Fonseca, M.F., Lins, L.V. (orgs.). *Biodiversidade da Caatinga: áreas e ações prioritárias*. MMA, Brasília, DF, pp. 101-112.
- Tao, L., Zhiwei, Z. 2005. Arbuscular mycorrhizas in a hot and arid ecosystem in southwest China. *Applied Soil Ecology* 29: 135-141.
- Tarafdar, J.C., Praveen-Kumar. 1996. The role of vesicular arbuscular fungi on crop, tree and grasses grown in an arid environment. *Journal of Arid Environment* 34:197-203.
- Tejada, M., Gonzalez, J.L. 2007. Application of different organic wastes on soil properties and wheat yield. *Agronomy Journal* 99: 1597-1606.
- Tian, C., Shi, Z.Y., Chen, Z.C., Feng, G. 2006. Arbuscular Mycorrhizal Associations in the Gurbantunggut Desert. *Chinese Science Bulletin (English Edition)*, 51: 140-146.

- Tiwari, P., Adholeya, A. 2002. In vitro co-culture of two AMF isolates *Gigaspora margarita* and *Glomus intraradices* on Ri T-DNA transformed roots. *FEMS Microbiology Letters* 206: 39-43.
- Trappe, J.M. 1987. 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 Press, pp. 5-25.
- Treseder, K.K., Cross, A. 2006. Global distributions of arbuscular mycorrhizal fungi. *Ecosystems* 9: 305-316.
- Uhlmann, E., Gorke, C., Petersen, A., Oberwinkler, F. 2004. Arbuscular mycorrhizae from semiarid regions of Namibia. *Canadian Journal of Botany* 82: 645-653.
- Uhlmann, E., Görke, C., Petersen, A., Oberwinkler, F. 2006. Arbuscular mycorrhizae from arid parts of Namibia. *Journal of Arid Environments* 64: 221-237
- van Aarle, I.M., Olsson, P.A. 2003. Fungal lipid accumulation and development of mycelial structures by two arbuscular mycorrhizal fungi. *Applied Environmental Microbiology* 69: 6762-6767.
- Viana, L. T. 2002. Comparação das dinâmicas de mineralização de nitrogênio, biomassa e estrutura das comunidades microbianas do solo em áreas de Cerrado nativo e pastagem. Dissertação de Mestrado, Universidade de Brasília, 89p.
- Yachi, S., Loreau, M. 1999. Biodiversity and ecosystem productivity in a fluctuating environment: The insurance hypothesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. USA 96: 1463-1468.
- Zanella, F.C.V., Martins, C.F. 2003. Abelhas da Caatinga: biogeografia, ecologia e conservação. In: Leal, I.R., Tabarelli, M., Silva, J.M.C. (eds.). *Ecologia e conservação da Caatinga*. Editora Universitária, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Brasil. pp. 75-134
- Zatorre, N.P. 2008. Atributos biológicos do solo como indicadores de qualidade do solo. *Gaia Scientia* 2: 9-13.
- Yano-Melo, A.M., Trufem, S.F.B., Maia, L.C. 2003. Arbuscular mycorrhizal fungi in salinized and surrounded areas at the São Francisco Submedium Valley, Brazil. *Hohenaea* 30: 79-87.
- Walker, C. 1983. Taxonomic concepts in the Endogonaceae: spore wall characteristics in species descriptions. *Mycotaxon* 18: 443-455.
- Walker, C. 2008. *Ambispora* and Ambisporaceae resurrected. *Mycological Research* 112: 297 - 298.
- Wang, Y.Y., Vestberg, M., Walker, C., Hurne, T., Zhang, X., Lindström, K. 2008. Diversity and infectivity of arbuscular mycorrhizal fungi in agricultural soils of the Sicuani Province of mainland China. *Mycorrhiza* 18: 59-68.
- Whitcomb, S.A., Stutz, J.C. 2007. Assessing diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in a local community: role of sampling effort and spatial heterogeneity. *Mycorrhiza* 17: 429-437.

- White, T.J., Bruns, T., Lee, S., Taylor, J. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: Innis, M.A., Gelfand, D.H., Shinsky, J.J., White, T.J. (eds) *PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications*. Academic Press, San Diego, pp. 315-322.
- Wilson, J., Ingleby, K., Mason, P.A., Ibrahim, K., Lawson, G.J. 1992. Long-term changes in vesicular arbuscular mycorrhizal spore populations in *Terminalia* plantations in Côte d'Ivoire. In: Read, D.J., Lewis, D.H., Fitter, A.H., Alexander, I.J. (eds.). *Mycorrhizas in Ecosystems*. CAB Internacional, Cambridge, pp.268-275.
- Wright, S.F., Upadhyaya, A. 1998. A survey of soils for aggregate stability and glomalin, a glycoprotein produced by hyphae of arbuscular mycorrhizal fungi. *Plant and Soil* 198: 97-107.
- Wu, B., Hogetsu, T., Isobe, K., Ishii, R. 2007. Community structure of arbuscular mycorrhizal fungi in a primary successional volcanic desert on the southeast slope of Mount Fuji. *Mycorrhiza* 17: 495-506.

APÊNDICE

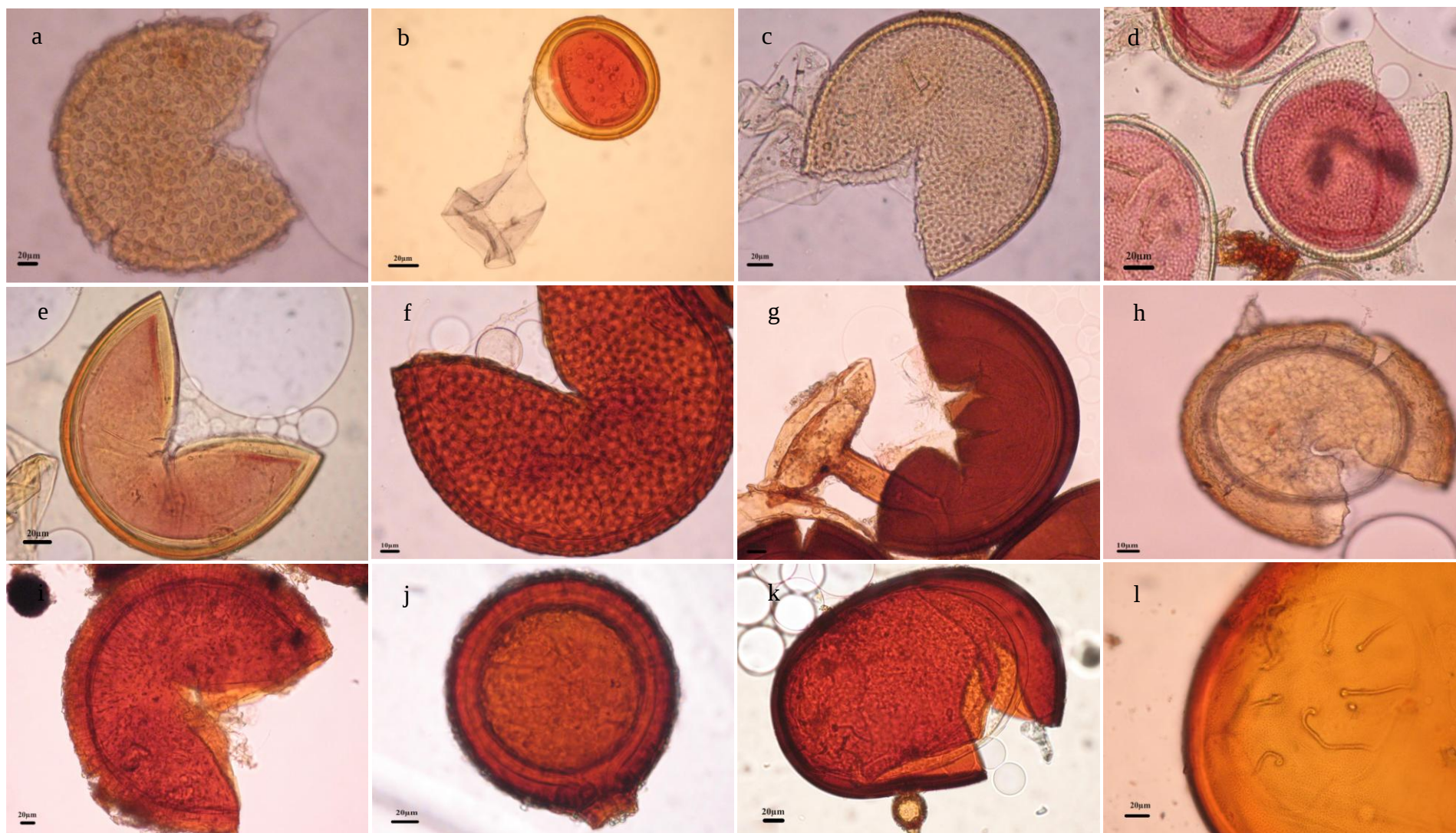


Figura 1. Fotomicrografias de esporos de FMA; a. *Acaulopora excavata*, b. *Acaulospora morrowiae* com sáculo esporífero, c. *Acaulospora rehmsii*, d. *Acaulopora scrobiculata*, e. *Acaulospora spinosa*, f. *Acaulospora foveata*, g. *Acaulospora tuberculata* com sáculo esporífero, h. *Ambispora appendicula*, i. *Glomus macrocarpum*, j. *Glomus* sp, k. *Racocetra intaornata*, l. Detalhe de placa germinativa de *Racocetra intraornata*.