

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE AGRONOMIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FITOTECNIA

OCORRÊNCIA DE FUNGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES E COLONIZAÇÃO  
RADICULAR EM POMARES E VIVEIROS DE CITROS SOB MANEJO ORGÂNICO  
E CONVENCIONAL

Sandro Souza Focchi  
Engenheiro Agrônomo (UFRGS)

Dissertação apresentada como um dos  
requisitos ao Grau de  
Mestre em Fitotecnia  
Área de Concentração Fitossanidade

Porto Alegre (RS), Brasil  
Fevereiro de 2003

## **OCORRÊNCIA DE FUNGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES E COLONIZAÇÃO RADICULAR EM POMARES E VIVEIROS DE CITROS SOB MANEJO ORGÂNICO E CONVENCIONAL<sup>1</sup>**

Autor: Sandro Souza Focchi  
Orientador: Fábio Kessler Dal Soglio  
Co-orientador: Paulo Vitor Dutra de Souza

### *RESUMO*

Os Fungos Micorrízicos Arbusculares (FMAs) desempenham importante papel nos agroecossistemas. Quando bem manejados podem auxiliar na manutenção da qualidade do solo bem como promover melhor desenvolvimento e saúde aos vegetais. Em função disso os FMAs apresentam um grande potencial biotecnológico, mas para que seu emprego seja bem sucedido é necessário conhecermos como esses organismos respondem às práticas agrícolas. Com o objetivo de verificar a interação das comunidades de FMAs com diferentes sistemas produtivos, efetuou-se um levantamento em pomares e viveiros de citros com manejo convencional e orgânico no município de Montenegro/RS. O estudo foi realizado nos meses de agosto/2001, outubro/2001, março/2002 e agosto/2002. Foram coletadas um total de 88 unidades amostrais. Avaliou-se a colonização radicular, as estruturas presentes nas raízes e a ocorrência de espécies de FMAs, bem como, as características químicas do solo adjacente às raízes de citros. As comunidades de FMAs não diferiram em relação aos tipos de manejo, apesar das alterações químicas determinadas pela aplicações de adubos orgânicos, que elevou os valores de pH, MO, Ca e Mg. Porém o tempo de implantação e as regiões onde se localizaram os pomares e viveiros influenciaram as comunidades de FMAs. Isso se deve principalmente a estabilidade dos pomares mais antigos e as características evolutivas de cada local. Entre os elementos do solo a umidade afetou consideravelmente a micorrização. Os pomares localizados na várzea apresentaram baixos índices de estruturas e colonização por FMAs. Os demais pomares apresentaram altos índices de estruturas e colonização, independente dos teores de P que foram elevados em todos os pomares e viveiros.

---

<sup>1</sup> Dissertação de Mestrado em Fitotecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil (102 p.) Fevereiro, 2003

## THE ARBUSCULAR MYCORRHIZAL FUNGI OCCURRENCE AND THE MYCORRHIZAL COLONIZATION IN ORCHARDS AND CITRUS NURCERIES UNDER ORGANIC E CONVENTIONAL MANAGEMENT<sup>1</sup>

Author: Sandro Souza Focchi  
Advisor: Fábio Kessler Dal Soglio  
Co-advisor: Paulo Vitor Dutra de Souza

### ABSTRACT

The Arbuscular Mycorrhizal Fungi (AM fungi) play an important role in agroecosystems. When well handled they can help with the maintenance of the soil's quality and promote a better development and health to the vegetables. Because of these characteristics the AM fungi present a great biologic potential. But for its use to be successful it is necessary to know how these organisms respond to the agricultural practice. With the objective of verifying the interactivity of the AM fungi communities with different productive systems, a research was made in orchards and citrus nurseries under organic and conventional management in Montenegro/RS. The study was executed from August/2001 to October/2001 and from March/2002 to August/2002. There were collected a total of 88 sample units. The root colonization, the structures present in the roots and the occurrence of AM fungi species were studied. The chemical characteristics of the rhizosphere soil were studied as well. The AM fungi communities did not change related to the different types of management despite to the chemical alterations caused by different applications of organic fertilizer that elevated the pH, MO, Ca and Mg values. What influenced the AM fungi communities were the implementation time and the regions where the orchards and the nurseries were located at. This is true mainly because of the stability of the older orchards and the evolutionary characteristics of each local. Among the soil's characteristics, the humidity affected considerably the root colonization and the orchards located in the meadow presented lower rates of structures and mycorrhizal colonization. The remaining orchards and nurseries presented high levels of structures and mycorrhizal colonization, even though the P levels were in all of the orchards and nurseries.

---

Master of Science dissertation in Agronomy, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazil. (102 p.) February, 2003.

## SUMÁRIO

<b>1 – INTRODUÇÃO.....</b>	<b>01</b>
<b>2 – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....</b>	<b>03</b>
2.1 – Micorrizas.....	03
2.2 – Formação e morfologia dos FMAs.....	04
2.3 – Aspectos ecológicos dos FMAs.....	07
2.3.1 – Interações com outros organismos do solo.....	07
2.3.2 – Interações com os vegetais.....	10
2.3.3 – Influência do preparo do solo.....	12
2.3.4 – Efeito dos pesticidas.....	13
2.3.5 – Efeito da adição de fertilizantes.....	13
2.4 – Considerações sobre o estudo da ocorrência, diversidade e abundância dos FMAs.....	15
<b>3 – MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>21</b>
3.1 – Localização do Levantamento.....	21
3.2 – Caracterização das áreas.....	21
3.2.1 – Pomares adultos.....	22
3.2.2 – Pomares Jovens.....	25
3.2.3 – Viveiros.....	27
3.2.4 – Mata nativa.....	29
3.3 – Composição das amostras de raízes e solo.....	29
3.4 – Preparação das amostras de solo e raízes.....	32
3.4.1 – Extração e quantificação de propágulos de FMAs.....	33
3.4.2 – Quantificação de estruturas de FMAs em segmentos de raízes.....	34
3.4.3 – Caracterização química do solo.....	36
3.5 – Análise estatística.....	38
<b>4 – RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>41</b>
4.1 – Correlação entre os descritores das comunidades de FMAs.....	41
4.2 – Ocorrência de gêneros e espécies de FMAs em pomares e viveiros de citros.....	57
4.3 – Correlação entre a ocorrência de FMAs e as características químicas do solo.....	60
4.4 – Ocorrência de espécies de FMAs nos diferentes ecossistemas....	63
4.5 – Porcentagem de colonização e quantificação de estruturas de FMAs em segmentos de raízes de citros.....	68

<b>5 – CONCLUSÕES.....</b>	<b>78</b>
<b>6 – BIBLIOGRAFIA.....</b>	<b>80</b>
<b>7 – APÊNDICES.....</b>	<b>91</b>

## RELAÇÃO DE TABELAS

### PÁGINA

01. Tipos morfológicos (morfotipos <sup>1</sup> ) de esporos de FMAs e espécies identificadas em cada morfotipo de 64 unidades amostrais pertencentes a pomares, viveiros e mata nativa localizadas em Montenegro/RS. As coletas foram realizadas nos meses de agosto/2001, outubro/2001, março/2002 e agosto/2002.....	43
02. Grupos de esporos definidos pelos gêneros contidos em cada morfotipo observado.....	45
03. Teste de Mantel entre matrizes de semelhança <sup>1</sup> de 36 unidades amostrais coletadas no mês de março/2002, pertencentes a pomares, viveiros e mata nativa localizados no município de Montenegro/RS. As unidades amostrais foram descritas por morfotipos, presença e ausência de espécies e grupos de gêneros de FMAs.....	48
04. Síntese das Análises de Variância Multivariada com Teste de Aleatorização de 36 unidades amostrais, pertencentes a pomares, viveiros e mata nativa, descritas por ausência e presença de espécies, morfotipos e grupo de gêneros de FMAs.....	54
05. Ocorrência relativa de espécies de FMAs em 52 unidades amostrais coletadas durante os meses de agosto/2001, outubro/2001, março/2002 e agosto/2002.....	58
06. Características químicas do solo de 36 unidades amostrais pertencentes a mata nativa e a pomares e viveiros de citros com manejo convencional e orgânico. As unidades amostrais foram coletadas no mês de março/2002.....	60
07. Correlação entre a ocorrência de espécies de FMAs e as características químicas do solo de 36 unidades amostrais pertencentes a mata nativa e a agroecossistemas cultivados com citros no mês de março/2002.....	62
08. Riqueza de espécies de FMAs de 36 unidades amostrais pertencentes a pomares, viveiros e mata nativa. As coletas foram realizadas no mês de março/2002.....	67

- 09 Porcentagem de colonização radicular de FMAs em segmentos de raízes de citros de 84 unidades amostrais pertencentes a pomares e viveiros com manejo convencional e orgânico. As unidades amostrais foram coletadas nos meses de março/2002 e agosto/2002..... 69
10. Índices de presença de estruturas de FMAs em segmentos de raízes de citros de 84 unidades amostrais pertencentes a pomares e viveiros com manejo convencional e orgânico..... 70
11. Correlação entre os índices de estruturas de FMAs presentes em segmentos de raízes de citros e a umidade do solo de 64 unidades amostrais pertencentes a pomares adultos com manejo convencional e orgânico. Amostras coletadas nos meses de março/2002 e agosto/2002..... 71
12. Características químicas do solo de 64 unidades amostrais pertencentes a pomares e viveiros de citros com manejo convencional e orgânico. As unidades amostrais foram coletadas nos meses de março/2002 e agosto/2002..... 73
13. Correlação entre os índices de estruturas de FMAs e as características químicas do solo de 48 unidades amostrais pertencentes a pomares e viveiros de citros com manejo convencional e orgânico. As unidades amostrais foram coletadas nos meses de março/2002 e agosto/2002..... 75

## RELAÇÃO DE FIGURAS

### PÁGINA

01. Diagrama de dispersão obtido por ordenação de 36 unidades amostrais pertencentes a pomares, viveiros e mata nativa descritas por 24 espécies de FMA. Os eixos foram obtidos por análise de componentes principais a partir da correlação entre variáveis. As unidades amostrais estão identificadas de acordo com o ecossistema e a região de origem..... 50
02. Diagrama de dispersão obtido por ordenação de 36 unidades amostrais pertencentes a pomares, viveiros e mata nativa descritas por 47 morfotipos de FMAs. Os eixos foram obtidos por análise de componentes principais a partir da correlação entre variáveis. As unidades amostrais estão identificadas de acordo com o ecossistema e a região de origem..... 50
03. Diagrama de dispersão obtido por ordenação de 36 unidades amostrais pertencentes a pomares, viveiros e mata nativa descritas por 9 grupos de gêneros de FMAs. Os eixos foram obtidos por análise de componentes principais a partir da correlação entre variáveis. As unidades amostrais estão identificadas de acordo com o ecossistema e a região de origem..... 51
04. Ocorrência de espécies de FMAs no ambiente natural e em agroecossistemas com manejo convencional e orgânico..... 65



## 1 - INTRODUÇÃO

O padrão agrícola difundido a partir da década de 70 vem sendo questionado nos últimos anos, principalmente em relação à pressão que tem provocado sobre os recursos naturais renováveis e não renováveis, tendo como causas a perda da biodiversidade, o esgotamento dos solos agrícolas e a diminuição das reservas de energia.

Desse contexto, surge a noção de Agricultura Sustentável que devido à sua abrangência abriga uma amplitude de definições, compreendendo aquelas que defendem o modelo produtivo atual, desde que praticado com maior eficiência e racionalidade, bem como aquelas que defendem maiores mudanças no processo produtivo, visando promover transformações estruturais na economia, na sociedade e nas relações com os recursos naturais (Ehlers, 1999).

Apesar dos interesses envolvidos, existe convergência quanto aos objetivos gerais da sustentabilidade, como por exemplo: a manutenção da produtividade agrícola e da qualidade de vida e a conservação do meio ambiente e dos recursos naturais. Segundo Altieri (1986) e Gliessman (2000), estes objetivos só serão alcançados com a profunda reformulação das tecnologias agrícolas. Portanto o manejo eficiente dos agroecossistemas será decisivo para a conservação e viabilidade da biosfera, assim como a adoção de princípios ecológicos para o desenvolvimento dos sistemas agrícolas será a base da agricultura sustentável (Altieri, 1986; Kennedy & Smith, 1995).

Um dos princípios ecológicos a ser adotado na agricultura é a manutenção da biodiversidade, chave para a redução da entropia e para o aumento da estabilidade nos agro e ecossistemas.

Entre os componentes da biodiversidade estão os microrganismos que habitam o solo, os quais desempenham importante papel nos ciclos de nutrientes. Os Fungos Micorrízicos Arbusculares (FMAs) são fundamentais para a manutenção da produtividade e saúde dos vegetais. Também estão incluídos entre os principais componentes da biomassa do solo, distribuindo energia, na forma de substâncias orgânicas, para uma infinidade de organismos como outros fungos, bactérias, protozoários, nematóides, colêmbolos e pequenos roedores, que dependem destas substâncias para o seu desenvolvimento.

Para que os FMAs sejam potencialmente utilizados, é necessário conhecer sua variabilidade genética, funcional e sua distribuição, bem como identificar as mudanças ocasionadas pelas práticas agrícolas sobre a diversidade destes organismos.

Com o objetivo de avaliar o impacto de diferentes práticas agrícolas sobre as comunidades de FMAs, bem como verificar a especificidade ambiental e atividade das espécies destes organismos, foi realizado um levantamento no município de Montenegro/RS, no qual foram estudados diferentes pomares e viveiros de citros conduzidos com manejo orgânico e convencional.

## 2 - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 – Micorrizas

Estudos sobre micorrizas têm demandado muita atenção devido a sua importância para os ecossistemas. Micorrizas são associações simbióticas entre as raízes das plantas e certos fungos do solo. As micorrizas estão presentes na terra há aproximadamente 400 milhões de anos. Estudos com fósseis têm demonstrado essa associação (Thorton, 1997). A co-evolução determinou uma íntima interação entre as plantas e estes fungos do solo, chamada de mutualismo (Trevors, 1997; Thorton,1997).

Maior atenção tem sido dada a dois grandes grupos de micorrizas, as endomicorrizas e as ectomicorrizas. As endomicorrizas são associações que ocorrem com aproximadamente 97% das plantas vasculares (Siqueira, 1988) e predominam em pradarias e florestas tropicais ricas em espécies. As ectomicorrizas ocorrem com o restante das plantas vasculares, predominando em florestas onde uma ou poucas espécies de árvores são dominantes (Allen et al., 1995).

Nesta associação, os fungos micorrízicos aumentam a absorção de nutrientes poucos móveis no solo, principalmente em ambientes com baixa fertilidade (Antunes & Cardoso, 1990; Bolan, 1991; Marschener & Dell, 1994), aumentam a tolerância a

doenças radiculares (Newsham et al., 1995; Chu et al., 1997; Oliveira et al., 1999), melhoraram a estrutura do solo (Munyanziza et al., 1996; Douds & Millner 1999) e aumentam a diversidade e produtividade vegetal (Francis & Read, 1994; Van der Heijden, 1998). Os fungos micorrízicos funcionam como uma ampliação do sistema radicular das plantas, aumentando o volume de solo explorado, dando mais estabilidade ao sistema.

Os Fungos Micorrízicos Arbusculares (FMAs), que formam as associações endomicorrízicas, são os fungos mais importantes para as culturas de regiões tropicais (Hamel, 1996). As culturas podem ser divididas quanto à capacidade de formarem micorrizas e se beneficiarem da associação, como sendo micorrízicas obrigatórias, facultativas e não micorrízicas. As micorrízicas obrigatórias apresentam crescimento reduzido na ausência dos FMAs, já as facultativas só se beneficiam da associação em condições muito estressantes ao crescimento e as não micorrízicas incluem as plantas que não formam micorrizas. Entre as obrigatórias estão os citros, a mandioca e as leguminosas tropicais (Siqueira, 1988). Os FMAs são simbioses obrigatórios, de ocorrência generalizada e não possuem hospedeiros específicos.

Por desempenharem papel fundamental para a manutenção da produtividade e saúde dos vegetais, os FMAs apresentam um grande potencial biotecnológico. O manejo apropriado dessa simbiose pode reduzir a utilização de fertilizantes e pesticidas químicos, chave para a produção sustentável (Azcón & Barea, 1997).

## **2.2 – Formação e morfologia dos FMAs**

A colonização radicular pelos FMAs desenvolve-se a partir de hifas que originam-se de propágulos no solo. Esporos, fragmentos de raízes colonizadas e

plantas infectadas por FMAs são as principais fontes de inóculos desses fungos (Ascón & Barea, 1997). As hifas infectivas são estimuladas por componentes bióticos e abióticos. Os exudados radiculares e as condições físico-químicas do solo na rizosfera podem favorecer o desenvolvimento das hifas, aumentando as chances de contato com as raízes (Siqueira & Franco, 1988).

O contato das hifas com a superfície das raízes desencadeia a formação de um apressório, que facilita a fixação e penetração do fungo em seu hospedeiro. Pelo apressório formado sobre as células da epiderme, a hifa desenvolve-se passando diretamente pelos espaços intercelulares. No interior da raiz, na camada cortical, as hifas espalham-se entre e dentro das células. Uma vez alcançado o interior do córtex, elas crescerão dentro das células e, por meio de repetidas ramificações dicotômicas formarão pequenas estruturas semelhantes a uma árvore, chamadas de arbúsculos, que possuem um curto tempo de vida, por volta de 4-14 dias. Os arbúsculos desenvolvem-se por invaginação ocupando praticamente todo o espaço celular. Este processo não rompe o plasmalema o que aumenta a superfície de contato da célula com o arbúsculo. Muitos gêneros de FMAs formam também vesículas ovais ou esféricas, que têm a função de armazenar principalmente lipídios. Os FMAs formam muitos esporos sobre o micélio extra radicular (Siqueira & Franco, 1988; Azcón & Barea, 1997).

Com a colonização interna se desenvolvendo, a hifa extra radicular se ramifica, e cresce ao longo da superfície da raiz, formando mais pontos de penetração (Azcón & Barea, 1997). Elas também crescem para dentro do solo, ao redor da raiz, formando uma extensa rede de micélio que interagem com as partículas do solo (Wilkinson et al., 1998). Dados registrados por Smith &

Gianimazzi-Pearson (1988) indicam que o comprimento das hifas no solo podem alcançar em média 1m/cm de raiz, mas valores superiores a 10-14m/cm de raiz têm sido encontrados. Essa rede micelial pode estender-se por vários centímetros para fora da superfície da raiz, fazendo uma ponte sobre a zona de baixa concentração de nutrientes, adjacente às raízes, para absorver íons pouco móveis no solo, principalmente P, Zn e Cu.

A penetração intracelular, como no caso dos arbúsculos, se dá por invaginação, deixando o plasmalema da célula hospedeira intacto. A formação dos arbúsculos representa uma grande superfície de contato celular entre os simbiontes. Isso facilita a troca de metabólitos entre o hospedeiro e o fungo. De fato, os arbúsculos são os principais sítios de troca de nutrientes entre o fungo e a planta. Os fungos repassam às plantas nutrientes minerais e as plantas repassam aos fungos carboidratos (Siqueira & Franco, 1988; Abbott & Robson, 1991).

Algumas características morfológicas e fisiológicas do sistema radicular das plantas, principalmente as que melhoram a capacidade de adquirir nutrientes, favorecem ou não a micorrização. Em geral, plantas com sistema radicular amplo e com grande área superficial possuem mais habilidade para absorver nutrientes pouco móveis no solo. Por isso, são menos dependentes da associação micorrízica. Por outro lado, plantas com baixas ramificações, baixo número de raízes laterais e pouco e/ou pequenos pêlos radiculares, são mais dependentes da associação micorrízica para absorver nutrientes minerais (Brundrett, 1991).

A arquitetura radicular não é a única característica importante para a dependência micorrízica. O crescimento e a plasticidade do sistema radicular, que estabelecem a habilidade da planta em responder a mudanças desfavoráveis nas

condições do solo, podem, em maior ou menor extensão, determinar a dependência da associação micorrízica para superar condições adversas (Azcón & Barea, 1997).

### **2.3 – Aspectos ecológicos dos FMAs**

Os FMAs estão amplamente distribuídos nos ecossistemas, desempenhando papel fundamental para o ciclo de nutrientes. Eles interagem com a maioria dos organismos presentes no solo, desde bactérias, outros fungos, nematóides e até mamíferos. Os FMAs são afetados por mudanças nas condições ambientais, provocadas naturalmente ou pelo homem. Nos agroecossistemas as práticas agrícolas podem alterar a ocorrência de espécies de FMAs e as taxas de colonização radicular nas culturas, podendo a associação tornar-se benéfica ou prejudicial aos vegetais (Hamel, 1996; Douds & Millner, 1999).

#### **2.3.1 - Interações com outros organismos do solo**

Os organismos do solo influenciam tanto o desenvolvimento dos FMAs quanto o estabelecimento da simbiose. As micorrizas interagem tanto na rizosfera como por meio de seus micélios com um grande número de organismos, que geralmente são bactérias, outros fungos, protozoários, nematóides, artrópodos e pequenos roedores. Essa interação pode ser benéfica ou prejudicial (Fitter & Garbaye, 1994; Hodge, 2000). O efeito prejudicial seria a redução da germinação de esporos (Clavet et al., 1992) e o decréscimo na colonização das raízes (Meyer, 1986). O benéfico seria o contrário, aumento na germinação de esporos, no comprimento do micélio e na colonização das raízes (Clavet et al., 1992; Azcon et al., 1987; Meyer et al., 1986). Clavet et al. (1992) em um ensaio *in vitro* encontraram efeito negativo dos fungos

saprófitas *Aspergillus fumigatus* Fresen. e *Penicillium decumbens* Thon. sobre a germinação e produção de esporos vegetativos do fungo micorrízico *Glomus mosseae* (Nicol & Gerd.) Gerd. & Trappe. Já os saprófitas *Trichoderma aureoviride* Rifai e *T. harzianum* Rifai promoveram maior germinação e produção de esporos vegetativos. Azcón (1987), trabalhando também *in vitro* com *G. mosseae*, verificou o aumento do crescimento micelial com a presença de rizobactérias promotoras de crescimento de plantas (RPCP), que incluem as *Pseudomonas* fluorescentes e os bacilos esporulantes.

A produção de material mucilaginoso e a exudação de compostos orgânicos solúveis pelas células radiculares assumem papel importante na colonização e manutenção do crescimento microbiano na rizosfera (Sorensen, 1997). O ambiente formado por estas substâncias proporciona o surgimento de um microecossistema dinâmico e especializado onde ocorre o crescimento abundante e diversificado de microrganismos (Siqueira, 1988). Os FMAs na sua fase pré-simbiótica, que consiste da germinação até a penetração e colonização radicular, competem com um grande número de bactérias e fungos. Muitas bactérias favorecem o estabelecimento da simbiose. Meyer et al. (1986) comprovaram o aumento da colonização das raízes de trevo subterrâneo pelos FMAs com a presença de RPCP.

Os segmentos jovens das raízes, constituídos principalmente por células epidérmicas e pêlos radiculares, estimulam principalmente o desenvolvimento de bactérias que necessitam das moléculas orgânicas simples, exudadas por estas células para seu desenvolvimento. As principais bactérias que colonizam essas células pertencem aos grupos *Pseudomonas sp*, *Azospirillum sp*, *Rizhobium sp* e *Agrobacterium sp*. Essas bactérias apresentam efeito sinérgico com os FMAs. Os



segmentos mais maduros das raízes, constituídos pela camada cortical, possuem muitas células mortas e rompidas, formando assim um nicho ecológico preferido por organismos que utilizam moléculas orgânicas mais complexas e que se favorecem das pequenas aberturas formadas na epiderme, como muitos saprófitas e patógenos, que possuem efeito deletério aos FMAs. Entre os fungos patogênicos, estão os gêneros *Pythium*, *Fusarium* e *Rhizoctonia sp.* (Sorensen, 1997). Os fungos micorrízicos e os fungos saprófitas *Trichoderma sp.* possuem a capacidade de ocupar rapidamente o nicho ecológico formado a partir do amadurecimento das raízes e produzem antibióticos que protegem a raiz contra a invasão de patógenos (Sorensen, 1997).

Camel et al. (1991) observaram que o micélio do FMA pode estender-se por mais de 9 cm para fora da raiz. Devido a esta característica e ao acesso direto ao carbono fixado pelas plantas, os FMA se tornam um dos maiores distribuidores de carbono e energia para o solo, sendo usado por diversos organismos do solo (Jakobsen e Rosendahl, 1990; Finlay e Söderström, 1992; citados por Hamel, 1996). Após o estabelecimento da simbiose entre o FMA e a planta, a exudação radicular pode ser modificada tanto pela utilização de fotoassimilados pelo fungo como pela exudação da hifa. Meyer e Lindemam (1986), trabalhando com a rizosfera de plantas de trevo subterrâneo e milho inoculadas ou não com os FMAs, não encontraram diferença no número total de bactérias e actinomicetos isolados, mas encontraram diferenças nos grupos funcionais destes organismos. Schreiner (1997) também observou diferença nos grupos de bactérias. As raízes de soja inoculadas com três espécies de FMAs apresentaram diferentes grupos de bactérias em função da espécie de FMA presente. Olsson et al.(1996) não encontrou mudança na

composição ou atividade da comunidade de bactérias em função da presença de FMA. Fillion et al. (1999), examinando o efeito do exudato da hifosfera de *Glomus intraradices* Schenk & Smith sobre alguns microrganismos da rizosfera, encontraram um estímulo à germinação dos conídios de *T. harzianum* e ao crescimento de *Pseudomonas Chlororaphis* (Guignard & Sauvagenau) Bergey, uma redução na germinação dos conídios de *Fusarium oxysporum* f.sp. *chysanthemii* Littrell, Armstr & Armstr e a inalteração no crescimento de *Clavibacter michiganensis* Mc Culloch. Já Green et al. (1999) examinando a mesma interação entre *G. intraradices* e *T. harzianum*, encontraram redução da população de *T. harzianum* somente com a presença de um substrato orgânico. Sem este, a população de *T. harzianum* não sofreu efeito do micélio do FMA. Portanto o tipo de FMA presente pode influenciar certos microrganismos, como também a disponibilidade de nutrientes nestes ambientes pode influenciar a interação entre os FMAs e os outros microrganismos da rizosfera (Hodge, 2000).

### **2.3.2 – Interações com os vegetais**

Apesar de os FMAs não possuírem hospedeiro específico, o ambiente onde eles ocorrem seleciona determinadas espécies em função da presença de vegetais e da disponibilidade de nutrientes. Johnson et al.(1992) demonstraram que a espécie hospedeira e as condições de fertilidade do solo influenciam a comunidade de FMAs, sendo ambos os fatores de mesma importância. Das 12 espécies de FMAs mais abundantes no estudo, apenas uma não demonstrou correlação significativa com relação à espécie hospedeira e o tipo de solo. As gramíneas, utilizadas no estudo, proporcionaram o desenvolvimento de comunidades diferentes de FMAs, tanto pelo

ambiente interno da raiz (fotossintatos) como pela influência sobre o solo (exudatos). Devido à afinidade entre as espécies de FMAs e as plantas hospedeiras, as comunidades de FMAs podem potencialmente influenciar a comunidade de plantas. Heijden et al. (1998) demonstraram que a composição e a diversidade de espécies de FMAs tem o potencial de determinar a biodiversidade e a produtividade de plantas no ecossistema natural. Das espécies de plantas estudadas, *Carex flacca* Scherb. não demonstrou interação com os FMAs, produzindo mais biomassa sem a presença dos mesmos. Já a planta dominante, *Bromus erectus* Huds., não sofreu influência na produção de biomassa em função da presença ou não dos FMAs. As demais espécies de plantas responderam diferentemente em função das espécies de micorrizas. Várias plantas tiveram praticamente a mesma produção de biomassa quando todas as espécies de FMAs estavam presentes, em relação ao único FMA que induziu maior resposta à planta. A biomassa total não diferiu significativamente em função da presença dos FMAs, mas a composição da comunidade de plantas sim, com destaque para a alteração na biomassa de espécies subdominantes. Portanto a biodiversidade de plantas e produtividade do ecossistema aumenta com o maior número de espécies de FMAs, em função do efeito benéfico de cada espécie de FMA (Heijden et al., 1998).

A associação entre as espécies de plantas e FMAs é bastante complexa. As micorrizas podem servir de canais de ligação entre plantas de mesma espécie e de outras espécies, possuindo potencial de transportar substâncias químicas como compostos de carbono, fósforo, nitrogênio, entre outros (Hamel et al., 1991; Francis e Read, 1994). Essa rede de conexões serve, provavelmente, como primeira fonte de inóculo para a colonização das raízes (Hodge, 2000). Desse modo, esses micélios

assumem um importante papel nos ambientes naturais e nos agroecossistemas, distribuindo os recursos dentro da comunidade, diminuindo a dominância de espécies agressivas, promovendo a coexistência e aumentando assim a biodiversidade (Read et al., 1997). Esse mecanismo de ajuda mútua considerado uma forma de “altruísmo recíproco”, onde as espécies destinam parte de seus recursos a fim de garantir a sobrevivência de outras espécies, mantém a estabilidade nos ecossistemas (Axelrod & Hamilton, 1981; Wilkinson et al., 1998).

### **2.3.3 – Influência do preparo do solo**

Vários trabalhos têm mostrado que a redução no preparo do solo aumenta o número de propágulos e mantém a rede de micélios dos FMAs (Munyanziza et al., 1997; Hamel, 1996). Em função disso, a velocidade e a taxa de colonização radicular das culturas aumentam, melhorando, em muitos casos, o estabelecimento da cultura e a sua produtividade. Plantas de milho semeadas em solo com plantio direto ou cultivo mínimo apresentaram maior absorção de P e colonização radicular nos estágios iniciais de desenvolvimento do que plantas cultivadas em áreas lavradas (Douds & Millner, 1999).

Douds et al. (1995) sugerem que o preparo do solo pode modificar as comunidades de FMAs, exercendo um efeito seletivo sobre suas espécies. As espécies mais resistentes às mudanças causadas nas características do solo vão proliferar, mas elas podem não ser as mais eficientes para a simbiose.

#### **2.3.4 - Efeito dos pesticidas**

Os FMAs, assim como outros organismos do solo, são geralmente afetados por pesticidas. A infecção radicular e o desenvolvimento dos FMAs podem ser inibidos, estimulados ou se conservar indiferentes à presença dos pesticidas. Os fungicidas sistêmicos, como thiobendazol, benomyl e triadimefon, são comprovadamente tóxicos aos FMAs. Captan não possui efeito sobre estes fungos. Nematicidas geralmente não exibem ou exibem pouco efeito sobre os FMAs. Alguns nematicidas, como os 1,2-dibromo-3-cloropropano (DBCP), podem até mesmo estimular a infecção radicular. Esta resposta pode ser causada pelo controle de organismos competidores e predadores, além de possível estimulação à exudação, pelo hospedeiro, de compostos benéficos aos FMAs (Hamel, 1996; Munyanziza et al., 1997).

Segundo Hamel (1996), os herbicidas paraquat e simazine não apresentam efeito tóxico aos FMAs, mas o controle das plantas espontâneas durante muito tempo reduz a diversidade de espécies hospedeiras. Por causa da natureza biotrófica dos FMAs, a redução da diversidade de hospedeiros pode eliminar, reduzir a capacidade infectiva ou até mesmo eliminar fungos benéficos para as culturas.

#### **2.3.5 - Efeito da adição de fertilizantes**

O efeito da adição de fertilizantes sobre os FMAs varia em função da quantidade aplicada no solo. A aplicação de altas doses de P solúvel tende a reduzir consideravelmente a colonização radicular, a diversidade de FMAs, a produção de esporos e a resposta das plantas a inoculantes. Entretanto muitas espécies de FMAs são hábeis em colonizar raízes sob altas aplicações de P (Abbott & Robson, 1991). É

possível que continuadas aplicações de P possam, eventualmente, levar ao desenvolvimento de populações de FMAs hábeis em colonizar raízes de plantas providas com quantidades suficientes de P. Solos bem fertilizados podem selecionar espécies de micorrizas que não sejam as mais eficientes para a simbiose (Johnson, 1993).

A aplicação pesada de N também prejudica os FMAs, sendo que o nitrato tem se mostrado mais prejudicial do que a forma amoniacal. Ao contrário, níveis altos de potássio têm favorecido a colonização radicular por FMAs (Abbott & Robson, 1991).

A redução da colonização radicular em solos bem fertilizados não significa que os FMAs tenham sua importância minimizada. As melhorias observadas nas plantas envolvidas na simbiose não dependem somente da fertilidade do solo, mas também do nível de dependência micorrízica da espécie de planta envolvida. Os benefícios dos FMAs não se limitam ao suprimento de P, pois promovem também a proteção contra patógenos do sistema radicular (Hamel, 1996).

As práticas agrícolas podem maximizar os benefícios às comunidades autóctones de FMAs. Sistemas produtivos com baixa utilização de energia fóssil são reconhecidos por manter a sustentabilidade agrícola, proporcionando uma maior colonização radicular, através do aumento da população e da seleção de espécies de FMAs, além de manter um elevado nível de esporos no solo, se comparados aos sistemas convencionais. Estes sistemas são caracterizados pela redução do preparo do solo, aumento na diversidade de culturas, manutenção das plantas de cobertura e redução de insumos químicos (fertilizantes e pesticidas) (Hamel, 1996).

## **2.4 - Considerações sobre o estudo da ocorrência, diversidade e dinâmica dos FMAs**

O estudo da ocorrência, da diversidade e da dinâmica populacional dos FMAs tem sido um desafio, dadas as dificuldades de identificação desses fungos, tanto livres no solo como no interior de raízes (Colozzi & Cardoso, 2000).

Os inóculos dos FMAs apresentam-se de três formas: esporos no solo, hifas no solo e no interior de raízes. A identificação dos FMAs tem se baseado tradicionalmente na morfologia dos esporos, principalmente pelo tamanho, cor, posição da hifa terminal, presença de apêndices e características da parede (Abbott & Robson, 1991; Douds & Millner, 1999; Redecker, 2002).

A identificação de esporos de FMAs coletados diretamente do campo não é fácil e requer muita familiaridade com as espécies que ocorrem no local (Abbott & Robson, 1991; Douds & Millner, 1999). A identificação pode ser dificultada se: 1) poucos esporos estão presentes; 2) as espécies não produzem esporos; 3) os esporos presentes estão em diferentes estágios de seu desenvolvimento; 4) existem misturas de espécies difíceis de distinguir; 5) os esporos pertencem a espécies não descritas; 6) os esporos estão parasitados ou com as paredes degradadas (Abbott & Robson, 1991; Douds & Millner, 1999).

Estes problemas podem ser solucionados com a utilização de culturas armadilhas. Existem várias formas de se estabelecer as culturas-armadilhas. Pode-se cultivar plantas, geralmente gramíneas ou leguminosas, em vasos na casa de vegetação em mistura 1:1 de solo do campo e areia esterilizada. Cultivar plantas retiradas do campo em solo livre de FMAs para encorajar a esporulação de espécies que colonizam suas raízes. Raízes coletadas no campo também podem ser

utilizadas em culturas armadilhas, por conter muitas espécies de FMAs (Douds & Millner, 1999). Dessa forma, espécies que não estavam presentes na amostra de campo e diferentes estágios de desenvolvimento dos esporos podem ser observados.

Outra forma de auxiliar a identificação de espécies de FMAs é o estabelecimento de culturas puras em solo nativo e/ou areia esterilizados. Esporos saudáveis são separados e colocados individualmente ou em grupos, que provavelmente representem a mesma espécie, em potes contendo plantas, geralmente *Paspalum notatum* Flugge e *Sorghum bicolor* (L.) Moench (Douds & Millner, 1999).

As culturas são amostradas em intervalos de tempo. Geralmente são necessárias muitos ciclos das culturas-armadilhas para que algumas espécies que não esporulavam apareçam. Stutz e Morton (1996) observaram, após três ciclos da cultura armadilha, a esporulação de sete espécies que não estavam presentes na primeira amostragem. Já Franke-Snyder et al. (2001) observaram apenas uma espécie adicional. Muitas culturas podem fracassar, principalmente por ter esporos pouco saudáveis, germinação deficiente dos esporos e condições inadequadas para as espécies esporularem. Stürmer & Bellei (1994) conseguiram cultivar apenas 2 de 22 espécies de FMAs isoladas de dunas no Brasil.

Os resultados obtidos a partir de culturas-armadilhas não representam a relativa diversidade e riqueza de espécies de FMAs do local original. As culturas armadilhas tendem a ser específicas, estimulam a esporulação de poucos FMAs, principalmente quando diferentes condições são empregadas (Brundrett et al., 1999a



e 1999b). Apesar disso, são consideradas importantes instrumentos para complementar estudos da diversidade e riqueza de FMAs de determinado local.

Da mesma forma que as culturas-armadilhas, a identificação e contagem de esporos diretamente do campo não informa a respeito da distribuição e abundância de cada espécie de FMAs, nem mesmo sobre a contribuição para a quantidade de hifas presentes no solo e nas raízes. Por isso vários métodos têm sido utilizados para complementar os estudos de ecologia dos FMAs.

Identificação a partir da morfologia de hifas presentes em raízes podem ser usadas. Essa técnica requer muita experiência desenvolvida “a priori” em culturas puras dessas espécies em um único hospedeiro. Podem existir muitas mudanças na morfologia de um fungo dentro da raiz de diferentes hospedeiros. Essa técnica é utilizada principalmente em laboratório quando se conhece a identidade dos fungos. A distinção das hifas de FMAs pode ser feita microscopicamente até família. O diâmetro, a falta de septo e grampo de conexão distinguem muitas hifas de FMAs no solo, mas se as hifas são finas, não são facilmente distinguidas de outros fungos. Assim, o total de hifas de FMAs nos experimentos em casa de vegetação são quantificadas a partir da diferença entre um solo inoculado com FMAs de um solo sem a presença dos mesmos (Sylvia et al., 1992).

Testes imunológicos também têm sido aplicados para a identificação e estudos de FMAs. O uso de alguns anticorpos têm permitido a identificação até espécie. A baixa produção de anticorpos para antígenos de FMAs e a reatividade cruzada de alguns anticorpos restringem o uso desta tecnologia a laboratórios (Hahn et al., 1993 e 1994).

Esporos e vesículas são constituídos por lipídios. Por isso, alguns ácidos graxos são exclusivos e podem ser usados para distinguir lipídios de uma espécie de FMAs de outra e do próprio hospedeiro. Diferenças no perfil de ácidos graxos entre FMAs indica que a análise de ácidos graxos ester-metil-ester (fatty acid methyl ester - FAME) pode ser utilizada para identificar espécies de FMAs (Graham et al., 1995). Essa técnica tem sido utilizada em amostras puras de FMAs, mas apresenta um grande potencial para a identificação destas espécies no campo (Douds & Millner, 1999).

As técnicas moleculares de Reação de Cadeia de Polimerase (PCR) e Polimorfismo de comprimento de fragmentos de restrição (restriction fragment length polymorfism - RFLP) têm sido aplicados para a identificação de FMAs (Douds & Millner, 1999). A identificação de FMAs no interior de raízes tem sido o maior problema de estudos de ecologia dos FMAs.

Clapp et al. (1995) observaram em um estudo a campo que os resultados de PCR no solo para as espécies de *Acaulospora* e *Scutelospora* foram semelhantes as contagens de esporos, em ambos os casos houve abundância desses gêneros, mas o PCR nas raízes apresentou baixa colonização radicular desses gêneros. Os gêneros *Acaulospora*, *Scutelospora* e *Glomus* apareceram colonizando as raízes, mas houve a predominância de *Glomus*, que apresentou pouca esporulação. Colozzi & Cardoso (2000), em estudo a campo, também demonstraram que as contagens de esporos não caracterizavam a colonização radicular. Esporos de *Scutellospora gilmorei* presentes na rizosfera do cafeeiro, não determinaram a colonização dessa espécie nas raízes do cafeeiro.

Além do potencial de identificar FMAs no interior de raízes de plantas, as técnicas moleculares têm contribuído para o melhor estabelecimento da filogenia dos FMAs. A descoberta de esporos de dois gêneros de FMAs sendo produzidos sobre a mesma hifa e que provavelmente pertencem a uma nova família, as várias linhagens de Glomales que não foram identificadas e que produzem esporos similares aos de *Glomus* e os esporos do tipo acaulosporóide que ocorrem em ambas as famílias *Acaulosporaceae* e *Archeosporaceae*, identificados por análises moleculares, tornam imprescindível o desenvolvimento destas técnicas (Douds & Millner, 1999; Redecker, 2002).

Porém, alguns problemas restringem o uso da abordagem molecular. Esporos coletados a campo todos de mesmo tamanho e cor, produziram diferentes bandas após a digestão com “endonuclease restriction”. As seqüências de marcadores provenientes de rDNA de Glomales até agora vêm mostrando variação dentro de esporos de uma população (Sanders et al., 1995).

Perante dúvidas e incertezas dos novos métodos de identificação de FMAs, o método clássico de identificação é a alternativa mais viável para o momento (Douds & Millner, 1999). Uma estratégia de longo prazo pode ser seguida. Esporos retirados de amostras do local de estudo são separados em grupos de espécies iniciando as culturas em casa de vegetação. Culturas-armadilhas com o solo do local de estudo são também iniciadas. Ambos os tipos de culturas são monitorados regularmente. Esporos são isolados e identificados e culturas puras contendo apenas uma espécie são iniciadas. Desta forma a riqueza de espécies pode ser calculada. Depois de possuir familiaridade com as espécies do local, estudos com diferentes práticas de manejo podem ser examinados. A diversidade e a abundância de espécies pode ser

descrita pela comunidade esporulante (Douds & Millner, 1999). Essa estratégia, considerada por alguns dispendiosa e que, às vezes, alcança resultados não-conclusivos (Colozzi & Cardoso, 2000), deve ser complementada por técnicas mais modernas de mensuração da biodiversidade dos FMAs, como os métodos moleculares, permitindo melhor compreensão da ecologia desses organismos.

### **3. MATERIAL E MÉTODOS**

#### **3.1- Locais das coletas de dados**

O levantamento foi realizado em duas áreas distintas: uma situada às margens da RST 470 no Km 4,5 e outra situada no Centro de Treinamento da Emater, pertencentes ao município de Montenegro/RS.

No Km 4,5 da RST 470 estão localizados os 4 pomares adultos de citros e a mata nativa utilizados para o levantamento. No Centro de Treinamento da Emater estão localizados 2 pomares jovens e 2 viveiros de citros, também utilizados no levantamento.

#### **3.2 - Caracterização das áreas**

Os pomares adultos foram divididos em função da posição topográfica (várzea e meia encosta) e do manejo (convencional e orgânico). Dois pomares estão localizados na várzea, sendo um com manejo convencional e outro com manejo orgânico. Dois pomares estão localizados na meia encosta um com manejo convencional e outro com manejo orgânico. A mata nativa está localizada na meia encosta.

Estas áreas pertencem a uma topo-seqüência que inicia com o pomar adulto convencional da várzea (PCV) passando pelo pomar orgânico da várzea (POV), pomar orgânico meia encosta (POM), pomar adulto convencional meia encosta (PCM) e terminando na mata nativa (MN).

A classe do solo na qual estão situados os pomares adultos e a mata nativa localizados em meia encosta é Argissolo Vermelho Distrófico arênico (Embrapa, 1999). Os pomares adultos localizados na várzea é Planossolo Hidromórfico Eutrófico arênico (Embrapa, 1999).

Os pomares jovens foram divididos somente em função do manejo sendo um conduzido com manejo orgânico e o outro conduzido com manejo convencional. Tanto o pomar jovem conduzido com o manejo orgânico (PJO), como o pomar jovem conduzido com manejo convencional (PJC) estão localizados em um relevo suavemente ondulado em Argissolo Vermelho Distrófico arênico (Embrapa, 1999).

Os viveiros também foram divididos em função do manejo, sendo um conduzido com manejo orgânico e outro conduzido com manejo convencional. Tanto o viveiro orgânico (VIO) como o viveiro convencional (VIC) estão localizados em um relevo suavemente ondulado em Argissolo Vermelho Distrófico arênico (Embrapa, 1999).

### **3.2.1 - Pomares adultos**

Os pomares adultos possuem entre sete e dez anos de idade. O PCV é constituída pela cultivar Caí (*Citrus reticulata* Blanco), os pomares PCM e POM são constiuidos pela cultivar Montenegrina (*C. reticulata*) e o POV é constituído pela

cultivar Murcote (*Citrus sinensis* (L) Osbeck X *C. reticulata*). As plantas das três cultivares estão enxertadas em *Poncirus trifoliata* L. Raf

Em cada pomar adulto foi delimitada uma área de 2500 m<sup>2</sup>, composta por 104 árvores de citros.

**Manejo Convencional:** os pomares convencionais foram implantados conforme recomendações técnicas, sendo a fertilidade do solo recuperada de acordo com recomendações da Comissão de Fertilidade do Solo RS/SC (1995). Aplicou-se calcário dolomítico e adubos solúveis, superfosfato simples para corrigir fósforo e cloreto de potássio para corrigir potássio. As adubações de formação, manutenção e produção também foram e são realizados com aplicação de adubos solúveis de formulações NPK.

Os tratos fitossanitários são realizados anualmente para a prevenção e controle de pinta-preta (*Guignardia citricarpa* Kiely) e cancro cítrico (*Xantomonas campestris* pv. *citri*). Para o controle da pinta preta, utiliza-se benomyl (0,08%) + óleo mineral (0,5%) e para o controle do cancro cítrico utiliza-se oxiclreto de cobre (0,15%). As aplicações de benomyl são realizadas preventivamente logo após a queda das pétalas, com intervalos de 30 dias até a colheita. As pulverizações de oxiclreto de cobre são realizadas preventivamente nos fluxos de brotações.

As plantas da entrelinha são manejadas anualmente em outubro e janeiro. Na projeção da copa utiliza-se o herbicida glifosato (0,5%). No restante da área, utiliza-se a roçada. A poda de ramos é realizado anualmente, após a queda natural dos frutos, os ramos são deixados na entrelinha. O PCV possui um dreno com profundidade de 1 m.

No PCM, em virtude da falta de recursos para investimentos, apenas no período produtivo de 2001/2002 não foram realizados os tratos fitossanitários, nem o manejo da vegetação da entrelinha.

**Manejo Orgânico:** os pomares orgânicos foram implantados e formados de acordo com as recomendações técnicas, sendo a fertilidade do solo e as adubações de formação realizadas de forma semelhante ao manejo convencional. A partir do terceiro ano de implantação foram convertidos para o manejo orgânico.

Os pomares receberam, no primeiro ano de conversão, a aplicação em cobertura de 50m<sup>3</sup>/ha de composto produzido na usina de compostagem da Ecocitros (Montenegro/RS). A cada três anos são efetuadas aplicações de 50m<sup>3</sup>/ha de composto. Este composto é produzido a partir de diversos resíduos industriais da região como casca de acácia, vísceras, conteúdo ruminal, cereais fermentados, lodos da indústria de refrigerantes, etc. São efetuadas aplicações anuais de 30m<sup>3</sup>/ha de chorume fornecidos pela Ecocitros. O chorume é oriundo dos açudes de decantação da usina de compostagem da Ecocitros (Montenegro/RS).

Os tratos fitossanitários são realizados anualmente para o controle da pinta-preta e do cancro cítrico. Para o controle da pinta-preta e do cancro cítrico são utilizadas as caldas sulfocálcica e a calda bordalesa. A aplicação de calda sulfocálcica é realizada preventivamente no mês de julho. As aplicações de calda bordalesa são feitas preventivamente nos meses de outubro, novembro, janeiro e abril.

As plantas da entrelinha são manejadas anualmente, com roçadeira, nos meses de outubro e janeiro. O raleio é realizado anualmente, retirando-se o excesso de frutos por arrancamento. O POV possui um dreno com profundidade de 0,5m.



No POV , no período produtivo 2001/2002, não foi realizada a aplicação de chorume mas sim de cereal fermentado, oriundo da indústria de bebidas, sem passar pelo processo de compostagem.

### 3.2.2 – Pomares Jovens

Os pomares jovens foram implantados em agosto/2001. Portanto, durante o período de amostragem, estavam em seu primeiro ano de desenvolvimento. Ambos são cultivados com a variedade Valência (*C. sinensis*), enxertada em *P. trifoliata*. As mudas foram distribuídas em 7 linhas distanciadas em 5 m e com espaçamento entre mudas de 2,5 m. Cada pomar possui uma área 2100 m<sup>2</sup>, contendo 147 plantas de citros. As áreas foram preparadas com uma roçada, duas arações e uma gradagem, com dois meses de antecedência ao plantio.

**Manejo Convencional:** o PJC foi implantado conforme recomendações técnicas, sendo a fertilidade do solo recuperada de acordo com a Comissão de Fertilidade do Solo RS/SC (1995), aplicando-se a lanço 5 t/ha de calcário PRNT 60, 165 Kg/ ha de cloreto de potássio e 200 Kg de fosfato natural de Arad (33% de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>), incorporados por lavração e gradagem. No plantio das mudas foram adicionados, a cada cova, 500g de fosfato natural de Arad e 500g de calcário dolomítico (PRNT 60), incorporados com enxadão num raio de 0,5m. A adubação de formação foi feita com aplicação de 50g de sulfato de amônia em setembo/2001 e 50g de uréia nos meses de dezembro/2001 e março/2002.

Os tratos fitossanitários visaram principalmente o controle da larva minadora e do cancro cítrico. Para o controle da larva minadora (*Phyllocnistis citrella* Station)

utilizou-se o produto comercial abamectin (0,3%) e para o cancro cítrico oxicloreto de cobre (0,5%), aplicados em outubro/2001 e janeiro/2002.

O manejo da vegetação na linha e na entrelinha foi realizado com aplicação do herbicida glifosato (0,5%) e capinas nos meses de outubro/2001 e janeiro/2002, numa faixa de 2m, tendo como centro a linha de plantio, além de roçada em outubro/2001 e janeiro/2002 no restante da área.

**Manejo Orgânico:** o pomar orgânico foi implantado conforme o manejo preconizado pela Ecocitros (Montenegro/RS). Na área destinada ao pomar, aplicou-se, em cobertura, 50m<sup>3</sup>/ha de chorume oriundos dos açudes de decantação da usina de compostagem da Ecocitros Montenegro/RS. No plantio das mudas não se colocou nenhum adubo na cova, mas após o plantio colocou-se em cobertura, num raio de 0,5m, ao redor da planta, 0,1m<sup>3</sup> de composto orgânico sem incorporar ao solo. Para adubações de formação foi utilizada a mesma prática anterior, aumentando-se gradativamente o raio, a quantidade de composto e a incorporação do composto ao solo. No mês de janeiro/2002, houve a aplicação em cobertura de 50m<sup>3</sup>/ha de composto em toda área do pomar.

Como manejo da vegetação na linha e entrelinha utilizou-se a capina ao redor das plantas. A aplicação do composto servia também como manejo da vegetação. Estas práticas foram realizadas em outubro/2001, janeiro/2002 e março/2002. Em janeiro/2002 a área foi roçada. Em maio/2002 semeou-se a lanço aveia preta (*Avena strigosa* Schieb.) e ervilhaca (*Vicia villosa* Roth), sendo as sementes incorporadas com gradagem superficial.

Os tratos fitossanitários visaram principalmente o controle da larva minadora e do cancro cítrico. Para controle da larva minadora, utilizou-se *Bacillus thuringiensis*

(0,05%) de Dipel e para controle do cancro cítrico utilizou-se calda bordalesa ácida (0,5%). As aplicações foram realizadas nos meses de outubro/2001 e janeiro/2002.

### 3.2.3 - Viveiros

Os viveiros foram implantados em agosto/2001. As áreas foram preparadas com uma roçada, duas arações e uma gradagem, com dois meses de antecedência ao plantio. O porta enxerto utilizado foi o *P. trifoliata*. Os porta-enxertos foram distribuídos em 15 linhas espaçadas em 1m e com distância entre os porta-enxertos de 20 cm. Cada viveiro possui uma área de 336 m<sup>2</sup> onde foram plantadas 1750 porta-enxertos provenientes de sementeiras de 2 anos. Durante as amostragens os porta-enxertos foram enxertados em abril de 2002 com a laranja valência (*C. sinensis*).

**Manejo Convencional:** o viveiro convencional foi implantado conforme recomendações técnicas, sendo a fertilidade do solo recuperada de acordo com a Comissão de Fertilidade do Solo RS/SC (1995), aplicando-se a lanço 5 t/ha de calcário PRNT 60, 165 Kg/ ha de cloreto de potássio e 400 Kg de fosfato natural de Arad (33% de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>), incorporados com gradagem. No plantio, não foi adicionado adubo. As adubações de formação foram feitas com aplicações de 20g/m linear de sulfato de amônia, na linha do porta-enxerto, no meses de setembro/2001, dezembro/2001 e março/2002.

Os tratos fitossanitários visaram o controle da larva minadora e do cancro cítrico. Para o controle da larva minadora utilizou-se abamectin (0,3%) e para o controle do cancro cítrico utilizou-se oxicloreto de cobre (0,15%). O controle da larva minadora foi realizado nos meses de outubro/2001, dezembro/2001, fevereiro/2002

(duas vezes) e abril/2002. O controle do cancro cítrico foi realizado nos meses de março/2002 (duas vezes) e a partir de abril/2002 semanalmente, até agosto/2002.

O manejo da vegetação na linha e entrelinha foi realizado com aplicação do herbicida glifosato (0,5%) e capina, nos meses de outubro/2001, dezembro/2001, janeiro/2002, fevereiro/2002 e agosto/2002.

**Manejo orgânico:** o viveiro orgânico foi implantado conforme o manejo preconizado pelo Ecocitros. Na área destinada ao viveiro, aplicaram-se 60 m<sup>3</sup>/ha de chorume e 300 m<sup>3</sup>/ha de composto, incorporados com gradagem. No plantio das mudas não foi aplicado nenhum tipo de adubo. A adubação de formação foi realizada com a aplicação de 300m<sup>3</sup>/ha de composto (10m<sup>3</sup> em 336 m<sup>2</sup>), sem incorporar ao solo, no mês de outubro/2001.

Os tratamentos fitossanitários visaram o controle da larva minadora e do cancro cítrico. Para o controle da larva minadora utilizou-se *Bacillus thuringiensis* (0,05%) de Dipel e para o controle do cancro cítrico utilizou-se calda bordalesa ácida (0,5%). As aplicações de *Bacillus thuringiensis* foram realizadas nos meses de outubro/2001, fevereiro/2002 (duas vezes), março/2002 e abril/2002. As aplicações de calda bordalesa foram realizadas nos meses de março/2002 (duas vezes) e a partir de abril/2002 até agosto/2002 semanalmente.

O manejo da vegetação na linha e entrelinha foi realizado com capinas nos meses de outubro/2002, dezembro/2002, janeiro/2002, março/2002 e abril/2002.

### 3.2.4 – Mata Nativa

A mata nativa possui 14 anos de idade e é formada principalmente pelas espécies *Myrceugenia sp* (cambuim), *Fagara hyemalis* (Saint-Hilaire) Engler (mamica-de-cadela), *Schinus therebinthifolius* Radii (aroeira mansa) e *Rapanea ferruginea* (Ruiz & Pavon) Mez.

Antes do desenvolvimento da mata nativa havia uma floresta de eucaliptos (*Eucaliptus sp*) e pinus (*Pinus pinea* L.), que após 20 anos de cultivo foi cortada. A área permaneceu abandonada durante 4 anos. No 4º ano foram introduzidas algumas mudas de ipê (*Tabebuia sp*) e araucária [*Araucaria angustifolia* (Bertoloni) Otto Kuntze] e os rebrotes dos eucaliptos foram eliminados.

A mata nativa encontra-se no estágio de desenvolvimento denominado capoeira, caracterizando-se pela composição de espécies, algumas consideradas pioneiras.

### 3.3- Composição das amostras de raízes e solo.

As amostras de raízes e do solo adjacente às raízes foram coletadas para determinar a presença de espécies de FMAs, estruturas de FMAs presentes nas raízes de citros e as características químicas do solo.

As coletas foram realizadas em quatro épocas diferentes, nos meses de agosto/2001, outubro/2001, março/2002 e agosto/2002. Em cada período de coleta foram realizadas diferentes determinações para os diversos pomares, viveiros e mata nativa, conforme descrito abaixo:

- 1) Agosto/2001: as coletas daquele mês foram utilizadas para determinar a presença de espécies de FMAs e as estruturas de

FMA's presentes nas raízes de citros dos pomares orgânicos adultos. Foram coletadas 8 unidades amostrais.

2) Outubro/2001: as coletas daquele mês foram utilizadas para determinar a presença de espécies de FMA's e as estruturas de FMA's presentes nas raízes de citros dos pomares orgânicos adultos. Foram coletadas 8 unidades amostrais.

3) Março/2002: as coletas daquele mês foram utilizadas para determinar a presença de espécies de FMA's, as estruturas de FMA's presentes nas raízes de citros e as características químicas do solo dos pomares convencionais e orgânicos adultos, dos pomares convencional e orgânico jovens, dos viveiros convencional e orgânico e da mata nativa. Foram coletadas 36 unidades amostrais.

4) Agosto/2002: as coletas desse mês foram utilizadas para determinar as estruturas de FMA's presentes nas raízes de citros e as características químicas do solo dos pomares convencionais e orgânicos adultos, dos pomares convencional e orgânico jovens e dos viveiros convencional e orgânico. Foram coletadas 32 unidades amostrais.

As áreas dos pomares, viveiros e a mata nativa foram subdivididas em quadrantes. De cada quadrante retirou-se uma unidade amostral. Portanto, para cada área tiraram-se 4 unidades amostrais. As unidades amostrais foram compostas de forma distinta para os pomares, viveiros e a mata nativa.

Nos pomares adultos, foi escolhida aleatoriamente uma planta de citros em cada quadrante. A planta de citros escolhida correspondia a uma unidade amostral.

Na unidade amostral foram coletadas 4 sub-amostras, retiradas uma de cada quadrante da respectiva planta. Nos pomares adultos orgânicos, nos dois primeiros meses de coleta, agosto/2001 e outubro/2001, utilizou-se uma planta marcada no quadrante 2. Essa planta marcada também constituiu uma unidade amostral, sendo composta de acordo com as demais unidades amostrais dos pomares adultos. Este procedimento foi abandonado devido ao aumento do número de unidades amostrais previstas para os meses de março/2002 e agosto/2002. A quinta amostra tinha o objetivo de quantificar a variação existente na mesma unidade amostral, durante um período de tempo.

Nos pomares jovens foram escolhidas 10 mudas de citros por quadrante. As 10 mudas de citros escolhidas compunham uma unidade amostral. De cada muda, retirou-se 2 sub-amostras, de lados opostos, localizadas na entrelinha. Assim, para a composição da unidade amostral retiraram-se 20 sub-amostras de cada quadrante.

Nos viveiros, foram escolhidas aleatoriamente 10 porta-enxertos de citros por quadrante. Os 10 porta-enxertos de citros compunham uma unidade amostral. De cada porta-enxerto retiraram-se 2 sub-amostras, de lados opostos, localizados na entrelinha. Assim, para a composição da unidade amostral retiraram-se 20 sub-amostras de cada quadrante.

Na mata nativa foram escolhidos aleatoriamente 10 pontos distintos em cada quadrante. Os 10 pontos escolhidos compunham uma unidade amostral.

Todas as sub-amostras de raízes e solo foram retiradas a uma profundidade de 10 cm. A esta profundidade existe maior atividade biológica e conseqüentemente maior esporulação das espécies de FMAs (Douds & Millner, 1999). As sub-amostras foram colocadas no mesmo saco plástico (um para raízes e outro para solo), sendo

identificados, amarrados e levados ao laboratório, permanecendo no refrigerador a 5°C. No dia seguinte procedeu-se a preparação das amostras.

O estudo teve um total de 88 unidades amostrais (n) distribuídos nos meses e nos locais de coleta, conforme descrito abaixo:

- 1) Agosto/2001: pomares orgânicos adultos n = 10
- 2) Outubro/2001: pomares orgânicos adultos n = 10
- 3) Março/2002: pomares orgânicos adultos n = 8  
pomares convencionais adultos n = 8  
pomar orgânico jovem n = 4  
pomar convencional jovem n = 4  
viveiro orgânico n = 4  
viveiro convencional n = 4  
mata nativa n = 4
- 4) Agosto/2002 : pomares orgânicos adultos n = 8  
pomares convencionais adultos n = 8  
pomar orgânico jovem n = 4  
pomar convencional jovem n = 4  
viveiro orgânico n = 4  
viveiro convencional n = 4

### **3.4 – Preparação das amostras de solo e raízes**

As amostras de solo adjacentes às raízes foram homogeneizadas e secas ao ar para a extração de esporos de FMAs e determinação das características químicas.



As raízes foram lavadas em água corrente e em seguida as radículas foram cortadas na porção mediana, em segmentos de aproximadamente 1 cm e guardadas em uma solução de F.A.A. (Formaldeído a 5%, Ácido Acético a 5% e Álcool Etílico a 90%) para posterior determinação da presença de estruturas dos FMAs.

#### **3.4.1- Extração e quantificação de propágulos de FMAs**

Os esporos de FMAs foram extraídos pela técnica de peneiramento úmido (Gerdemann & Nicolson, 1963), seguido de centrifugação com sacarose.

Do solo seco ao ar, retirou-se uma amostra de 50g, que foi colocada em uma sequência de peneiras de 1000, 250 e 53  $\mu\text{m}$  e lavada com água destilada. O solo retido na peneira de 53  $\mu\text{m}$  foi separado e colocado em tubos para a centrifugação durante 3 minutos a 1750 rpm em centrífuga de rotor plano. Depois de retirado e guardado o primeiro sobrenadante, acrescentou-se solução de sacarose com concentração de 480g/l, homogeneizando-a em seguida e centrifugando-a por mais 30 segundos a 1750 rpm. Os dois sobrenadantes foram passados pela peneira de 53 $\mu\text{m}$  e lavados cuidadosamente com água destilada para retirar o excesso de argila e sacarose.

O material retido na peneira de 53  $\mu\text{m}$ , esporos dos FMA e impurezas, foi observado em microscópio estereoscópico, com aumento de 30 vezes, sendo realizada a contagem e separação dos esporos de FMAs do restante do material. A separação dos esporos foi realizada em vidro de relógio com auxílio da agulha histológica e micropipeta. Os esporos resistentes ao toque da agulha histológica foram separados e armazenados em vidros de 20 ml, contendo uma solução de

azida sódica ( $\text{NaN}_3$ ) 0,05%, a 4°C, para a posterior separação por tipos de esporos e determinação das espécies presentes. Os esporos foram separados por tipos morfológicos em função do tamanho, cor, brilho, forma e transparência.

Lâminas contendo os tipos morfológicos foram preparadas com as soluções fixadoras PVLG (Polivinil-Lacto-Glicerol) e PVLG+Melzer (1:1) (Polivinil-Lacto-Glicerol + reagente Melzer). Em uma lâmina previamente identificada com o código do morfotipo, foram colocados, com o auxílio de uma pipeta, 20 esporos de FMAs em dois pontos distintos da lâmina, um para cada solução fixadora. O excesso de água do esporos foi retirado com o auxílio de papel toalha. Após foram colocadas pequenas gotas das soluções, uma para cada grupo de esporos, colocando-se uma lamínula e preenchendo-se os espaços vazios com as soluções. As lâminas foram colocadas em estufa a temperatura de 50°C durante dois dias. Nesse período, verificavam-se as lâminas, completando-se os espaços vazios com as soluções. Após a secagem, os esporos foram quebrados com uma leve pressão sobre a lamínula realizada com o auxílio de um lápis borracha. Depois de prontas, as lâminas contendo os esporos dos morfotipos foram enviadas para a identificação das espécies no Departamento de Biologia da Universidade Estadual de Maringá (UEM), localizada em Maringá/PR, pela Dra. Rosilaine Carrenho, pelo método descrito por Schenck & Perez (1988).

#### **3.4.2 - Quantificação de estruturas de FMAs em segmentos de raízes**

As raízes conservadas em solução FAA (Formaldeído a 5%, Ácido Acético Glacial a 5% e Álcool Etílico a 90%) foram utilizadas para a quantificação de hifas, vesículas e arbúsculos, sendo utilizado o método de tingimento de raízes adaptado

de Schmitz (1998) e Honrubia et al. (1993). Estes autores basearam seus trabalhos no método de clarificação e tingimento descrito por Philips & Hayman (1970).

As raízes foram colocadas em solução de hidróxido de potássio (KOH) a 10% em copos de Becker de 50ml, e mantidos em banho-maria por uma hora em temperatura de 90 a 100°C. Após retirou-se a solução de KOH e lavaram-se as raízes com água destilada por três vezes. Aproximadamente 50 segmentos de raízes de 1 cm de comprimento, de cada unidade amostral, foram utilizados para o processo de tingimento, sendo aproveitados 28 segmentos.

Realizada a lavagem, mantiveram-se as raízes imersas em uma solução de hipoclorito de sódio ( $\text{NaClO} + \text{NaCl} + \text{H}_2\text{O}$ ) + ácido clorídrico (HCl), (100ml de  $\text{NaClO} + \text{NaCl} + \text{H}_2\text{O}$  a 1% + 0,5ml de HCl com pH em torno de 5,5) por 7 a 10 minutos. Após, lavaram-se os segmentos de raízes com água destilada por três vezes.

As raízes lavadas foram tingidas com algumas gotas de Azul de Tripano (lactofenol + Azul de Tripano) em banho-maria por 10 minutos a 90°C. Após, o excesso de tintura foi retirado com água destilada.

Os segmentos de raízes tingidos foram guardados em ácido láctico ( $\text{CH}_3\text{CHOHCOOH}$ ). Os segmentos de raízes com ácido láctico foram colocados sobre lâminas, 8 segmentos por lâmina, colocando-se 4 segmentos por lamínula, preparando-se 3 lâminas, num total de 24 segmentos de raízes avaliados por unidade amostral. Sobre a lamínula exerceu-se uma leve pressão com a finalidade de dilacerar o córtex, facilitando a visualização das estruturas de FMA. A visualização foi feita em microscópio óptico com aumento de 250 e 400 vezes.

O índice de avaliação de colonização por hifas de FMA e de contagem de vesículas e arbúsculos está descrito em Nemeç (1992). Segundo esse índice, a

presença destas estruturas do fungo no córtex é avaliada em uma escala de 0 a 3. As vesículas e arbúsculos são classificados de acordo com os seguintes critérios: 0 para a inexistência de estruturas; 1 para uma até 50 estruturas presentes; 2 para 51 até 100 estruturas presentes; e 3 para mais de 100 estruturas presentes. A presença de hifas é classificada de acordo com os seguintes critérios: 0 para a inexistência de hifas; 1 para escasso desenvolvimento de hifas no segmento; 2 para desenvolvimento moderado de hifas; e 3 para amplo desenvolvimento de hifas.

A porcentagem de colonização com FMAs foi calculada pela relação entre o número de fragmentos de raízes colonizados pelo total de fragmentos analisados. Para este cálculo, aproveitaram-se os resultados obtidos na quantificação de estruturas de FMAs nas raízes. A presença ou não de estruturas, independente do índice de presença determinado, indicou a porcentagem de colonização por FMAs.

### **3.4.3 – Caracterização química do solo**

Para caracterizar quimicamente o solo adjacente às raízes, utilizaram-se os métodos de Tedesco et. al. (1995), a seguir descritos.

O teor de umidade do solo foi determinado com base no peso seco. Após a homogeneização do solo pesaram-se 50 g do solo úmido de cada unidade amostral. O solo foi seco em estufa a 60°C até peso constante. A umidade do solo foi obtida pela relação entre o peso da água contida na amostra de 50g de solo e o peso da amostra após a secagem.

A acidez ativa foi avaliada pelo pH em água. Pesaram-se 10g do solo homogeneizado e seco ao ar. As 10g de solo foram colocadas em copos plásticos de

50ml com 10ml de água destilada, agitando-se com bastão de vidro. Após 30 minutos repousando agitou-se novamente a solução e determinou-se o pH.

A matéria orgânica (MO) foi determinada a partir do teor de carbono orgânico do solo. Pesou-se 1g de solo seco ao ar para as unidades amostrais com 2 a 4% de MO e 0,5g de solo para as unidades amostrais com 4 a 10% de MO. O solo foi colocado em erlenmayer de 250ml adicionando-se 10ml de dicromato de potássio ( $K_2Cr_2O_7$  1,25 N) e agitando-se levemente. Após colocaram-se 20ml de ácido sulfúrico ( $H_2SO_4$ ), aquecendo-se no bico de Bunsen por 1 min a  $150^\circ C$ . Após esfriar ajustou-se o volume a 100ml e retirou-se uma alíquota de 50 ml que foi titulada com sulfato ferroso ( $FeSO_4$  0,25N). O teor de carbono (C) do solo foi calculado a partir dos miliequivalentes (me) de dicromato ( $Cr_2O_7^{-2}$ ) que não reagiram com o  $CO_2$  liberado após a combustão da MO contida no solo. O teor de MO do solo foi obtido pela multiplicação do teor de C pelo fator de correção de 1,9 e expresso em %.

Para determinação dos teores de P, K, Ca e Mg utilizou-se o método de extração com o uso de resinas de troca em lâminas. Pesaram-se 2,5g de solo de cada unidade amostral que foram colocadas em frascos “snap cap” de 50ml. Duas tiras de resinas 2,5 x 3 cm (uma aniônica: AR103 QDP 434 e outra catiônica: CGR 1CZR42), lavadas com ácido clorídrico (HCl 0,5M) e água destilada e saturadas com carbonato de cálcio ( $NaHCO_3$  0,5M), foram colocadas nos frascos junto com o solo adicionado-se 40 ml de água destilada. Os frascos foram agitados no agitador “end-over-end” durante 16 horas. Após retiraram-se as resinas que foram lavadas com água destilada e colocadas em frascos “snap cap” contendo 40 ml de ácido clorídrico (HCl 0,5M), permanecendo em repouso por 1,5 horas. Após o repouso os frascos foram agitados por 30 minutos em agitador horizontal (100-110 oscilações por

minuto). Para a determinação de P retirou-se 3 ml do extrato e adicionaram-se 3ml de molibdato de amônia  $[(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}\cdot 4\text{H}_2\text{O}$  0,38%] e 3 gotas de solução P-C [ácido 1-amino-2-naftol-4-sulfônico, sulfito de sódio ( $\text{Na}_2\text{SO}_3$ ) e metabissulfito de sódio ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$ )], após 15 minutos leu-se a absorvância em 660 nm. Para a determinação de K retiraram-se 5 ml do extrato e adicionaram-se 5ml de água destilada, após leu-se a emissão de K no fotometrô de chama. Para a determinação de Ca retiraram-se 5ml do extrato e adicionaram-se 15 ml de água, desse extrato diluído retirou-se 5ml e adicionou-se 5ml de solução de estrôncio (Sr), após leu-se a absorvância no espectrofotômetro de AA. Para a determinação de Mg retiraram-se 5ml do extrato usado na leitura de Ca e adicionaram-se 10 ml de água destilada, após leu-se a absorvância no espectrofotometro de AA. Os teores de P, K, Ca e Mg foram calculados a partir de fatores de correção (fc) e de diluição (fd). O fc foi calculado a partir da curva padrão, que contém concentrações conhecidas dos elementos. Os pontos da curva padrão foram lidos nos aparelhos antes da leitura das unidades amostrais. Dividiu-se a concentração do elemento de cada ponto da curva pela leitura no aparelho, obtendo-se um coeficiente. Os coeficientes obtidos para cada ponto são somadas e divididos pelo mesmo número de pontos, o número obtido corresponde a inclinação da curva. O fd é calculado a partir das diluições do extrato realizadas para as leituras.

### **3.5 - Análise Estatística**

Os resultados obtidos foram avaliados pelos métodos de Análise de Agrupamento, Ordenação e Análise de Variância Multivariada com Teste de Aleatorização (Orlóci et al., 1987).

Os dados referentes à presença de espécies, grupos de gêneros de esporos, estruturas presentes nas raízes e características químicas do solo foram avaliados individualmente pelos seguintes métodos:

- 1) Análise de agrupamento obtida pelo método de variância mínima com transformação vetorial apenas para as características do solo (normalização entre variáveis), utilizou-se distância euclidiana como medida de semelhança entre as unidades amostrais;
- 2) Ordenação: obtida por análise de Componentes Principais. Utilizou-se como medida de semelhança correlação entre variáveis;
- 3) Correlação entre variáveis, seguidas de Teste de Aleatorização;
- 4) Análise de variância Multivariada com Teste de Aleatorização.

A significância dos grupos e dos eixos de ordenação foram avaliados pelo Teste Bootstrap, considerando os níveis de significância de  $P \leq 0,1$  para ordenação e  $P \geq 0,1$  para agrupamento (Pillar, 1998).

Para avaliar a relação entre as variáveis bióticas e ambientais utilizou-se os seguintes métodos:

- 1) Correlação entre variáveis, seguidas de Teste de Aleatorização;
- 2) Teste de Mantel, realizado a partir de matrizes de semelhança, obtidas por distância euclidiana; a partir dos escores das unidades amostrais, obtidas dos eixos de ordenação; e a partir dos escores dos eixos de ordenação com variáveis;

As unidades amostrais nas Análises de Variância com Teste de Aleatorização foram agrupadas de acordo com manejo, local e características químicas do solo.

Os dados oriundos da contagem de esporos foram transformados pela raiz quadrada do valor absoluto quando utilizados nas análises de agrupamento e ordenação, a fim de minimizar a variância contida nas contagens de esporos de determinados tipos morfológicos de FMAs.



## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 – Correlação entre os descritores das comunidades de FMAs

O método utilizado para separar os esporos de FMAs, pelo tamanho, cor, forma, aspecto externo, transparência e brilho, resultou no isolamento de 47 tipos morfológicos (morfotipos). A identificação dos esporos revelou que muitos morfotipos foram constituídos por várias espécies de FMAs. Alguns morfotipos constituíram-se por apenas uma espécie (A2, A5, C4, C7, E5, F3, G2, G10, H11, A1, B10, G9, H11, A6, F7, G7 e H9), outros morfotipos constituíram-se de duas (B5, B12, C5, F5, H2, A4, C6, D4, H3, F11, F12, F6, G3, G6, D3 e E3), três (C2, G11 e H6), quatro (B6, F8, C10, D8, E2 e H4) ou cinco espécies (C3, D2, B8 e F2) e um morfotipo constituiu-se de seis espécies (D5) (Tabela 1).

A partir dos morfotipos, elaborou-se uma matriz descritiva das comunidades de FMAs pelo critério de presença e ausência de espécies. Através de um “ranking” de morfotipos para cada unidade amostral, verificou-se as espécies mais freqüentes e as menos freqüentes. As espécies mais freqüentes foram consideradas presentes na matriz de presença e ausência. As espécies menos freqüentes só foram consideradas presentes, quando o número de esporos, do morfotipo a que elas pertenciam, atingia contagem superior a 1; do contrário, não se consideravam as

presenças. Quando o morfotipo era composto por duas espécies de FMAs e a contagem de esporos correspondia a 1, as espécies eram consideradas como presentes (Apêndice 1).

As espécies *Scutellospora nodosa* e *S. pelucida* apareceram em baixa frequência nas lâminas de identificação. Num total de 3 lâminas identificadas do morfotipo E2, cada lâmina contendo 40 esporos de FMAs, foram encontrados apenas 9 esporos de *S. nodosa*. Da mesma forma, foram contados apenas três esporos de *S. pelucida* em uma lâmina contendo 40 esporos de FMAs do morfotipo F2. Essas duas espécies foram consideradas raras, pela baixa frequência nas lâminas de identificação e também por aparecerem em apenas um morfotipo. As duas espécies não participaram da elaboração da matriz de presença e ausência de espécies de FMAs.

As contagens de esporos de FMAs foram agrupadas em função do(s) gênero(s) presente(s) em cada morfotipo. Foram obtidos dez grupos de contagem de esporos a partir dos gêneros de FMAs. Os grupos I, II e IX foram constituídos por apenas um gênero de FMAs sendo *Glomus*, *Acaulospora* e *Scutellospora*, respectivamente. Os demais grupos apresentaram misturas de gêneros. O grupo III conteve os gêneros *Glomus* e *Acaulospora*, o grupo IV os gêneros *Entrophospora*, *Acaulospora* e *Glomus*, o grupo V os gêneros *Entrophospora*, *Acaulospora*, *Glomus* e *Scutellospora*, o grupo VI os gêneros *Acaulospora* e *Scutellospora*, o grupo VII os gêneros *Acaulospora*, *Scutellospora* e *Glomus* e o grupo X os gêneros *Glomus*, *Acaulospora* e *Gigaspora* (Tabela 2).









Em relação ao número de espécies presentes em cada grupo de gêneros, observou-se que os grupos I, III e VIII apresentaram o maior número de espécies de FMAs, 9, 14 e 8 respectivamente. Já os grupos IV, V, VI e VII apresentaram respectivamente 6, 5, 6 e 5 espécies e os grupos II, IX e X apresentaram respectivamente 2, 1 e 3 espécies.

Portanto, como resultado da contagem, separação e identificação dos esporos, foram obtidas três matrizes de descrição das comunidades de FMAs. Essas matrizes foram elaboradas a partir dos morfotipos, grupos de gêneros e a presença e ausência de espécies. As matrizes de morfotipos e gêneros são quantitativas, ou seja, foram elaboradas pelas contagens de esporos. A matriz de espécies é binária, ou seja, elaborada pela presença e ausência de espécies.

Observou-se correlação significativa entre as matrizes de semelhança de unidades amostrais descritas por morfotipos, grupos de gêneros e espécies. Entre as matrizes de morfotipos e grupos de gêneros houve correlação de 0,90 (Tabela 3). Entre as matrizes de morfotipos e espécies houve correlação de 0,33. Essa correlação foi obtida quando utilizaram-se os critérios de presença e ausência para a elaboração da matriz de espécies. Sem o uso dos critérios de presença e ausência para a elaboração da matriz de espécies, a correlação baixou para 0,29. A não utilização dos critérios de presença e ausência, significa que todas as espécies de FMAs presentes nos morfotipos, observados em cada unidade amostral, são consideradas presentes. Portanto, à medida que o número de esporos dos morfotipos aumenta, aumenta na mesma proporção o número de esporos dos grupos de gêneros a que eles pertencem e em menor proporção a presença de espécies.

Tabela 3 – Teste de Mantel entre matrizes de semelhança<sup>1</sup> de 36 unidades amostrais coletadas no mês de março/2002, pertencentes a pomares, viveiros e mata nativa localizados no município de Montenegro/RS. As unidades amostrais foram descritas por morfotipos, presença e ausência de espécies e grupos de gêneros de FMAs.

	Morfotipos <sup>2</sup>	Espécies <sup>3</sup> (com critério)	Espécies <sup>4</sup> (sem critério)	Morfotipos <sup>5</sup> (presença e ausência)	Grupos de gêneros <sup>6</sup>	Grupos <sup>7</sup> (presença e ausência)
Morfotipos		0.001 <sup>8</sup>	0.001	0.001	0.001	0.001
Espécies (com critério)	0.33 <sup>9</sup>		0.001	0.001	0.001	0.001
Espécies (sem critério)	0.29	0.69		0.001	0.001	0.001
Morfotipos (presença e ausência)	0.52	0.56	0.40		0.001	0.001
Grupos de gêneros	0.90	0.33	0.34	0.34		0.001
Grupos (presença e ausência)	0.13	0.35	0.25	0.26	0.20	

1 – matriz de semelhança obtida por distância euclidiana entre unidades amostrais;

2 – matriz de morfotipos obtida pela contagem de esporos transformados pela raiz quadrada;

3 – matriz de presença e ausência obtida através dos critérios de presença adotados neste trabalho;

4 – matriz de presença e ausência sem os critérios de presença;

5 – matriz obtida pela presença e ausência de morfotipos;

6 – matriz de gêneros obtida pela contagem de esporos transformados pela raiz quadrada;

7 - matriz obtida pela presença e ausência de grupos de gêneros.

8 – probabilidade obtida por Teste de Aleatorização;

9 – coeficiente de correlação obtido entre as matrizes de descrição.

As baixas correlações entre as matrizes de morfotipos e espécies estão relacionadas à grandeza escalar das variáveis: quantitativas para os morfotipos e binárias para espécies. Quando transformou-se a matriz quantitativa de morfotipos em binária, a correlação com as matrizes de espécies aumenta. A correlação com a matriz de espécies elaborada com os critérios de presença e ausência passa de 0,33 para 0,56 e com a matriz de espécies elaborada sem os critérios passa de 0,29 para 0,40 (Tabela 3). Esse resultado revela que a adoção dos critérios de presença e

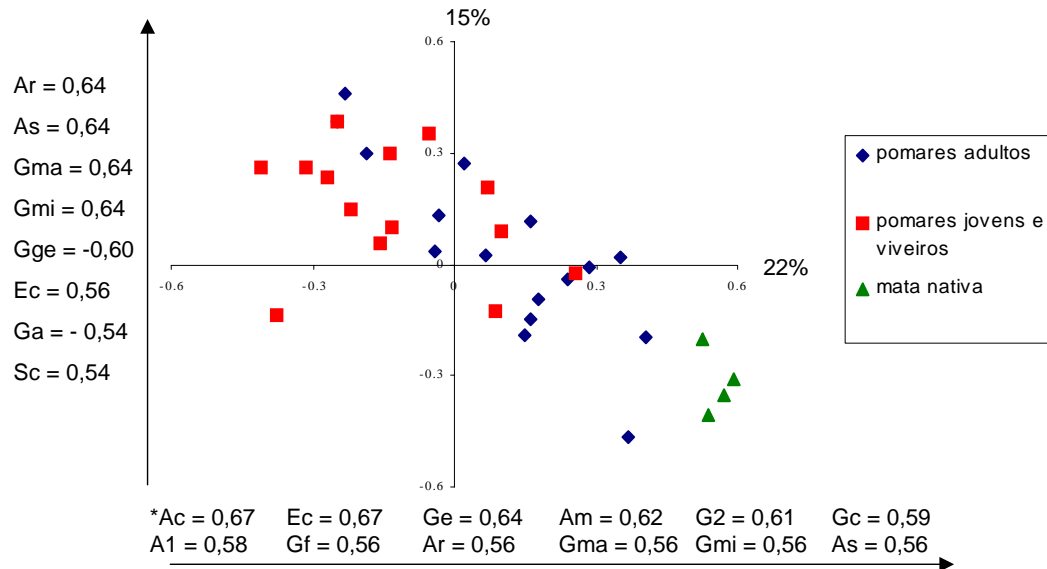


ausência, utilizados para a elaboração das matriz de espécies foi adequado, apresentando melhor correlação com os morfotipos observados. Portanto, à medida que se verificou o maior número de morfotipos, verificou-se o aumento da presença de espécies de FMAs.

Observou-se também que a matriz de semelhança dos morfotipos com variáveis binárias apresentou correlação significativa de 0,34 com a matriz de semelhança de grupos de gêneros. O mesmo resultado observado para as correlações das matrizes de espécies com a de grupos de gêneros (Tabela 3).

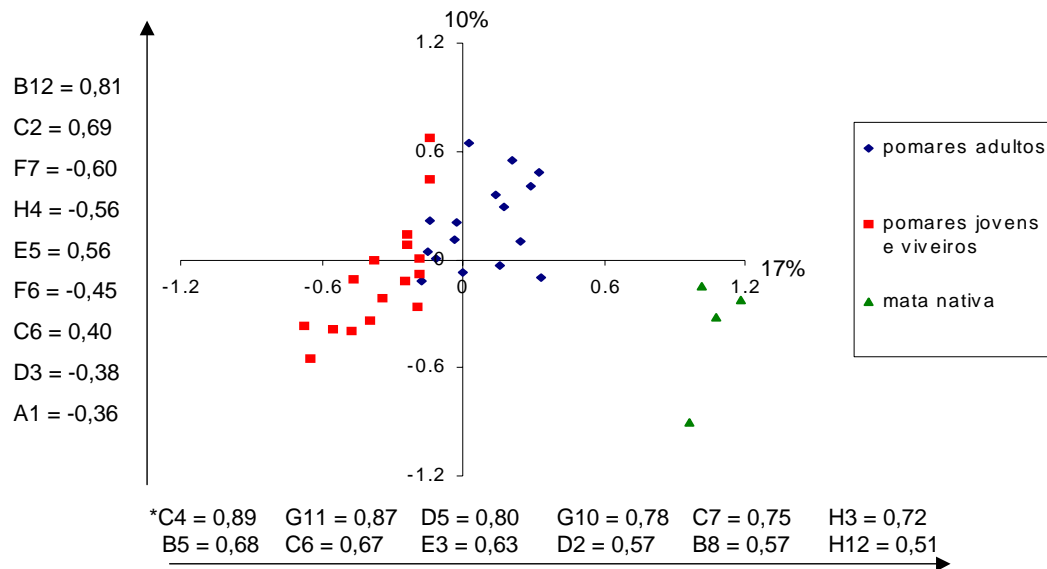
Da mesma forma que os morfotipos a matriz de gêneros transformada para presença e ausência de espécies também mostrou maior correlação (0,35) com a matriz de espécies elaborada a partir dos critérios de presença e ausência (Tabela 3).

Ordenações obtidas a partir das matrizes de descrição das comunidades de FMAs (morfotipos, grupos de gêneros e espécies), quando comparadas entre si, mostraram a mesma configuração, apresentando três grupos. As unidades amostrais pertencentes à mata nativa formaram um grupo distinto em todas as análises. Os outros dois grupos formaram-se em função da região de origem das unidades amostrais e idade dos pomares, apresentando uma nítida separação entre pomares adultos e os pomares jovens e viveiros, principalmente para morfotipos e grupos de gêneros (Figuras 2 e 3). Para espécies (Figura 1), esta separação não é tão nítida, mas os maiores números de unidades amostrais de cada região agrupadas demonstram a diferença entre suas comunidades.



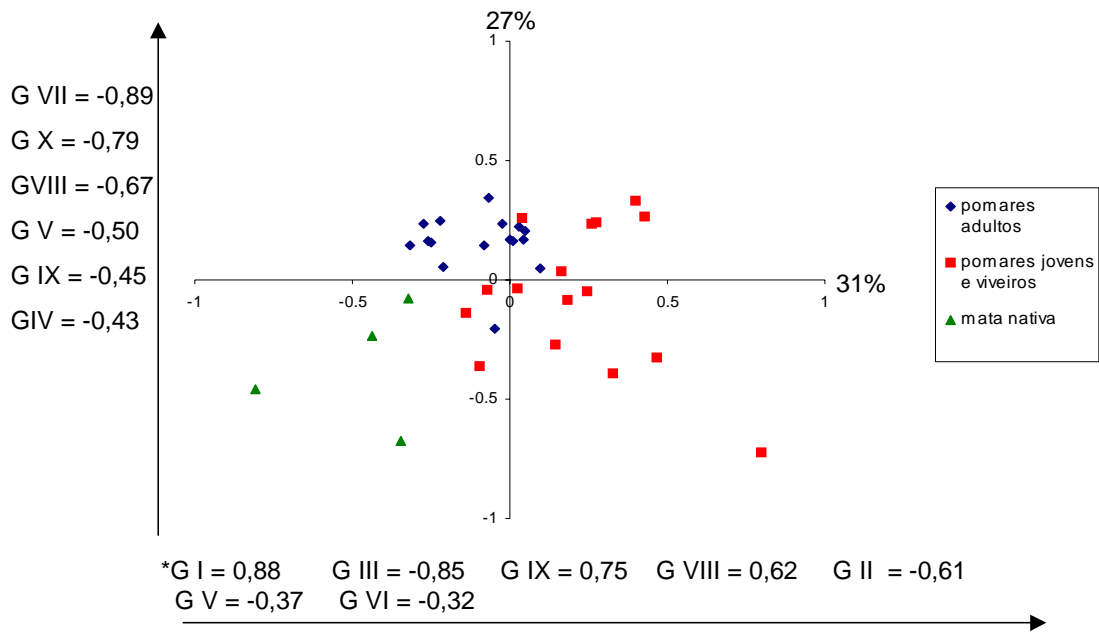
\* A1 = Acaulospora sp 1, Ac = A . aff capsicola, Am = A . mellea, Ar = A . rehmi,  
As = A . scrobiculata, Ec = Entrophospora colombiana, G2 = Glomus sp2, Gc = G. claroideum,  
Gf = glomus fasciculatum, Ge = G. etunicatum, Gge = G. geosporum, Gma = G. macrocarpum,  
Gmi = G. microaggregatum, Ga = G. australe, Sc = Scutellospora cerradensis

Figura 1 - Diagrama de dispersão obtido por ordenação de 36 unidades amostrais pertencentes a pomares, viveiros e mata nativa descritas por 24 espécies de FMA. Os eixos foram obtidos por análise de componentes principais a partir da correlação entre variáveis. As unidades amostrais estão identificadas de acordo com o ecossistema e a região de origem.



\*morfortipos = esporos de FMAs separados por tamanho, cor, forma, transparência e brilho

Figura 2 - Diagrama de dispersão obtido por ordenação de 36 unidades amostrais pertencentes a pomares, viveiros e mata nativa descritas por 47 morfortipos de FMAs. Os eixos foram obtidos por análise de componentes principais a partir da correlação entre variáveis. As unidades amostrais estão identificadas de acordo com o ecossistema e a região de origem.



\*grupos de gêneros = grupos de morfotipos formados por gêneros em comum.

Figura 3 - Diagrama de dispersão obtido por ordenação de 36 unidades amostrais pertencentes a pomares, viveiros e mata nativa descritas por 9 grupos de gêneros de FMAs. Os eixos foram obtidos por análise de componentes principais a partir da correlação entre variáveis. As unidades amostrais estão identificadas de acordo com o ecossistema e a região de origem.

Na ordenação obtida a partir dos morfotipos, verificou-se que os morfotipos C4, G11, D5, G10, C7, H3, B5, C6, E3, D2, B8, H12, B12, C2 e E5, foram mais presentes nas unidades amostrais da mata nativa e pomares adultos (Figura 2). O morfotipo C4 representa a espécie *G. geosporum*, o G11 as espécies *G. fasciculatum*, *G. versiforme* e *S. heterogama*, o D5 as espécies *A. capsicola*, *A. mallea*, *G. fasciculatum*, *G. claroideum*, *G. macrocarpum* e *G. microagregatum*, o G10 a espécie *G. macrocarpum*, o C7 a espécie *Glomus sp1*, o H3 as espécies *A. foveata* e *Glomus sp2*, o B5 as espécies *Gigaspora sp1* e *G. microagregatum*, o D2 as espécies *A. rehmi*, *G. claroideum*, *G. etunicatum*, *G. macrocarpum* e *G. microagregatum*, o B8 as espécies *A. rehmi*, *E. infrequens*, *G. macrocarpum*, *G. microagregatum* e *S. heterogama*, o H12 a espécie *Acaulospora sp1*, o B12 as

espécies *G. etunicatum* e *G. glomerulatum*, o C2 as espécies *A. birreticulata*, *G. etunicatum* e *G. microagregatum* e o E5 a espécie *G. macrocarpum*. Observando-se todas as espécies que estes morfotipos representam, *G. geosporum*, *G. fasciculatum*, *G. versiforme*, *S. heterogama*, *G. macrocarpum*, *G. microagregatum*, *Glomus sp1*, *A. foveata*, *Glomus sp2*, *A. birreticulata*, *G. australe*, *A. mallea*, *Gigaspora sp1*, *A. rehmi*, *G. claroideum*, *G. glomerulatum*, *E. infrequens* e *Acaulospora sp1*, verifica-se que praticamente todas as espécies mais presentes nos pomares adultos e mata nativa estão representadas pelos morfotipos, com exceção da espécie *A. scrobiculata*.

Para os pomares jovens e viveiros os morfotipos mais presentes foram o F7, H4, F6, D3, A1 e G2 (Figura 2). O morfotipo F7 corresponde a espécie *S. heterogama*, o H4 as espécies *A. birreticulata*, *A. scrobiculata*, *G. microagregatum* e *S. heterogama*, o F6 as espécies *G. microagregatum* e *S. heterogama*, o D3 as espécies *A. birreticulata* e *Gigaspora sp*, o A1 a espécie *Acaulospora sp1* e o *Glomus sp2* a espécie *G. microagregatum*. Observando-se todas as espécies que estes morfotipos representam, *S. heterogama*, *A. birreticulata*, *G. microagregatum*, *Gigaspora sp* e *Acaulospora sp1*, verifica-se que apenas *A. scrobiculata* e *G. microagregatum* estão representadas pelos morfotipos.

Na ordenação obtida a partir de grupos de gêneros, verificou-se que os grupos 1, 2 e 3 estavam associados às unidades amostrais pertencentes à mata nativa e aos pomares adultos (Figura 3). Esses três grupos representam a esporulação de todas as espécies de *Acaulospora* e *Glomus* identificadas no trabalho (Quadro 2). A maior esporulação desses grupos explicaria a maior presença de espécies destes gêneros nas unidades amostrais da mata nativa e pomares adultos, verificadas nas

ordenações obtidas a partir da presença e ausência de espécies e morfotipos (Figuras 1 e 2).

Para os pomares jovens e viveiros os grupos mais associados foram o 8 e o 9. Estes dois grupos representam a esporulação das espécies *A. birreticulata*, *A. rehmi*, *A. scrobiculata*, *Glomus sp2*, *G. mosseae*, *G. microagregatum*, *S. cerradensis* e *S. heterogama*. Portanto a maior esporulação dessas espécies confirma o que foi observado nas ordenações obtidas a partir da presença e ausência de espécies e morfotipos, onde verificou-se que as espécies mais associadas aos pomares jovens e viveiros foram *A. birreticulata*, *A. scrobiculata*, *G. microagregatum*, *S. cerradensis* e *S. heterogama* (Figuras 1 e 2).

Através da Análise de Variância Multivariada das comunidades de FMAs descritas pelos morfotipos, grupos de gêneros e presença e ausência de espécies, observaram-se resultados semelhantes para todas as análises efetuadas. Quando as unidades amostrais foram agrupadas de acordo com a região de origem, as comunidades de FMAs presentes nos pomares adultos mostraram-se significativamente diferentes das comunidades de FMAs presentes nos pomares jovens e viveiros. Este resultado foi obtido para os três tipos de descritores das comunidades (Tabela 4). Quando os contrastes foram realizados em função do manejo, os mesmos resultados foram obtidos para os três tipos de descritores. As comunidades de FMAs dos pomares orgânicos adultos e convencionais adultos diferiram significativamente do pomar jovem orgânico. Os demais contrastes entre pomares e viveiros não apresentaram diferenças significativas. Considerando-se os diferentes tipos de ecossistemas, a mata nativa apresentou diferença significativa em relação a todos os contrastes com pomares e viveiros (Tabela 4).

Tabela 4 – Síntese das Análises de Variância Multivariada com Teste de Aleatorização de 36 unidades amostrais, pertencentes a pomares, viveiros e mata nativa, descritas por ausência e presença de espécies, morfotipos e grupo de gêneros de FMAs.

Critérios para os contrastes	Ecossistemas	
Regiões	Mata nativa	a*
	Pomares adultos	b
	Pomares jovens e viveiros	c
Manejo	Mata nativa	a
	Pomares adultos orgânicos	b
	Pomares adultos convencionais	b
	Pomar jovem e viveiro convencionais	b c
	Pomar jovem e viveiro orgânicos	c

\* Ecossistemas seguidos de mesma letra não diferem significativamente quanto a composição das comunidades de FMAs, independentemente do atributo descritivo ( $p \leq 0,07$ );

Todas as análises realizadas demonstram haver forte correlação entre os descritores das comunidades de FMAs. Logo a matriz elaborada pela presença e ausência de espécies de FMAs pode ser considerada um bom descritor das comunidades de FMAs.

A ocorrência de espécies, obtida através da presença e ausência de espécies, tem sido a característica mais utilizada para a descrição das comunidades de FMAs (Douds & Millner, 1999). Esta predominância explica-se pelas dificuldades de se trabalhar com a identificação de esporos de FMAs oriundos do campo, principalmente por se apresentarem, muitas vezes, em diferentes estágios de seu desenvolvimento, pela presença de espécies que não foram descritas, por

apresentarem-se parasitados ou por faltarem as características morfológicas que os distinguem (Abbott & Robson, 1991; Douds & Millner, 1999).

Apesar da utilização de poucas características para separação dos esporos de FMAs, o trabalho apresentou uma síntese das espécies de FMAs que ocorrem nos locais avaliados. Trabalhos baseados somente em morfotipos poderiam ser utilizados para determinar a estabilidade dos ambientes. Conforme viu-se anteriormente, a separação por morfotipos tem boa correlação com número de espécies e esporulação das mesmas. Assim, ambientes mais estáveis tendem a favorecer a esporulação de maior número de espécies, devido à diversidade de nichos ecológicos, presença constante de hospedeiros e pela ausência de variações bruscas nas características do solo (Siqueira et al., 1989; Douds et al., 1995; Cuenca et al., 1997). Nesses ambientes existe, provavelmente, maior riqueza de tipos morfológicos de FMAs, esporos em diferentes estágios de desenvolvimento e maior número de espécies esporulando (Siqueira et al., 1989; Abbott & Robson, 1991; Douds & Millner, 1999). Portanto em determinada amostra, a comparação entre o número de morfotipos presentes em cada comunidade pode ser um indício de estabilidade, diversidade e riqueza local.

Estudos de comunidades de FMAs requerem grande estrutura, geralmente montada durante um longo período, a fim de que os pesquisadores tenham oportunidade de familiarizarem-se com as espécies de determinado local. Esta estrutura compreende a identificação das espécies coletadas na área em estudo e elaboração de culturas armadilhas com solo oriundo do campo, bem como culturas-armadilhas puras, com apenas uma espécie de FMAs. Apenas quando todo esse aparato é montado e a familiaridade com as espécies existe, experimentos

envolvendo diversos sistemas produtivos podem ser realizados (Douds & Millner, 1999). Porém, estudos conduzidos com culturas armadilhas são dispendiosos, difíceis de ser executados e muitas vezes não apresentam resultados conclusivos (Douds & Millner, 1999; Colozzi & Cardoso, 2000; Redecker, 2002)

Apesar disso, trabalhos conduzidos com maior rigor na identificação de espécies de FMAs de determinadas comunidades, possibilitam maior informação a respeito das preferências das espécies quanto à esporulação. Porém, não podem dizer muito em relação à contribuição destas espécies para a biomassa no solo e sobre a comunidade ativa (Abbott & Robson, 1991; Douds & Millner, 1999; Colozzi & Cardoso, 2000; Redecker, 2002).

Novas técnicas de mensuração dos FMAs têm sido desenvolvidas, como a identificação por testes imunológicos, enzimáticos e moleculares. Estes testes possibilitam identificar e quantificar as espécies de FMAs tanto no solo como nas raízes (Douds & Millner, 1999; Colozzi & Cardoso, 2000; Redecker, 2002). Mas, por ainda estarem em desenvolvimento, têm apresentado alguns problemas para a aplicação generalizada em estudos de campo (Douds & Millner, 1999; Redecker, 2002). Dessa forma, o método clássico de identificação parece ser atualmente o método mais indicado para trabalhos com FMAs (Douds & Millner, 1999). Mas a superação das dificuldades com os estudos de ecologia dos FMAs passa, necessariamente, pela integração das técnicas de identificação de espécies e mensuração da biomassa destes organismos (Colozzi & Cardoso, 2000; Redecker, 2002).



#### **4.2 - Ocorrência de gêneros e espécies de FMAs em pomares e viveiros de citros**

Foi observada a presença de 26 espécies de FMAs no estudo. O gênero *Glomus* apresentou o maior número de espécies, 12 espécies, seguido dos gêneros *Acaulospora* (7), *Scutellospora* (4), *Entrospora* (2) e *Gigaspora* (1) (Tabela 5). Nemeček et al (1981) na Califórnia e Flórida, Schubert et al. (1993), na Itália, Oliveira et al (1995), em Sergipe, e Souza et al (2002), no Rio Grande do Sul, também encontraram a predominância de espécies do gênero *Glomus* em pomares e viveiros de citros. Já Caldeira et al (1983) e Siqueira et al (1989) em Minas Gerais e Weber et al (1994) nos estados da Bahia e de Sergipe, avaliando pomares e viveiros de citros, encontraram a predominância de espécies do gênero *Acaulospora*, seguida do gênero *Glomus*. De certa forma, os resultados encontrados nesse trabalho correspondem aos observados por Souza et al (2002) em estudo semelhante realizado na região citrícola do Rio Grande do Sul, onde verificou-se maior número de espécies de *Glomus*, seguido de *Acaulospora*, *Scutellospora* e *Entrospora*.

Em relação à distribuição das espécies nas diferentes áreas amostradas, observou-se que *G. microaggregatum* foi encontrado com maior frequência nas amostras, aparecendo em todas as unidades amostrais (100%) seguido de *G. macrocarpum* (98%), *Acaulospora rehmsii* (96%), *A. birreticulata* (96%), *A. scrobiculata* (90%), *G. etunicatum* (88%), *A. mallea* (88%), *Entrophospora colombiana* (87%), *Scutellospora heterogama* (87%), *G. glomerulatum* (83%) e *G. claroideum* (75%) (tabela 5). Na avaliação de espécies realizada por Souza et al (2002) em pomares e viveiros de citros na região citrícola do Rio Grande do Sul, foram observadas 10 espécies de FMAs, sendo a mais frequente *G. macrocarpum*,

aparecendo em 95% das unidades amostrais seguido de *S. heterogama* (86%), *A. birreticulata* e *A. scrobiculata* (41%) e *E. colombiana* (27%).

Tabela 5 – Ocorrência relativa de espécies de FMAs em 52 unidades amostrais coletadas durante os meses de agosto/2001, outubro/2001, março/2002 e agosto/2002.

Espécies	Ocorrência (%) Total (n=52)	Ocorrência (%) Pomares adultos (n=36)	Ocorrência (%) Pomares jovens e viveiros (n=16)
<i>Glomus microaggregatum</i>	100	100	100
<i>Glomus macrocarpum</i>	98	100	94
<i>Acaulospora rehmsii</i>	96	97	94
<i>Acaulospora birreticulata</i>	96	94	100
<i>Acaulospora scrobiculata</i>	90	86	100
<i>Glomus etunicatum</i>	88	100	63
<i>Acaulospora mellea</i>	88	97	69
<i>Entrophospora colombiana</i>	87	86	88
<i>Scutellospora heterogama</i>	87	83	94
<i>Glomus glomerulatum</i>	83	94	56
<i>Glomus claroideum</i>	75	83	56
<i>Entrophospora infrequens</i>	58	67	38
<i>Glomus aff. fasciculatum</i>	52	56	44
<i>Scutellospora cerradensis cf.</i>	52	42	75
<i>Glomus aff. australe</i>	42	50	25
<i>Glomus geosporum</i>	38	39	38
<i>Gigaspora sp 1</i>	38	44	6
<i>Acaulospora aff. capsicula</i>	33	44	6
<i>Glomus aff. versiforme</i>	33	33	31
<i>Glomus aff. mosseae</i>	27	25	31
<i>Glomus sp 1</i>	25	36	0
<i>Glomus sp 2</i>	17	22	6
<i>Acaulospora foveata</i>	17	19	13
<i>Acaulospora sp 1</i>	10	11	6
<i>Scutellospora nodosa cf.</i>	-	-	-
<i>Scutellospora pellucida</i>	-	-	-

1 – Total de 52 unidades amostrais (n), sendo 36 para os pomares adultos e 16 para os pomares jovens e viveiros;

2 – Os pomares adultos estão localizados as margens da RST 470 Km 4,5 e os pomares jovens e viveiros estão localizados no Centro de Treinamento da Emater (CTE).

As diferenças observadas entre este trabalho e o de Souza et al. (2002), em relação a ocorrência e o número de espécies identificadas, estão relacionados ao número de amostras e abrangência do trabalho. Abbott & Robson (1991) destacam que o aumento de unidades amostrais por área, amostragens em diferentes épocas do ano e o menor número de regiões coletadas possibilitam observar maior diversidade de espécies de FMAs. As diferenças entre o tamanho da amostra e abrangência regional também pode ser observado nos trabalhos de Weber et al (1994) e Oliveira et al (1995). No primeiro estudo formou-se uma amostra a partir de 48 unidades amostrais distribuídas em 3 regiões citrícolas, pertencentes aos estados da Bahia e de Sergipe. Verificou-se a predominância de *Acaulospora*. No segundo trabalho, a amostra foi composta de 50 unidades amostrais retiradas de uma região citrícola, no estado de Sergipe. Nesse levantamento, observou-se a predominância de *Glomus*.

Trabalhos regionais para a determinação da predominância e diversidade de espécies de FMA são importantes, em função da especificidade ambiental de suas comunidades. As espécies respondem a condições específicas de clima, solo e planta, conforme observado nos trabalhos de Nemec et al (1981), Siqueira et al (1989), Schubert et al (1993), Weber et al (1994), Oliveira et al (1995) e Souza et al (2002).

De uma forma geral, as espécies dos gêneros *Acaulospora* e *Glomus* são predominantes em pomares e viveiros de citros no Brasil.

### 4.3 -Correlação entre a ocorrência de FMAs e as características químicas do solo.

A adição de composto orgânico ao solo determinou maior valor de pH e maiores teores de MO, Ca e Mg. Já o manejo convencional determinou maiores valores de P e K. A mata nativa possui os menores valores para todas as características do solo (tabela 6). Quando o conjunto das características do solo foi considerado para diferenciar os manejos e épocas de implantação dos pomares e viveiros, os pomares adultos, com manejo orgânico, apresentaram diferença significativa dos demais pomares e viveiros. Da mesma forma, a mata nativa também apresenta diferença significativa dos pomares e viveiros (tabela 6).

Tabela 6 – Características químicas do solo de 36 unidades amostrais pertencentes a mata nativa e a pomares e viveiros de citros com manejo convencional e orgânico. As unidades amostrais foram coletadas no mês de março/2002.

Ecossistemas	Características químicas do solo (teor médio)							
	pH	MO (%)	P (mg Kg <sup>-1</sup> )	K (mg Kg <sup>-1</sup> )	Ca (cmol <sub>c</sub> Kg <sup>-1</sup> )	Mg (cmol <sub>c</sub> Kg <sup>-1</sup> )	Umidade (% mm <sup>-1</sup> )	
Pomares adultos orgânicos	6.2	4.8	60.6	35.0	65.3	16.6	16.6	a*
Pomar jovem e viveiro orgânicos	6.3	1.9	76.8	60.0	19.0	6.3	12.9	b
Pomar jovem e viveiro convencionais	5.5	1.5	90.1	73.0	8.5	13.4	11.3	b c
Pomares adultos convencionais	5.5	2.1	88.1	86.1	7.5	11.0	8.8	c
Mata Nativa	5.0	2.1	7.8	16.0	5.0	7.8	12.5	d

\* linhas de valores seguidos de mesma letra não diferem significativamente pelo Teste de Aleatorização ( $P \leq 0,05$ );

Algumas espécies de FMAs apresentaram correlação significativa com as características químicas do solo. *Acaulospora capsícola* apresentou correlação significativa com Ca, *Acaulospora mellea* e *Entropora colombiana* com P, *Entrospora infrequens* com P e umidade, *Gigaspora sp 1* e *Glomus sp 1* com P e K, *Glomus sp 2* e *G. australe* com pH e P, *G. versiforme* com pH e Ca, *G. etunicatum* com pH e *G. geosporum* com MO, P, K e umidade (tabela 7).

Portanto, verificou-se menor ocorrência das espécies *Acaulospora mellea*, *Entropora colombiana*, *Entrospora infrequens*, *Gigaspora sp 1*, *Glomus sp 2* e *G. geosporum* em ambientes com menores teores de P. Já as espécies *Acaulospora sp 1*, *A. birreticulata*, *A. foveata*, *A. rehmi*, *A. scrobiculata*, *G. fasciculatum*, *G. mossea*, *G. claroideum*, *G. glomerulatum*, *G. macrocarpum*, *G. microagregatum*, *Scutelospora cerradensis* e *S. heterogama* apresentaram-se indiferentes a qualquer característica do solo.

Diversos trabalhos têm demonstrado que as espécies de *Gigaspora* ocorrem e esporulam em ambientes de menor fertilidade, com pH inferior a 6 e menores teores de P e MO (Siqueira et al., 1989; Johnson et al., 1992; Johnson, 1993; Colozzi & Cardoso, 2000). Da mesma forma, *Acaulospora mellea* e *G. etunicatum* preferem ambientes com menores teores de P (Siqueira et al., Antunes e Cardoso et al., 1990). Por outro lado, também tem sido verificado que *A. scrobiculata*, *G. macrocarpum*, *G. mossea*, *G. fasciculatum* e *G. claroideum* são indiferentes aos níveis de fertilidade do solo (Siqueira et al., 1989; Antunes & Cardoso, 1990; Johnson et al. 1992, Johnson, 1993; Weber & Oliveira, 1994; Colozzi & Cardoso, 2000).

Tabela 7 – Coeficientes de correlação entre a ocorrência de espécies de FMAs e as características químicas do solo de 36 unidades amostrais pertencentes a mata nativa e a agroecossistemas cultivados com citros no mês de março/2002.

Espécies FMAs	Características químicas do solo						
	PH	MO	P	K	Ca	Mg	Um
<i>Acaulospora sp 1</i>	-0.19	0.24	-0.25	0.03	0.07	0.05	0.06
<i>Acaulospora aff. capsicula</i> G.	-0.11	0.21	-0.26	<b>-0.30<math>\tau</math></b>	0.16	0.08	-0.19
<i>Acaulospora bireticulata</i>	-0.09	-0.09	-0.05	-0.13	0.02	0.07	0.07
<i>Acaulospora foveata</i>	-0.20	-0.01	0.04	0.19	-0.18	0.08	-0.12
<i>Acaulospora mellea</i>	0.02	0.25	<b>-0.40*</b>	-0.19	0.15	-0.08	-0.09
<i>Acaulospora rehmi</i>	0.02	0.11	-0.34	-0.13	0.07	-0.08	0.10
<i>Acaulospora scrobiculata</i>	0.02	0.11	-0.34	-0.13	0.07	-0.08	0.10
<i>Entrophospora infrequens</i>	-0.10	0.21	<b>-0.45**</b>	-0.17	0.02	0.13	<b>0.42**</b>
<i>Entrophospora colombiana</i>	0.01	0.16	<b>-0.29<math>\tau</math></b>	-0.16	0.11	-0.15	-0.03
<i>Gigaspora sp 1</i>	0.04	0.05	<b>-0.28<math>\tau</math></b>	<b>-0.35*</b>	0.02	-0.12	0.03
<i>Glomus sp 1</i>	-0.16	0.05	<b>-0.42**</b>	<b>-0.30<math>\tau</math></b>	0.11	0.01	-0.09
<i>Glomus sp 2</i>	<b>-0.45**</b>	-0.01	<b>-0.28<math>\tau</math></b>	-0.11	-0.19	-0.07	0.16
<i>Glomus aff. australe</i>	<b>-0.42**</b>	0.03	<b>-0.35*</b>	-0.04	-0.24	0.06	0.23
<i>Glomus aff. fasciculatum</i>	0.18	0.07	-0.13	-0.21	0.07	0.15	-0.11
<i>Glomus aff. mosseae</i>	0.04	0.14	-0.15	-0.12	0.23	-0.10	-0.06
<i>Glomus aff. versiforme</i>	<b>0.32*</b>	0.17	0.03	-0.21	<b>0.31<math>\tau</math></b>	0.25	-0.13
<i>Glomus claroideum</i>	-0.13	0.13	-0.16	-0.16	0.01	0.05	0.17
<i>Glomus etunicatum</i>	<b>-0.30<math>\tau</math></b>	0.20	<b>-0.31<math>\tau</math></b>	-0.09	0.10	0.15	-0.02
<i>Glomus geosporum</i>	-0.23	<b>0.37**</b>	<b>-0.47**</b>	<b>-0.37*</b>	0.06	0.21	<b>0.36*</b>
<i>Glomus glomerulatum</i>	-0.23	0.16	-0.09	0.06	0.13	0.24	-0.17
<i>Glomus macrocarpum</i>	0.02	0.11	-0.34	-0.13	0.07	-0.08	0.10
<i>Glomus microaggregatum</i>	0.02	0.11	-0.34	-0.13	0.07	-0.08	0.10
<i>Scutellospora cerradensis cf.</i>	-0.23	-0.04	-0.26	-0.07	-0.06	-0.28	0.02
<i>Scutellospora heterogama</i>	0.04	-0.18	-0.01	0.12	-0.24	-0.08	-0.05

$\tau$  p  $\leq$  0,1, \* 0,05 e \*\* 0,01 (significância dos coeficientes de correlação)

#### 4.4 – Ocorrência de espécies nos diferentes ecossistemas

Em relação a ocorrência de espécies de FMAs, a mata nativa forma um grupo de unidades amostrais bem distinto dos pomares e viveiros (Figura 1). Observa-se também uma separação entre as unidades amostrais pertencentes aos pomares adultos e as unidades amostrais pertencentes aos pomares jovens e viveiros.

Essas diferenças se dão principalmente pelo maior número de espécies de *Glomus* e *Acaulospora* encontrados na mata nativa e nos pomares adultos, com destaque para as espécies *Acaulospora capsicola*, *Entrofospora colombiana*, *Glomus etunicatum*, *A. mellea*, *Glomus sp2*, *G. claroideum*, *Acaulospora sp 1*, *G. fasciculatum*, *A. scrobiculata*, *G. geosporum* e *G. australe* (Figura 1).

Ao efetuar-se a Análise de Variância com os contrastes definidos entre ecossistemas, regiões e tipos de manejo, verificou-se que ocorre diferença significativa para as comunidades pertencentes a mata nativa em relação aos pomares e viveiros e entre as regiões onde se localizam os pomares adultos e os pomares jovens e viveiros. Mas, quando foram considerados os contrastes entre manejo, convencional e orgânico, não houve diferença significativa entre as comunidades de FMAs (Tabela 4), apesar das modificações nas características do solo determinadas pelas aplicações dos adubos orgânicos (Tabela 6).

Sistemas produtivos conduzidos com práticas conservacionistas, utilizando rotação de culturas, plantas de cobertura e adubações orgânicas, têm mostrado maior colonização radicular, fonte de inóculos, número de esporos, diversidade e riqueza de espécies de FMAs (Douds et al., 1993; Kurlle & Pflieger, 1994; Rosales & Valdés, 1996). Franke-Snyder et al. (2001) trabalhando com soja e milho em

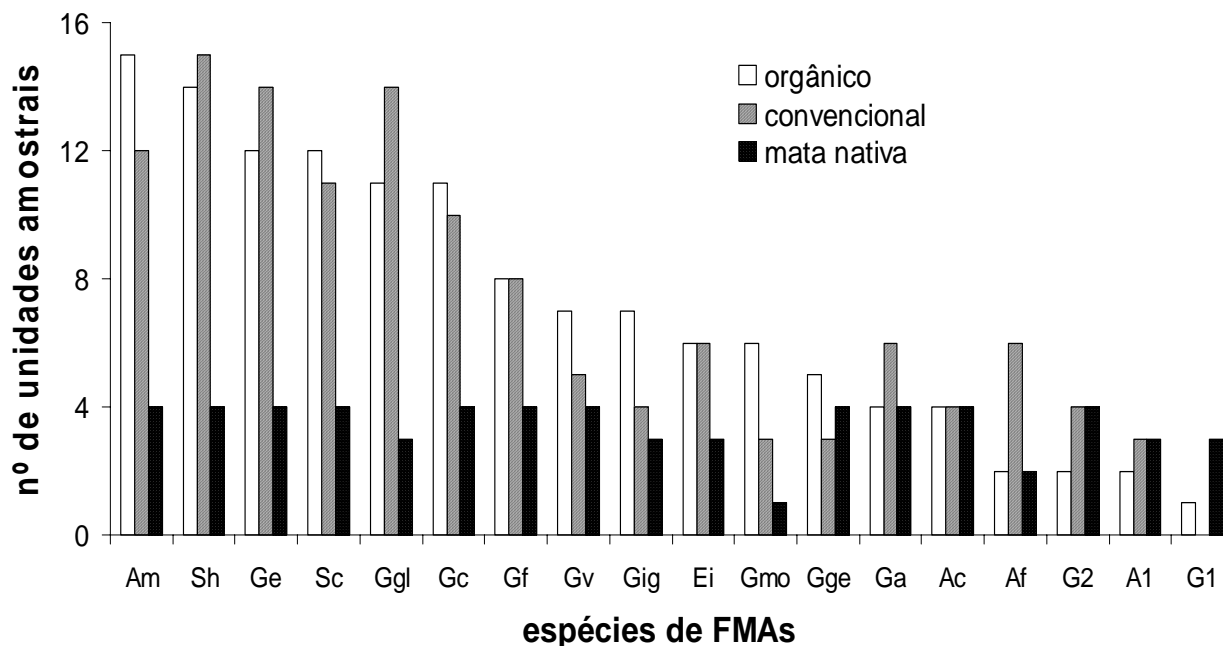
diferentes sistemas produtivos conduzidos com manejo convencional e orgânico, num experimento de longa duração, observou que a riqueza, a diversidade e as comunidades de FMAs também não diferiram entre os tratamentos. Kurle & Pflieger (1996) e Vestberg et al. (1999) também não notaram aumento significativo na diversidade de FMAs devido à utilização de manejos orgânicos.

Diversos trabalhos apontam para a inexistência de especificidade de espécies de FMA quanto ao tipo de ecossistema (ambientes naturais ou antrópicos), ou seja, a estrutura geral das comunidades de FMAs não é alterada, apenas a frequência e abundância dessas espécies é modificada pelo ambiente (Cuenca et al., 1997; Allen et al., 1998; Franke-Snyder et al., 2001). Dessa forma, as espécies podem estar presentes nos ambientes; contudo, devido à reduzida capacidade de colonização e produção de inóculos, sua detecção fica prejudicada. Portanto as espécies mais agressivas e menos suscetíveis a mudanças adaptam-se rapidamente às novas condições impostas, naturalmente ou não, e tendem a ocorrer de forma generalizada. Assim as espécies *Acaulospora birreticulata*, *A. rehmi*, *A. scrobiculata*, *Entrophospora colombiana*, *Glomus macrocarpum*, *G. microaggregatum* e *Scutellospora heterogama*, quanto à esporulação, podem ser consideradas espécies indiferentes aos fatores ambientais (tabela 5); as demais espécies teriam alguma preferência e/ou seriam mais sensíveis a mudanças ambientais.

As espécies *Acaulospora mallea*, *Glomus versiforme*, *Gigaspora sp 1*, *G. mosseae*, *G. geosporum* e *Glomus sp1* mostram certa preferência por ambientes naturais e por sistemas produtivos manejados organicamente (Figura 4). Siqueira et al (1989) e Cuenca et al (1997) observaram que *Scutellospora* e *Gigaspora* são mais frequentes em ambientes naturais. Franke-Snyder et al (2001) também observaram



que algumas espécies respondem aos tipos de manejo e hospedeiros, sendo que *Gigaspora gigantea*, *Glomus mosseae* e *Glomus geosporum* foram mais freqüentes nos sistemas produtivos orgânicos. Da mesma forma, muitos trabalhos mostram que *Gigaspora gigantea* está mais associado a ambientes naturais e a sistemas produtivos orgânicos (Douds et al., 1997; Douds & Miller, 1999).



Am = *A. mallea*, Sh = *S. heterogama*, Ge = *G. etunicatum*, Sc = *S. cerradensis*, Ggl = *G. glomerulatum*, Gc = *G. calaroideum*, Gf = *G. fasciculatum*, Gv = *G. versiforme*, Gig = *Gigaspora sp1*, Ei = *E. infreques*, Gmo = *G. mosseae*, Gge = *G. geosporum*, Ga = *G. australe*, Ac = *A. capsicola*, Af = *A. foveata*, G2 = *Glomus sp 2*, A1 = *Acaulospora sp1*, G1 = *Glomus sp1*.

Figura 4 – Ocorrência de espécies de FMAs em 36 unidades amostrais pertencentes à mata nativa e a pomares e viveiros de citros, com manejo orgânico e convencional, localizados no município de Montenegro/RS. As unidades amostrais foram coletadas no mês de março/2002.

Observando a tabela 4, as espécies *Glomus australe*, *G. geosporum*, *A. capsicola*, *Glomus sp 2*, *A. fasciculatum*, *Acaulospora sp 1* e *Glomus sp 1* possuem baixa freqüência na região onde se localizam os pomares jovens e viveiros. A aração realizada para a implantação dos pomares e viveiros jovens pode ter contribuído

para a seleção de determinadas espécies de FMA (Douds et al, 1995). A perturbação causada pela aração pode ter diminuído a capacidade infectiva dos FMA, devido à compactação do solo e à diminuição do sistema radicular, que rompe a rede de hifas no solo (Jasper et al, 1989 citado por Abbott, 1991). Também a mudança da composição botânica faz com que algumas espécies de FMA percam seus hospedeiros preferenciais (Munyanziza et al, 1997). Dessa forma, algumas espécies mais sensíveis a mudanças apresentam dificuldades em esporular. Dependendo do grau de perturbação, determinadas espécies podem ficar durante muito tempo sem esporular ou até mesmo desaparecer do local. Cuenca et al (1997) atribuíram a falta de alguma espécies de FMAs em locais altamente perturbados à suscetibilidade das mesmas à perturbação e a pouca diversidade vegetal presente nos locais em recuperação.

Também observou-se maior riqueza de espécies na mata nativa em relação aos pomares e viveiros de citros, independente do manejo (Tabela 8). Siqueira et al. (1989), Cuenca et al. (1997) e Allen et al. (1998) também observaram maior riqueza e diversidade de espécies de FMAs em ambientes naturais, principalmente florestas. A estabilidade dos ambientes naturais garante a sobrevivência de diversas espécies de FMAs, principalmente aquelas com baixa capacidade de esporulação e colonização radicular, devido à maior diversidade de espécies hospedeiras e menor variação nas características do solo (Siqueira, 1989). Da mesma forma, os cultivos perenes, em função do tempo de produção, podem apresentar estabilidade semelhante ao ambiente natural, possibilitando maior diversidade de espécies hospedeiras e ausência de variações bruscas nas características do solo (Odum, 1983; Siqueira et al., 1989; Rosales e Valdés, 1996).

Tabela 8 – Riqueza de espécies de FMAs de 36 unidades amostrais pertencentes a pomares, viveiros e mata nativa localizados no município de Montenegro/RS. As unidades amostrais foram coletadas no mês de março/2002.

Ecosistemas	Riqueza	
Mata Nativa (n=4)**	21,5	a*
Pomares adultos orgânicos (n=8)	15,75	b
Pomares adultos convencionais (n=8)	15	b c
Pomar jovem e viveiro convencionais (n=8)	12,25	c
Pomar jovem e viveiro orgânicos (n=8)	12	c

\*Valores médios de riqueza seguidos de mesma letra não diferem significativamente pelo Teste de Aleatorização ( $P \leq 0,02$ );

\*\* números de unidades amostrais coletadas nas respectivas áreas.

A inexistência de diferença entre as comunidades de FMAs quando considerado o tipo de manejo (Tabela 4) pode estar relacionada às características evolutivas dos locais. As áreas constituídas por pomares adultos estão, há dez anos com cultivo de citros e as áreas de pomares e viveiros jovens, com seis meses de idade, foram implantadas em locais onde havia pastagens com a predominância de *Eragrostis plana* Ness, *Cynodon dactylon* (L.) Pers e algumas espécies de *Paspalum* sp. Portanto a manutenção da cobertura vegetal e o aporte constante de nutrientes nos pomares adultos e o revolvimento do solo e a falta de hospedeiros nos pomares jovens e viveiros poderiam ser considerados fatores de homogeneização dos locais, determinando pouca influência do manejo sobre as comunidades de FMAs. Franke-Snyder et al. (2001) também consideram o elevado nível de fertilidade, o preparo do solo e o controle mecânico da vegetação espontânea como fatores de

homogeneização. Estes fatores podem ter contribuído para uma menor variação das comunidades de FMAs observadas nos diferentes sistemas agrícolas estudados.

Devido à ocorrência generalizada dos FMAs, futuros trabalhos deverão avaliar a eficiência simbiótica de determinadas comunidades de FMAs frente a sistemas produtivos conduzidos com práticas alternativas ou orgânicas, verificando a capacidade dessas comunidades em promover o crescimento e a saúde dos vegetais. Essa tarefa só será realizada complementando-se as técnicas atuais de identificação e mensuração de FMAs com técnicas mais modernas, como as oriundas da biologia molecular.

#### **4.5 - Porcentagem de colonização e quantificação de estruturas de FMAs em segmentos de raízes de citros**

Em 64 unidades amostrais pertencentes aos pomares e viveiros, observou-se que a porcentagem de colonização radicular variou de 29% a 100%, mas a maioria das unidades amostrais apresentou colonização radicular superior a 70% (Tabela 9). Souza et al. (2002), trabalhando na região citrícola do Rio Grande do Sul, também encontraram alta porcentagem de colonização radicular, variando de 62% a 86%. Já Siqueira et al (1989), na região citrícola do estado de Minas Gerais, Weber & Oliveira (1994), na Bahia e Sergipe, e Oliveira & Coelho (1995), em Sergipe, verificaram porcentagens de colonização radicular inferiores a 70%. Mas Schubert et al. (1993) na região de Metaponta (Italia), em pomares de citros, utilizando a mesma metodologia dos três trabalhos anteriores, observou porcentagens de colonização radicular superiores a 85% em todos os pomares estudados.

Tabela 9 – Porcentagem de colonização radicular de FMAs em segmentos de raízes de citros de 84 unidades amostrais pertencentes a pomares e viveiros com manejo convencional e orgânico pertencentes ao município de Montenegro/RS. As unidades amostrais foram coletadas nos meses de agosto/2001, outubro/2001, março/2002 e agosto/2002.

Agroecossistema	Colonização radicular (%)	
Pomar adulto convencional meia encosta (n=8)	97,0	a*
Pomar adulto convencional várzea (n=8)**	96,3	a
Pomar adulto orgânico meia encosta (n=18)	95,6	a
Pomar jovem convencional (n=8)	90,6	a
Viveiro orgânico (n=8)	90,2	a
Viveiro convencional (n=8)	87,6	a
Pomar adulto orgânico várzea (n=18)	73,5	b
Pomar jovem orgânico (n=8)	69,3	b

\*Valores médios de colonização radicular seguidos de mesma letra não diferem significativamente pelo Teste de Aleatorização ( $P \leq 0,03$ )

\*\* número de unidades amostrais para cada agroecossistema.

O pomar jovem orgânico e o pomar adulto orgânico da várzea apresentaram as menores porcentagens de colonização radicular (Tabela 9). O mesmo resultado foi observado para as estruturas de FMAs contidas nas raízes de citros (Tabela 10). Os pomares convencionais adultos localizados na meia encosta e na várzea apresentam os maiores índices para as estruturas contidas nas raízes de citros e o pomar jovem orgânico e o pomar adulto orgânico da várzea os menores índices. Mesmo assim, os valores observados para os índices de estruturas de FMAs nas raízes de citros são considerados altos, ao contrário do verificado por Souza et al. (2002), que quantificou índices baixos e médios.

Tabela 10 – Índices de presença de estruturas de FMAs em segmentos de raízes de citros de 84 unidades amostrais pertencentes a pomares e viveiros com manejo convencional e orgânico pertencentes ao município de Montenegro/RS. As unidades amostrais foram coletadas nos meses de agosto/2001, outubro/2001, março/2002 e agosto/2002.

Agroecossistema	Estruturas de FMAs			
	Vesículas <sup>(1)</sup>	Arbusculos <sup>(1)</sup>	Hifas <sup>(2)</sup>	
PCM (n=8):	1.22	2.07	2.5	a <sup>(3)</sup>
PCV (n=8):	1.18	1.97	2.35	a
VIC (n=8):	1.02	1.41	2.46	a b
POM (n=18):	0.76	1.66	2.40	a b
PJC (n=8):	1.21	1.29	2.23	a b c
VIO (n=8):	0.56	1.14	1.97	b c d
PJO (n=8):	0.74	0.89	1.63	c d
POV (n=18):	0.26	1.01	1.35	d

**(1)** Índice de presença de vesículas ou arbúsculos de FMA, segundo Nemeç (1992): 0 = ausência de estruturas; 1 = 1 a 50 estruturas; 2 = 50 a 100 estruturas; 3 = mais de 100 estruturas por centímetro de raiz. **(2)** Índice de presença de hifas de FMA, segundo Nemeç (1992): 0 = ausência de estruturas; 1 = presença fraca; 2 = presença moderada; 3 = presença intensa de estruturas por centímetro de raiz. **(3)** Linhas de valores médios seguidos de mesma letra não diferem significativamente pelo Teste de Aleatorização ( $P \leq 0,025$ )

PCM = pomar adulto convencional meia encosta, PCV = pomar adulto convencional várzea, VIC = viveiro convencional, POM = pomar adulto orgânico meia encosta, PJC = pomar jovem convencional, VIO = viveiro orgânico, PJO = pomar jovem orgânico, POV = pomar adulto orgânico várzea.

A presença de vesículas, arbúsculos e hifas nas raízes de citros apresentaram correlação negativa com o teor de umidade do solo (tabela 11). Portanto, os menores índices de estruturas e porcentagens de colonização verificados nas unidades amostrais pertencentes ao POV podem estar relacionados à umidade. Paula & Siqueira (1987), em um experimento com soja, verificaram que o aumento na

umidade do solo determinou menor colonização radicular. Em altos níveis de umidade, a taxa de germinação dos esporos e o estabelecimento da simbiose são reduzidos, principalmente pela menor tensão de oxigênio e maior desenvolvimento de parasitas dos esporos (Daniels & Trappe, 1980; Koske, 1981; Saif, 1981; Le Tacon et al., 1983; Sylvia & Schenk, 1983).

Tabela 11 – Correlação entre os índices de estruturas de FMAs presentes em segmentos de raízes de citros e a umidade do solo de 64 unidades amostrais pertencentes a pomares adultos com manejo convencional e orgânico. Amostras coletadas nos meses de março/2002 e agosto/2002.

Estruturas	Umidade (% mm <sup>-1</sup> )
Vesícula	-0,52 *
Arbúsculo	-0,72 *
Hifas	-0,77 *

\* P ≤ 0,005 (significância dos coeficientes de correlação).

O PJO, apesar de possuir níveis de fertilidade do solo semelhantes aos demais pomares e viveiros (Tabela 12), apresentou baixos índices de estruturas e porcentagens de colonização radicular (Tabelas 9 e 10). Aspectos relacionados ao manejo das adubações de formação podem estar contribuindo para os menores índices observados. No VIO o adubo orgânico foi incorporado ao solo com arações e gradagens, já para o PJO foi apenas deixado em cobertura. A taxa de mineralização dos adubos orgânicos pode ter influenciado a associação micorrízica. Em condições ambientais onde há baixa disponibilidade de nutrientes para o desenvolvimento vegetal, existe pouco fluxo de carboidratos para as raízes, que contribuem para menor colonização radicular (Johnson et al., 1982). No VIO, VIC e PJC, o manejo da

adubação pode ter proporcionado melhor disponibilidade de nutrientes, o que estaria determinando maior fluxo de carboidratos para as raízes, favorecendo a micorrização. Em relação a disponibilidade de nutrientes Furlan & Cardou (1989) e Johnson (1993) observaram que aplicação de N estimulou a colonização radicular, bem como, estimulou maiores índices de vesículas e arbúsculos. Apesar do suprimento elevado de P, K, Ca e Mg, a falta de N pode interferir no estabelecimento da simbiose (Furlan & Cardou, 1989; e Johnson, 1993). Os maiores índices de colonização e estruturas de FMAs verificados nos PJC e VIC poderiam também estar relacionados à fonte de adubo fosfatado. Para a recuperação de P nestas áreas foi utilizado fosfato natural que estimula a micorrização (Antunes & Cardoso, 1990). Adubos fosfatados menos solúveis determinam menor concentração desse nutriente na solução do solo. Assim, plantas em ambientes com pouco fósforo disponível, na maioria das vezes, aumentam a permeabilidade da membrana celular e a quantidade de exudados radiculares, estimulando a micorrização (Ratnayake et al., 1978; Schwab et al., 1983). Por outro lado, Siqueira & Colozzi (1986) observaram que a disponibilidade muito baixa de P no solo pode determinar menor colonização radicular em plantas de cafeeiro. Devido ao desbalanço nutricional essas plantas reduziram a capacidade fotossintética e o crescimento vegetal. Nesta situação a manutenção da associação micorrízica determinaria um custo elevado à planta, apesar da baixa colonização radicular. Desta forma, o conhecimento das melhores fontes e proporções de nutrientes disponíveis no solo poderiam tornar a associação micorrízica mais eficiente (Furlan & Cardou, 1989).



Tabela 12 – Características químicas médias do solo de 64 unidades amostrais pertencentes a pomares e viveiros de citros com manejo convencional e orgânico. As unidades amostrais foram coletadas nos meses de março/2002 e agosto/2002.

Ecossistema	Características químicas do solo							
	pH	MO (%)	P (mg Kg <sup>-1</sup> )	K (mg Kg <sup>-1</sup> )	Ca (cmol <sub>c</sub> Kg <sup>-1</sup> )	Mg (cmol <sub>c</sub> Kg <sup>-1</sup> )	Umidade (% mm <sup>-1</sup> )	
POV (n=8)	6.0	5.2	43.1	10.0	54.6	18.5	22.5	a
POM (n=8)	6.8	4.0	71.8	43.0	77.4	14.9	9.4	b
VIO (n=8)	6.9	2.6	107.9	68.8	27.6	8.5	16.3	c
PJO (n=8)	6.4	1.7	87.4	41.4	13.8	5.9	10.1	c d
PCM (n=8)	5.5	1.8	59.3	48.0	4.9	9.6	7.0	d
VIC (n=8)	5.2	1.6	70.5	48.0	6.1	9.0	10.0	d e
PCV (n=8)	5.4	2.4	124.0	67.1	10.3	13.3	9.0	e f
PJC (n=8)	5.9	1.7	125.4	72.8	10.3	19.3	13.5	f

\* linhas de valores médios seguidos de mesma letra não diferem pelo Teste de Aleatorização ( $p \leq 0,004$ ).

PCM = pomar adulto convencional meia encosta, PCV = pomar adulto convencional várzea, VIC = viveiro convencional, POM = pomar adulto orgânico meia encosta, PJC = pomar jovem convencional, VIO = viveiro orgânico, PJO = pomar jovem orgânico, POV = pomar adulto orgânico várzea.

Um efeito de diluição poderia estar determinando menores índices de estruturas de FMAs nas raízes do PJO, ou seja, o rápido crescimento de raízes sem disseminação proporcional da colonização radicular (Balota & Lopes, 1996). As plantas em situações de escassez de nutrientes desenvolvem mais o sistema radicular (Furlan & Cardou, 1989; Johnson, 1993). Mas nas amostragens efetuadas nos pomares jovens convencionais e orgânicos encontrou-se a mesma quantidade de raízes e também a mesma dificuldade para encontrá-las a profundidade de 10 cm.

As plantas utilizam diversos mecanismos de controle da simbiose, tanto nutricionais como não-nutricionais, atuando como um efeito local, impedindo a formação de pontos de entrada pelos FMAs, ou de forma sistêmica, impedindo que os FMAs se espalhem pelas raízes (Thonson et al., 1991; Lu et al., 1994). O controle

nutricional está relacionado a restrição de carboidratos aos FMAs e o controle não-nutricional baseia-se na ativação dos mecanismos de defesa dos vegetais. A regulação do desenvolvimento e da funcionalidade dos FMAs envolve uma complexa troca de sinais entre os simbiossiontes. No hospedeiro, a expressão diferencial de vários genes, principalmente com base em atividades enzimáticas, acúmulo de proteínas e/ou mRNAs, tem sido observada durante o desenvolvimento da associação micorrízica, podendo ter papel fundamental no controle da colonização radicular. Vários fatores estão envolvidos na expressão desses genes como por exemplo o estado nutricional do hospedeiro, a disponibilidade de P no solo, a luminosidade e a presença dos FMAs (Lambais, 1996; Lambais et al., 2000).

A correlação entre os nutrientes disponíveis no solo e as estruturas dos FMAs presentes nas raízes de citros variaram muito em relação à época de coleta das amostras e agroecossistemas (Tabela 13). Em determinadas épocas e tipos de agroecossistemas, os nutrientes tiveram correlação positiva ou negativa com as estruturas de FMAs, como no caso do P e Mg (tabela 13). Apesar da falta de significância das correlações, alguns padrões podem ser observados: a) as estruturas mais afetadas pelos teores de nutrientes foram os arbúsculos e as vesículas, as hifas foram as menos afetadas. b) o teor de P não mostrou influência negativa significativa para as diferentes estruturas, apenas em uma ocasião para as hifas nos pomares jovens e viveiros na quarta coleta. c) Altos teores de Ca, a MO e o pH estariam influenciando negativamente a presença das estruturas dos FMAs, principalmente arbúsculos e vesículas.

Tabela 13 – Correlação entre os índices de estruturas de FMAs e as características químicas do solo de 48 unidades amostrais pertencentes a pomares e viveiros de citros, com manejo convencional e orgânico, localizados no município de Montenegro/RS. As unidades amostrais foram coletadas nos meses de março/2002 e agosto/2002.

Estruturas	Características químicas do solo					
	PH	MO	P	K	Ca	Mg
Pomares adultos março/2002 (n = 12)						
Vesículas.	0.05	-0.29	-0.21	-0.10	-0.19	-0.02
Arbúsculos	-0.43	<b>-0.49<math>\tau</math></b>	-0.24	0.19	-0.38	-0.24
Hifas	-0.04	-0.39	-0.32	-0.03	-0.43	-0.42
Pomares adultos agosto/2002 (n = 12)						
Vesículas.	<b>-0.66*</b>	-0.41	0.40	0.30	<b>-0.69*</b>	-0.23
Arbúsculos	<b>-0.54<math>\tau</math></b>	<b>-0.52<math>\tau</math></b>	0.12	-0.10	<b>-0.57*</b>	-0.23
Hifas	-0.29	-0.31	0.30	0.40	-0.33	-0.06
Pomares jovens e viveiros março/2002 (n = 16)						
Vesículas.	<b>-0.42<math>\tau</math></b>	-0.40	-0.21	0.03	<b>-0.53*</b>	<b>0.54*</b>
Arbúsculos	-0.03	0.20	-0.08	<b>0.41<math>\tau</math></b>	0.05	<b>0.46<math>\tau</math></b>
Hifas	-0.32	-0.01	-0.18	0.28	-0.26	<b>0.58*</b>
Pomares jovens e viveiros agosto/2002 (n=16)						
Vesículas.	-0.19	<b>-0.42<math>\tau</math></b>	-0.29	<b>0.48*</b>	-0.38	0.33
Arbúsculos	0.21	-0.24	-0.31	0.39	-0.11	0.18
Hifas	-0.26	-0.07	<b>-0.56*</b>	0.34	-0.19	0.07

$\tau$  p  $\leq$  0,1, \* 0,05 e \*\* 0,01 (significância dos coeficientes de correlação);

\* as unidades amostrais pertencentes às áreas mais úmidas não participaram do teste.

Johnson (1993) observou que as estruturas de FMAs mais afetadas pela adição de nutrientes foram arbúsculos e hifas. Os índices dessas estruturas aumentaram com a adição de N e P. Já as vesículas aumentaram com a adição de N e diminuíram com a adição de P. Também Weber & Oliveira (1994) observaram níveis de colonização radicular maiores em teores médios e altos de P no solo. Schubert et al. (1993) verificaram que a colonização radicular foi alta, independente do teor de P no solo. Ao contrário, Paula & Siqueira (1987), Furlan & Cardou (1989),

Antunes & Cardoso (1990) e Panzenhagen (1998) observaram menor colonização radicular em teores mais altos de P disponível no solo. Em relação a aplicação de matéria orgânica (MO), Douds et al. (1997) observou que a aplicação de esterco bovino, sem ter passado pelo processo de fermentação, e fertilizantes químicos determinaram menor colonização por FMAs em milho. Já a adição de camas de aviário e liteira, que passaram pelo processo de compostagem, determinaram índices mais altos de colonização. Joner (2000), trabalhando com trevo subterrâneo, verificou que os tratamentos com aplicações recentes de adubos orgânicos e NK não apresentaram efeito sobre a colonização por FMAs, enquanto a adição de NPK levou a redução da micorrização. Em relação ao pH, Trindade (1998), em um levantamento na cultura do mamoeiro nos estados da Bahia e Espírito Santo, observou correlação significativa positiva entre o pH e a colonização radicular por FMAs. Wang et al. (1993), verificou que a porcentagem de colonização radicular, nas culturas de aveia e batata, foi pouco afetada pelo pH do solo que variou de 4,5 a 7,5.

Conforme observado, as relações entre os índices de colonização radicular e as características do solo são variáveis. Altos índices de colonização radicular podem ser verificados em uma grande amplitude de níveis de MO, pH e P. Estes resultados podem estar relacionadas ao efeito das propriedades do solo sobre as diferentes espécies ou isolados de FMAs. Medeiros et al. (1994) verificou em sorgo que isolados de FMAs respondem diferentemente quanto ao pH, alguns determinam índices maiores de colonização radicular com o pH baixo e outros apresentam maiores índices com o pH alto.

Estes resultados demonstram a complexidade da associação micorrízica. A resposta à associação, que pode ser mutualística ou parasítica, depende da

combinação dos componentes do sistema, que são específicos para cada cultura e condições de cultivo (Siqueira & Colozzi, 1986). Portanto em determinadas condições ambientais e estágios de desenvolvimento das culturas, teores maiores ou menores de nutrientes poderão beneficiar ou não a simbiose. O melhor conhecimento dos mecanismos que controlam as associações micorrízicas serão necessários para o manejo mais eficiente desta simbiose (Johnson, 1993), já que é o estímulo as espécies de FMAs e não a intensidade de colonização radicular que estariam determinando diferentes respostas dos hospedeiros (Quinteroramos et al., 1993; Muthukumar & Udaiyan, 2002).

## 5 – CONCLUSÕES

Nas condições do presente estudo, pode-se concluir que:

- Os morfotipos, caracterizados pelos aspectos externos dos esporos,, podem ser utilizados como descritores das comunidades de FMAs, servindo como um indicador da estabilidade de determinado local;
- Ambientes mais estáveis permitem a esporulação de um maior número de espécies de FMAs, principalmente de *Glomus* e *Acaulospora*;
- Os manejos orgânico e convencional não apresentam comunidades de FMAs específicas, apesar das alterações químicas no solo, determinadas por cada manejo.
- As espécies *Acaulospora* sp 1, *A. birreticulata*, *A. foveata*, *A. rehmi*, *A. scrobiculata*, *G. fasciculatum*, *G. mossea*, *G. claroideum*, *G. glomerulatum*, *G. macrocarpum*, *G. microagregatum*, *Scutelospora cerradensis* e *S. heterogama* mostram-se, quanto à ocorrência, indiferentes às características ambientais dos agroecossistemas.
- A umidade do solo é o principal fator na diminuição das estruturas presentes nas raízes e colonização radicular por FMAs nos citros;

- A colonização radicular e presença de estruturas de FMAs nas raízes de citros são altas, independente dos teores de P.

## 6 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABBOTT, L.K; ROBSON, A . D. Factors influencing the occurrence of vesicular-arbuscular mycorrhizas. . **Agriculture, Ecosystems and Environment**, Amsterdam v. 35, n. 2-3, p. 121-150, 1991.

ALLEN, E.B.; RINCÓN, E.; ALLEN, M.F., PÉREZ-JIMENEZ, A; HUANTE, P. Disturbance and Seasonal Dynamics of Mycorrhizae in a tropical Deciduous Forest in Mexico. **Biotropica**, Washington, v.30, n. 2, p. 261-274, 1998.

ALTIERI, M.A. **Agroecologia**: As bases científicas da agricultura alternativa. Rio de Janeiro: ASPTA-FASE, 1986. 237 p.

ANTUNES, V.; CARDOSO, E.J.B.N. O fósforo e a micorriza vesículoarbusculares no crescimento de porta-enxertos de citros cultivados em solo natural. **Revista brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v. 14, n. 3, p. 277-282, 1990.

ARAÚJO, R.S.; HUNGRIA, M. (Eds.) **Microrganismos de Importância Agrícola.**, Brasília: EMBRAPA–SPI, 1994. 105 p.

AZCON, R. Germination and hyphal growth of *Glomus mosseae* in vitro: effects of rhizosphere bacteria and cell-free culture media. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v.19, n.4, p.417-419, 1987.

AZCÓN-AGUILAR, C.; BAREA, J.M. Apllying mycorrhiza biotechnology to horticulture: significance and potentials. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 68, n. 4, p. 1-24, 1997.

AXELROD, R.; HAMILTON, W.D. The evolution of cooperation. **Science**, v. 211, p. 1390-1396, 1981.

BAKKEN, L.R. Culturable and nonculturable bacteria in soil. In: ELSAS, J.D.; TREVORS J.T.; WELLINGTON, E.M.H. **Modern Soil Microbiology**. New York: Marcel Dekker, 1995. p. 47-59.



BALOTA, E.L.; LOPES, E.S. Introdução de Fungo Micorrízico Arbuscular no cafeeiro em condições de campo: I. persistência e interação com espécies nativas. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**. Campinas, v. 20, n. 2, p. 217-223, 1996.

BALOTA, E.L.; LOPES, E.S. Introdução de Fungo Micorrízico Arbuscular no cafeeiro em condições de campo:II. Flutuação sazonal de raízes, de colonização e de Fungos Micorrízicos Arbusculares associados. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v 20, n. 2, p. 225-232, 1996.

BAREA, J. M.; ANDRADE, G.; BIANCIOTTO, V.; DOWLING, D.; LOHRKE, S.; BONFANTE, P.; O'GARA, F.; AZCÓN-AGUILAR, C. Impact on arbuscular mycorrhizal formation of *Pseudomonas* strains used as inoculants for biocontrol of soil-born fungal plants pathogens. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 64, n. 6, p. 2304-2307, 1998

BENCHIMOL, R.; YING CHU, E.; YUITO MUTO, R.; DIAS-FILHO, M. B. Controle da fusariose em plantas de pimenta-do-reino com bactérias endofíticas: sobrevivência e respostas morfofisiológicas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 35, n. 7, p. 1343-1348, 2000.

BRUNDRETT, M.C. Mycorrhizas in natural ecosystems. **Advanced Ecology Research**, v. 21, p.171-313, 1991.

BRUNDRETT, M.C.; ABBOTT, L.K.; JASPER, D.A. Glomalean mycorrhizal fungi from tropical Australia. I. Comparison of the effectiveness and specificity of different isolation procedures. **Mycorrhiza**, New York, v 8, n. 6, p.305-314, 1999a.

BRUNDRETT, M.C.; JASPER, D.A.; ASHWATH, N. Glomalean mycorrhizal fungi from tropical Australia. II. The effect of nutrient levels and host species on the isolation of fungi. **Mycorrhiza**, New York, v 8, n. 6, p. 315-321, 1999b.

CALDEIRA, S.F.; CHAVES, G.M.; ZAMBOLIM, L. Observações de micorriza vesículo-arbuscular em diferentes espécies de plantas. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 30, n. 167, p. 19-24, 1983.

CALVET, C.; BAREA,J.M.; PERA,J. In vitro interactions between vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus mosseae* and some saprophytic fungi isolated from organic substrates. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v.24, n. 8, p. 775-780, 1992.

CAMEL, S.B.; REYES-SOLIS, M.G.; FERRERA-CERRATO, R.; FRANSON, R.L.; BROWN, M.S.; BETHLENFALVAY, G.J. The growth of mycorrhizal mycelia through bulk soil. **Soil Science Society of America**, Madison, v. 55, n. 2, p. 389-393, 1991.

CANNON, P.F.; HAWKSWORTH, D.L. The diversity of fungi associated with vascular plants: the known, the unknown and the need to bridge the knowledge gap. In: ANDREWS, J.H. and TOMMERUP, I. **Advances in Plant Pathology**, London, v. 11, p. 277-302, 1995.

CARDOSO, E.J.B.N.; ANTUNES, V.; SILVEIRA, A.P.D.; OLIVEIRA, M.H.A. Eficiência de Fungos Micorrízicos Vesículo-Arbusculares em porta enxertos de citros. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v. 10, n. 1, p. 25-30, 1986.

CATTELAN, A. J.; VIDOR, C. Flutuações na biomassa, atividade e população microbiana do solo, em função de variações ambientais. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v. 14, n. 2, p. 133-142, 1990.

CHU, E.Y.; ENDO, T.; STEIN, R.L.B.; ALBUQUERQUE, F.C. Avaliação da inoculação de Fungos Micorrízicos Arbusculares sobre a incidência da fusariose da pimenta-do-reino. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v 22, n. 2, p. 205-208, 1997.

CLAPP, J.P.; YOUNG, J.P.W.; MERRYWEATHER, J.W.; FITTER, A.H. Diversity of fungal symbionts in arbuscular mycorrhizas from a natural community. **New phytologist**, Cambridge, v. 130, n. 2, p. 259-265, 1995.

COLOZZI, A. F.; CARDOSO, E.J.B.N. Detecção de fungos micorrízicos em raízes de cafeeiro e de crotalária cultivada na entrelinha. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. Brasília, v. 35, n. 10, p. 2033-2042, 2000.

COMISSÃO DE FERTILIDADE DO SOLO – RS e SC. **Recomendações de adubação e de calagem para os estados do Rio Grande do Sul e de Santa Catarina**. 3.ed. Passo Fundo:SBRS – Núcleo Regional Sul, p. 244, 1995.

CUENCA, G.; ANDRADE, Z.; ESCALANTE, G. Diversity of Glomalean spores from natural, disturbed and revegetated communities growing on nutrient-poor tropical soils. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 30, n. 6, p. 711-719, 1998.

DANIELS, B.A.; TRAPPE, J.M. Factors affecting spore germination of the vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus, *Glomus epigeus*. **Mycologia**, New York, v. 72, n. 3, p. 457-471, 1980.

DOUDS Jr., D.D.; JANKE, R.R.; PETERS, S.E. VAM fungus spore populations and colonization of roots of maize and soybean under conventional and low-input sustainable agriculture. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, Amsterdam, v. 43, n. 3-4, p 325-335. 1993.

DOUDS Jr, D.D.; GALVEZ, L.; JANKE, R.R.; WAGONER, P. Effect of tillage and farming system upon populations and distribution of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, Amsterdam, v. 52, n. 2-3, p 111-118.1995

DOUDS Jr, D.D.; GALVEZ, L.; FRANKE-SNYDER, M.; REIDER, C.; DRINKWATER, L.E. Effect of compost addition and crop rotation upon VAM fungi. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, Amsterdam, v. 65, n. 3, p 257-266, 1997.

DOUDS Jr., D.; MILLNER, P.D. Biodiversity of arbuscular mycorrhizal fungi in agroecosystems. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, Amsterdam, v. 74, n. 1-3, p. 77-93, 1999.

EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. Brasília: Embrapa, Rio de Janeiro, p 412, 1999.

EHLERS, E. **Agricultura sustentável: origem e perspectivas de um novo paradigma**. Guaíba: Agropecuária, 1999. 178 p.

EOM, A; HARTNETT, D.C.; WILSON, G.W.T. Host plant species effects on arbuscular mycorrhizal fungal communities in tallgrass prairie. **Oecologia**, Berlim, v. 122, n. 3, p. 435-444, 2000.

FEICHTENBERGER, E. **Gomose de *Phytophthora* dos citros**. Laranja, Cordeirópolis/SP, v. 11, n. 1, p. 97-122, 1990.

FERNANDEZ, M.R. **Manual para laboratório de fitopatologia**. Passo Fundo: EMBRAPA-CNPT, 1993. 128 p.

FILION, M.; St-ARNAUD, M.; FORTIN, J. A. Direct interaction between the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* and different rhizosphere microorganisms. **New phytologist**, Cambridge, v. 141, n. 3, p. 525-533, 1999.

FITTER, A.H.; GARBAYE, J. Interaction between mycorrhizal fungi and other soil organisms. **Plant and Soil**, The Hague, v 159, n. 1, p.123-132, 1994.

FRANKE-SNYDER, M.; DOUDS Jr., D.D.; GALVEZ, L.; PHILLIPS, J.G.; WAGONER, P.; DRINKWATER, L.; MORTON, J.B. Diversity of communities of arbuscular mycorrhizal (AM) fungi present in conventional versus low-input agricultural sites in eastern Pennsylvania, USA. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v.16, n. 1, p.35-48, 2001.

FRANCIS, R.; READ, D.J. The contribution of mycorrhizal fungi to the determination of plant community structure. **Plant and Soil**, The Hague, v. 159, p. 11-25, 1994.

FURLAN, V.; CARDOU, M.B. Effects of N, P and K on formation of vesicular-arbuscular mycorrhizae, growth and mineral content of onion. **Plant and Soil**, The Hague, v 113, n. 2, p.167-174, 1989.

GERDMANN, J.W.; NICOLSON, T.H. Spores of mycorrhizal Endogene species extracted from soil by wet sieving and decanting. **Transactions of the British Mycological Society**, Cambridge, v. 46, p. 235-244, 1963.

- GLIESSMAN, S. R. **Manual de Agroecología**. Porto Alegre: UFRGS, 2000. 480 p.
- GRAHAM J.H.; EISSENSTAT, D.M. Field evidence for the carbon cost of citrus mycorrhizas. **New Phytologist**, London, v. 140, n. 1, p. 103-110, 1998.
- GRAHAM, J.H.; HODGE, N.C., MORTON, J.B. Fatty acid methyl ester profiles for characterization of Glomalean fungi and their endomycorrhizae. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 61, p. 58-64, 1995.
- GREEN, H.; LARSEN, J.; OLSSON, P. A; JENSEN, D. F.; JAKOBSEN, I. Suppression of the biocontrol agent *Trichoderma harzianum* by mycelium of the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* in root-free soil. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 65, n. 4, p. 1428-1434, 1999.
- HAHN, A.; BONFANTE, P.; HORN, K.; PAUSCH, F.; HOCK, B. Production of monoclonal antibodies against surface antigens of spores from arbuscular mycorrhizal fungi by an improved immunization and screening procedure. **Mycorrhiza**, New York, v. 4, n. 2, p. 69-78, 1993.
- HAHN, A.; GIANINAZZI-PEARSON, V.; HOCK, B. Characterization of arbuscular mycorrhizal fungi by immunochemical methods. In: GIANINAZZI, S.; SCHÜEPP, H. **Impact of Arbuscular Mycorrhizas on Sustainable Agriculture and Natural Ecosystems**. Switzerland: Brinkhauser Verlag, 1994, 25-39 p.
- HAMEL, C. Prospects and problems pertaining to the management of arbuscular mycorrhizae in agriculture. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, Amsterdam, v. 60, n. 2-3, p. 197-210, 1996.
- HODGE, A. Microbial ecology of the arbuscular mycorrhiza. **FEMS Microbiology Ecology**, Amsterdam, v. 32, n. 2, p. 91-96, 2000.
- HONRUBIA, M.; TORRES, P.; DIAZ, G.; MORTE, A. **Biología forestal: micorrización y micropropagación**. Murcia: Universidad de Murcia, 1993. 92 p.
- HURLBERT, S.H. Pseudoreplication and the design of ecological field experiments. **Ecological Monographs**, Lawrence, v. 54, n. 2, p. 187-211, 1984.
- JOHNSON, C.R.; GRAHAM, J.H.; LEONARD, R.T.; MENGE, J.A. Effect of flower bud development in chrysanthemum on vesicular-arbuscular mycorrhiza formation. **New Phytologist**, London, v. 90, p. 671-675. 1982.
- JOHNSON, N.C. Can fertilization of soil select less mutualistic mycorrhizae?. **Ecological Application**, v. 3, n. 4, p. 749-757, 1993.
- JOHNSON, N.C.; TILMAN, D. and WEDIN, D. Plant and soil controls on mycorrhizal fungal communities. **Ecology**, Durhan, v. 73, n. 6, p. 2034-2042, 1992.

KENEDY, A.C.; SMITH, K.L. Soil microbial diversity and the sustainability of agricultural soils. **Plant and Soil**, The Hague, v 170, n. 1, p. 75-86, 1995.

KOSKE, R.E. *Gigaspora gigantea*: observations on spore germination of a VA-mycorrhizal fungus. **Mycologia**, New York, v. 73, n. 2, p. 288-300, 1981.

KURLE, J.E.; PFLEGER, F.L. Arbuscular mycorrhizal fungus spore populations respond to conversion between low-input and conventional management practices in a corn-soybean rotation. **Agronomy Journal**. v. 86, p. 467-475, 1994.

KURLE, J.E.; PFLEGER, F.L. Management influences on arbuscular mycorrhizal fungal species composition in a corn-soybean rotation. **Agronomy Journal**. v. 88, p. 155-161, 1996.

LAMBAIS, M.R. Aspectos bioquímicos e moleculares da relação fungo-planta em micorrizas arbusculares. In: Siquiera, J.O. **Avanços em Fundamentos e Aplicação de Micorrizas**. UFLA, Lavras, MG. 1996. 5-38 p.

LAMBAIS, M.R. Regulation of plant defense related genes in arbuscular mycorrhizae. In: Podila, G.K.; Douds, D.D. **Current Advances in Mycorrhizae Research**. St. Paul: American Phytopathological Society Press. 2000. 46-60 p.

LE TACON, F.; SKINNER, F.A.; MOSSE, B. Spore germination and hyphal growth of a vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus, *glomus mosseae* (Gerdmann and Trappe), under decreased oxygen and increased carbon dioxide concentrations. **Canadian Journal Microbiology**, Ottawa, v. 29, n. 10, p. 1280-1285, 1983.

LU, S.; BRAUNBERGER, P.G.; MILLER, M.H. Response of vesicular-arbuscular mycorrhizas of maize to various rates of P addition to different rooting zones. **Plant and soil**, The Hauge, v. 158, p. 119-128, 1994.

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

Mc ALLISTER, C.B.; GARCIA-ROMERA, I.; GODEAS, A.; OCAMPO, J.A. Interactions between *Trichoderma koningii*, *Fusarium solani* and *Glomus mosseae*: effects on plant growth, arbuscular mycorrhizas and the saprophyte inoculants. **Soil Biology Biochemistry**, Oxford, v. 26, n. 1, p. 1363-1367, 1994.

MEDEIROS, C.A.B.; CLARK, R.B.; ELLIS, J.R. Growth and nutrient-uptake of sorghum cultivated with vesicular-arbuscular mycorrhiza isolates at varying pH. **Mycorrhiza**, New York, v. 4, n. 5, p. 185-191, 1994.

MENGE, J.A., STEIRLE, D.; BAGYARAJ, D.J.; JOHNSON, E.L.V.; LEONARD, R.T. Phosphorus concentrations in plants responsible for inhibition of mycorrhizal infection. **New Phytologist**, London, v. 80, p. 575-578, 1978.

MEYER, J. R.; LINDERMAN, R. G. Response of subterranean clover to dual-inoculation with vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi and a plant growth-promoting bacterium, *Pseudomonas putida*. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v.18, n. 2, p. 185-190, 1986

MEYER, J.R.; LINDERMAN, R.G. Selective influence on populations of rhizosphere on rhizoplane bacteria and actinomycetes by mycorrhizas formed by *Glomus fasciculatum*. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 18, n. 2, p. 191-196, 1986.

MUNYANZIZA, E.; KEHRI, H.K.; BAGYARAJ, D.J. Agricultural intensification, soil biodiversity and agro-ecosystem function in the tropics: the role of mycorrhiza in crops and trees. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v. 6, n. 1, p. 77-85, 1997.

MUTHUKUMAR, T.; UDAIYAN, K. Growth and yield of cowpea as influenced by changes in arbuscular mycorrhiza in response to organic manuring. **Journal of Agronomy and Crop Science**. V. 188, n. 2, 123-132, 2002.

NEMEC, S.; MENGE, J.A.; PLATT, R.G.; JOHNSON, E.L.V. Vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi associated with citrus in Florida and California and notes on their distribution and ecology. **Mycologia**, New York, v. 73, n. 1, p 112-127, 1981.

NEMEC, S. *Glomus intraradix* effects on citrus rootstock seedling growth in various potting media. **Journal of Agricultural Science**, Cambridge, v. 118, n. 3, p.315-323, 1992.

NEMEC, S.; DATNOFF, L. E.; STRANDBERG, J. Efficacy of biocontrol agents in planting mixes to colonize plant roots and control root diseases of vegetable and citrus. **Crop Protection**, Surrey, v. 15, n. 8, p. 735-742, 1996.

NEWSHAM, K.K.; FITTER, A H. and WATKINSON, A R. Arbuscular mycorrhiza protect an annual grass from root pathogenic fungi in the field. **Journal of Ecology**, Oxford, v. 83, n. 6, p. 991-1000, 1995.

ODUM, E.P. **Ecologia**. Rio de Janeiro: Guanabara, 1983. 434 p.

OHTONEN, R.; AIKIO, S.; VÄRE, H. Ecological theories in soil biology. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 29, n. 11-12, p. 1613-1619, 1997.

OLIVEIRA, A. A. R.; COELHO, Y.S. Infecção micorrízica em pomares de citros no Estado de Sergipe. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Cruz das Almas, v. 17, n. 3, p. 77-84, 1995.

OLIVEIRA, A. A. R.; COELHO, Y.S.; COUTO, R.C.S. Relação entre Fungos Micorrízicos Arbusculares e incidência de declínio em lima ácida "tahiti". **Revista Brasileira de Fruticultura**, Cruz das Almas, v. 21, n. 3, p. 342-345, 1999.

OLSSON, P.A.; BAATH, E.; JAKOBSEN, I.; SÖDESTRÖM, B. Soil bacteria respond to presence of roots but not to mycelium of arbuscular-mycorrhizal fungi. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 28, n. 4-5, p. 463-470, 1996.

ORLÓCI, L.; KENKEL, N.C.; ORLÓCI, M. **Introduction to Analysis in Population and Community Ecology**. Honolulu: University of Hawaii. 1987. 211 p.

PANKHUST, C.E.; LYNCH, J.M. The role of soil microbiology in sustainable intensive agriculture. In: ANDREWS, J.H.; TOMMERUP, I. **Advances in Plant Pathology**. New York: Academic Press, 1995. 229-248 p.

PANZENHAGEN, N.V.; SOUZA, P.V.D.; KOLLER, O.C. Presença de micorrizas nas tangerinas montenegrina/*Poncirus trifoliata* em função de níveis de adubação com P e calagem. **Pesquisa Agropecuária Gaúcha**, Porto Alegre, v. 4, n. 2, p. 145-149, 1998.

PAULA, M.A.; SIQUEIRA, J.O. Efeitos da umidade do solo sobre a simbiose endomicorrízica em soja: I. Colonização radicular, esporulação, nodulação e acúmulo de nitrogênio. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v. 11, n. 3, p. 283-287, 1987.

PAULITZ, T. C.; LINDERMAN, R. G. Mycorrhizal interactions with soil organisms. In: ARORA, D. K. **Handbook of Applied Mycology**. New York: Marcel Dekker, 1991. 77-129 p.

PHILLIPS, J.M.; HAYMAN, D.S. Improved procedures for cleaning roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. **Transactions of the British Mycological Society**, London, v. 55, p. 158-161, 1970.

PILLAR, V.D. Sampling sufficiency in ecological surveys. **Abstracta Botanica**, Budapest, v. 22, p. 37-48. 1998.

PILLAR, V.D. How sharp are classifications? **Ecology**, Ithaca, v. 80, n. 8, p. 2508-2516, 1999a.

PILLAR, V.D. On the identification of optimal plant functional types. **Journal of Vegetation Science**, Uppsala, v. 10, n. 5, p. 631-640, 1999b.

PILLAR, V.D. The bootstrapped ordination re-examined. **Journal of Vegetation Science**, Uppsala, v. 10, n. 6, p. 895-902, 1999c.

QUINTERORAMOS, M.; ESPINOZA, V. D.; FERRERA, C. R.; BENTHLENFALVAY, G.J. Fitting plants to soil through mycorrhizal fungi – Mycorrhiza effects on plant-growth and soil organic matter. **Biology and Fertility of Soils**. v. 15, n. 2, p. 103-106, 1993.

RATNAYAKE, M.; LEONARD, R.T.; MENGE, J.A. Root exudation in relation to supply of phosphorus and its possible relevance to mycorrhizal formation. **New Phytologist**, v. 81, p. 543-552, 1978.

READ, D. The ties that bind. **Nature**, London, v. 388, p. 517-518, 1997.

REDCKER, D. Molecular identification and phylogeny of arbuscular mycorrhizal fungi. **Plant and Soil**, The Hague, v 244, n. 1-2, p 67-73, 2002.

RHODES, L.R. The use of mycorrhizae in crop production systems. **Outlook on agriculture**, v. 10, n. 6, p. 275-281, 1996.

ROSALES, A. M.; VALDÉZ, M. Arbuscular mycorrhizal colonization of lime in different agroecosystems on the dry tropics. **Mycorrhiza**, v. 6, n. 2, p. 105-109, 1996.

RYAN, M.H.; GRAHAM, J.H. Is there a role for arbuscular mycorrhizal fungi in production agriculture? **Plant and Soil**, The Hague, v. 244, n. 1-2, p. 263-271, 2002.

SAIF, S.R. The influence of soil aeration on the efficiency of vesicular-arbuscular mycorrhizae. I. Effect of soil oxygen on the growth and mineral uptake of *Eupatorium adorum* L. inoculated with *Glomus macrocarpum*. **New Phytologist**, London, v. 88, n. 4, p. 649-659, 1981.

SANDERS, J.R.; ALT, M.; GROPE, K.; BOLLER, T., WIEMKEN, A. Identification of ribosomal DNA polymorphisms among and within spores of the Glomales: application to studies on the genetic diversity of arbuscular mycorrhizal fungal communities. **New Phytologist**, London, v. 130, p. 419-427, 1995.

SCHENCK, N.C.; PEREZ, Y. **Manual for the identification of VA mycorrhizal fungi**. Gainesville: University of Florida, 1988. 241 p.

SCHMITZ, J.A.K. **Cultivo de *Poncirus trifoliata* L. Raf. em recipientes: influência de substratos e de fungos micorrízicos arbusculares**. 1998. 144 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Curso de pós-graduação em Fitotecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

SCHUBERT, A.; AIASSA, A.; PALAZZO, D. Occurrence of mycorrhiza in citrus orchards in the metaponto area of Basilicata (Italy). **Acta Horticulturae**, Wageningen, v. 324, p. 61-67, 1993.

SCHWAB, S.M.; MENGE, J.A.; LEONARD, R.T. Quantitative and qualitative effects of phosphorus on extracts and exudates of sundangrass roots in relation to vesicular-arbuscular mycorrhiza formation. **Plant Physiologi**, v.73, p. 761-765, 1983.

SIQUEIRA, J.O.; COLOZZI, A. Micorrizas Vesículo-Arbusculares em mudas de cafeeiro. II. Efeito do fósforo no estabelecimento e funcionamento da simbiose. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v. 10, n. 3, p. 207-211, 1986.



SIQUEIRA, J.O.; FRANCO, A.A. **Ciências Agrária nos Trópicos Brasileiros. Biotecnologia do solo: fundamentos e perspectivas.** Brasília, MEC-ESAL-FAEPE-ABEAS, 1988. 235 p.

SIQUEIRA, J.O.; COLOZZI-FILHO, A.; OLIVEIRA, E. Ocorrência de micorrizas vesicular-arbuscular em agro e ecossistemas do estado de Minas Gerais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 24, n. 12, p. 1499-1506, 1989.

SIQUEIRA, J.O. **Avanços em Fundamentos e Aplicações de Micorrizas.** Lavras: Universidade Federal de Lavras/DCS e DCF, 1996. 250 p.

SMITH, S.E.; GIANINAZZI-PEARSON, V. Physiological interactions between symbionts in vesicular-arbuscular mycorrhizal plants. *Annual Review Plant Physiology. Plant Molecular Biology*, v. 39, p. 221-244, 1988.

SORENSEN, J. The rizosphere as a habitat for Soil microorganisms. In: ELSAS, J.D.; TREVORS J.T.; WELLINGTON, E.M.H. **Modern Soil Microbiology.** New York: Marcel Dekker, 1995. p. 21-42.

SOUZA, P.V.D.; SCHMITZ, J. A. K.; FREITAS, R.S.; CARNIEL, E.; CARRENHO, R. Identificação e quantificação de fungos micorrízicos arbusculares autóctones em municípios produtores de citros no Rio Grande do Sul. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 37, n. 4, p. 553-558, 2002.

STÜRMER, S.L.; BELLEI, M.M. Compositional and seasonal variation of spore populations of arbuscular mycorrhizal fungi in dune soils on the island of Santa Catarina, Brazil. **Canadian Journal of Botany**, Ottawa, v. 74, n. 3, p. 1883-1889, 1994.

STUTZ, J.C.; MORTON, J.B. Successive pot cultures reveal high species richness of arbuscular endomycorrhizal fungi in arid ecosystems. **Canadian Journal of Botany**, Ottawa, v. 74, n. 12, p. 1883-1889, 1996.

SYLVIA, D.M. Quantification of external hyphae of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. In: NORRIS, J.R.; READ, D.J.; VARMA, A.K. **Methods in Microbiology: 24 Techniques For the Study of Mycorrhizal.** London: Academic Press, 1992. 53-65 p.

SYLVIA, D.M.; SCHENCK, N.C. Germinatin of chamydospores of three *Glomus* species as affected by soil matric potential and fungal contamination. **Mycologia**, New York, v. 75, p. 30-35, 1983.

TEDESCO, M.J.; GIANELLO, C.; BISSANI, C.A. **Análise de solo, plantas e outros materiais.** 2. ed. Porto Alegre: Departamento de Solos, Faculdade de Agronomia, UFRGS, 1995. 174 p. (Boletim Técnico de Solos, 5).

THONSON, B.D.; ROBSON, J.A.; ABBOTT, L.K. Effects of phosphorus on the formation of mycorrhizas by *Gigaspora calospora* and *Glomus fasciculatum* in relation to root carbohydrates. **New Phytologist**, London, v.103, p. 751-765, 1986.

THONSON, B.D.; ROBSON, J.A.; ABBOTT, L.K. Soil mediated effects of phosphorus supply on the formation of mycorrhizas by *Scutellospora calospora* (Nicol. & Gerd.) Walker & Sanders on subterranean clover. **New Phytologist**, London, v.118, p. 463-469, 1991.

THORN, G. The fungi in soil. In: ELSAS, J.D.; TREVORS J.T.; WELLINGTON, E.M.H. **Modern Soil Microbiology**. New York: Marcel Dekker, p.63-108, 1995.

TRINDADE, A.V. **Micorrizas arbusculares em mamoeiro**. Lavras: UFLA, 1998. 178 p. Tese de Doutorado.

VAN DER HEIJDEN, M.G.A.; KLIRONOMOS, J.N.; URSIC, M.; MOUTOGLIS, P.; STREITWOLF-ENGEL, P.; BOLLER, T.; WIEMKEN, A.; SANDERS, I.R. Mycorrhizal fungal diversity determines plant biodiversity, ecosystem variability and productivity. **Nature**, London, v. 396, n. 6706, p. 69-72, 1998.

VESTBERG, M.; CARDOSO, M.; MARTENSSON, A. Occurrence of arbuscular mycorrhizal fungi in different cropping systems at Cochabamba, Bolivia. **Agriculture Food Science Finland**. v. 8, p. 309-318. 1999.

WANG, G.M.; STRIBLEY, D.P.; TINKER, P.B.; WALKER, C. Effects of pH on arbuscular mycorrhiza. 1. Field observation on the long term liming experiments at rothamsted and woburn. **New Phytologist**, London, v. 124, n. 3, p. 465-472, 1993.

WEBER, O. B.; OLIVEIRA E. Ocorrência de fungos micorrízicos vesículo-arbusculares em citros nos estados da Bahia e Sergipe. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 29, n. 12, p. 1905-1914, 1994.

WESTOVER, K.M.; KENNEDY, A C.; KELLEY, S.E. Patterns of rhizosphere microbial community structure associated with co-occurring plant species. **Journal of Ecology**, Durhan, v. 85, n. 6, p. 863-873, 1997.

WILKINSON, D.M. The evolutionary ecology of mycorrhizal networks. **OIKOS**, Buenos Aires, v. 82, n. 2, p. 407-410, 1998.

## **7. APÊNDICES**

Apêndice 01 – Nomes científicos e descritores das espécies de FMAs, encontradas em 56 unidades amostrais coletadas no município de Montenegro/RS, nos meses de Agosto/2001, Outubro/2001 e Março/2002.

*Acaulospora bireticulata* Rothwell & Trappe

*A. capsicula* Blaszkowski

*A. foveata* Trappe & Janos

*A. mellea* Spain & Schenck

*A. rehmi* Sieverding & Toro

*A. scrobiculata* Trappe

*Entrophospora infrequens* (Hall) Ames & Schneider

*E. colombiana* Spain & Schenck

*Glomus australe* (Berkeley) Berch

*G. claroideum* Schenck & Smith

*G. etunicatum* Becker & Gerdemann

*G. fasciculatum* (Thaxter) Gerd. & Trappe emend. Walker & Koske

*G. geosporum* (Nicol. & Gerd.) Walker

*G. glomerulatum* Sieverding

*G. macrocarpum* Tulasne & Tulasne

*G. microaggregatum* Koske, Gemma & Olexia

*G. mosseae* (Nicol. & Gerd.) Gerd. & Trappe

*G. versiforme* (Karsten) Berch

*Gigaspora* Gerd. & Trappe

*Scutellospora. cerradensis* Spain & Miranda

*S. heterogama* (Nicol. & Gerdemann) Walker & Sanders

*S. nodosa* Blaszkowski

*S. pellucida* (Nicol. & Schenck) Walker & Sanders

Apêndice 02 - "Ranking" de morfotipos utilizados para determinar a presença e ausência de espécies de FMAs

Morfotipos	Espécies	Nº esporos	Morfotipos	Espécies	Nº esporos
1ºPOV1			2ºPOV1		111
C4	Gge*	3	F2	Ar As Gmo Sc Sp	1
D3	Ab Gig	2	B10	Ab	2
B10	Ab	2	C4	Gge	5
F2	Ar As Gmo Sc** Sp	1	C10	Ar Ec Gma Gmi	23
F7	Sh	1	C6	Am Gma	11
B5	Ga Gge	4	C5	Gma Gmi	11
G3	Gmo Sh	3	B6	Ei Ga Gc Ge Gmi	1
C5	Gma Gmi	12	B8	Ar Ei Gma Gmi Sh	9
C6	Am Gma	32	F3	Gma	3
B12	Ge Ggl	10	B12	Ge Ggl	52
D8	As Ec Ge Gma	7	C2	Ab Ge Gmi	10
B6	Ei Ga Gc Ge Gmi	8	D2	Ar Gc Ge Gma Gmi	5
C10	Ar Ec Gma Gmi	1			
F8	Am As Gv Gmi	1	2ºPOV2		
B8	Ar Ei Gma Gmi Sh	3	E3	Gig Gmi	3
F5	G2 Gmi	2	B10	Ab	10
C7	G1	1	C10	Ar Ec Gma Gmi	14
			B12	Ge Ggl	9
1ºPOV2		10	C2	Ab Ge Gmi	8
C4	Gge	13	B6	Ei Ga Gc Ge Gmi	1
B5	Ga Gge	1	C6	Am Gma	8
F2	Ar As Gmo Sc Sp	3	C5	Gma Gmi	5
D4	As Gmo	56	C7	G1	2
C6	Am Gma	1	D8	As Ec Ge Gma	6
B6	Ei Ga Gc Ge Gmi	8	B8	Ar Ei Gma Gmi Sh	1
B8	Ar Ei Gma Gmi Sh	5	F5	G2 Gmi	3
C10	Ar Ec Gma Gmi	12			
F3	Gma	2	2ºPOV3		
B12	Ge Ggl	20	D4	As Gmo	1
C5	Gma Gmi	12	E3	Gig Gmi	6
E5	Gma	3	B6	Ei Ga Gc Ge Gmi	3
			C10	Ar Ec Gma Gmi	9
1ºPOV3			B12	Ge Ggl	19
C4	Gge	2	C7	G1	1
C3	Ar As Gf Gv Gc	1	C6	Am Gma	13
C5	Gma Gmi	9	E5	Gma Gmi	5
C6	Am Gma	3	B10	Ab	1
C7	G1	4	D5	Ac Am Gf Gc Gma Gmi	1
B5	Ga Gge	4	D2	Ar Gc Ge Gma Gmi	1
B12	Ge Ggl	9	D8	As Ec Ge Gma	4
B10	Ab	1			
C10	Ar Ec Gma Gmi	7	2ºPOV4		
C2	Ab Ge Gmi	3	B10	Ab	2
D2	Ar Gc Ge Gma Gmi	2	C4	Gge	3
			D3	Ab Gig	2
1ºPOV4			B5	Ga Gge	8
D3	Ab Gig	5	D5	Ac Gf Gc Gma Gmi	5
C4	Gge	2	B6	Ei Ga Gc Ge Gmi	7
D4	As Gmo	1	C6	Am Gma	16
B12	Ge Ggl	18	B8	Ar Ei Gma Gmi Sh	9
C5	Gma Gmi	4	E5	Gma	10
C6	Am Gma	7	C5	Gma Gmi	7
D5	Ac Am Gf Gc Gma Gmi	1	C10	Ar Ec Gma Gmi	11
C3	Ar As Gf Gv Gc	1	C7	G1	2
B6	Ei Ga Gc Ge	1	C2	Ab Ge Gmi	47
B10	Ab	1	B12	Ge Ggl	150

Apêndice 03 – Análise de Variância Multivariada com Teste de Aleatorização\* de 36 unidades amostrais descritas pela presença e ausência de espécies de FMAs pertencentes a mata nativa e a pomares e viveiros de citros no município de Montenegro/RS. As coletas foram realizadas no mês de março/2002.

Fonte de variacao	Soma de quadrados(Q)	P(QbNULL>=Qb)
regiões:		
Entre grupos	22.597	0.001
Contrastes**:		
Grupos: 1 2 3		
1 -1 0	7	0.038
1 0 -1	10.625	0.004
0 1 -1	18.85	0.001
manejo:		
Entre grupos	29.972	0.001
Contrastes***:		
Grupos: 1 2 3 4 5		
1 -1 0 0 0	2.625	0.74
1 0 -1 0 0	8.25	0.015
1 0 0 -1 0	3.875	0.399
1 0 0 0 -1	7.3333	0.037
0 1 -1 0 0	6	0.075
0 1 0 -1 0	3.25	0.545
0 1 0 0 -1	11.25	0.002
0 0 1 -1 0	4.75	0.234
0 0 1 0 -1	18.917	0.001
0 0 0 1 -1	14.083	0.001
Entre grupos	29.972	0.001
Dentro de grupos	99.25	
Total	129.22	

\* matriz de semelhança obtida por distância euclidiana.

\*\* contrastes entre regiões: grupo 1 = pomares adultos; grupo 2 = pomares jovens e viveiros; grupo 3 = mata nativa.

\*\*\* contrastes entre manejos: grupo 1 = pomares adultos orgânicos; grupo 2 = pomares adultos convencionais; grupo 3 = pomar jovem e viveiro orgânico; grupo 4 = pomar jovem e viveiro convencional; grupo 5 = mata nativa.

Apêndice 04 – Análise de Variância Multivariada com Teste de Aleatorização\* de 36 unidades amostrais descritas por 47 morfotipos de FMAs pertencentes a mata nativa e a pomares e viveiros de citros no município de Montenegro/RS. As coletas foram realizadas no mês de março/2002.

Fonte de variacao	Soma de quadrados(Q)	P(QbNULL>=Qb)
regiões:		
Entre grupos	781.48	0.001
Contrastes:		
Grupos: 1 2 3		
1 -1 0	246.2	0.001
1 0 -1	427.8	0.001
0 1 -1	584.95	0.001
manejo:		
Entre grupos	936.47	0.001
Contrastes:		
Grupos: 1 2 3 4 5		
1 -1 0 0 0	50.262	0.703
1 0 -1 0 0	261.26	0.001
1 0 0 -1 0	117.91	0.105
1 0 0 0 -1	378.57	0.001
0 1 -1 0 0	186.48	0.016
0 1 0 -1 0	81.73	0.327
0 1 0 0 -1	351.2	0.001
0 0 1 -1 0	104.72	0.177
0 0 1 0 -1	551.17	0.001
0 0 0 1 -1	458.65	0.001
Entre grupos	936.47	0.001
Dentro de grupos	1641.3	
Total	2577.8	

\* matriz de semelhança obtida por distância euclidiana.

\*\* contrastes entre regiões: grupo 1 = pomares adultos; grupo 2 = pomares jovens e viveiros; grupo 3 = mata nativa.

\*\*\* contrastes entre manejos: grupo 1 = pomares adultos orgânicos; grupo 2 = pomares adultos convencionais; grupo 3 = pomar jovem e viveiro orgânico; grupo 4 = pomar jovem e viveiro convencional; grupo 5 = mata nativa.

Apêndice 05 – Análise de Variância Multivariada com Teste de Aleatorização\* de 36 unidades amostrais descritas por 10 grupos de gêneros de FMAs pertencentes a mata nativa e a pomares e viveiros de citros no município de Montenegro/RS. As coletas foram realizadas no mês de março/2002.

Fonte de variacao	Soma de quadrados(Q)	P(QbNULL>=Qb)
regiões:		
Entre grupos	557.45	0.001
Contrastes:		
Grupos: 1 2 3		
1 -1 0	195.06	0.01
1 0 -1	250.04	0.002
0 1 -1	441.27	0.001
manejo:		
Entre grupos	649.67	0.001
Contrastes:		
Grupos: 1 2 3 4 5		
1 -1 0 0 0	19.454	0.769
1 0 -1 0 0	239.92	0.002
1 0 0 -1 0	64.467	0.209
1 0 0 0 -1	202.08	0.004
0 1 -1 0 0	149.12	0.025
0 1 0 -1 0	28.839	0.6
0 1 0 0 -1	221.13	0.012
0 0 1 -1 0	72.763	0.186
0 0 1 0 -1	483.61	0.001
0 0 0 1 -1	276.1	0.002
Entre grupos	649.67	0.001
Dentro de grupos	941.43	
Total	1591.1	

\* matriz de semelhança obtida por distância euclidiana.

\*\* contrastes entre regiões: grupo 1 = pomares adultos; grupo 2 = pomares jovens e viveiros; grupo 3 = mata nativa.

\*\*\* contrastes entre manejos: grupo 1 = pomares adultos orgânicos; grupo 2 = pomares adultos convencionais; grupo 3 = pomar jovem e viveiro orgânico; grupo 4 = pomar jovem e viveiro convencional; grupo 5 = mata nativa.



Apêndice 06 – Análise de Variância Multivariada com Teste de Aleatorização\* de 36 unidades amostrais descritas pelas características químicas do solo pertencentes a mata nativa e a pomares e viveiros de citros no município de Montenegro/RS. As coletas foram realizadas no mês de março/2002.

Fonte de variacao	Soma de quadrados(Q)	P(QbNULL>=Qb)
Ecosistema		
Entre grupos	2.6595	0.001
Contrastes**:		
Grupos: 1 2 3 4 5	0.91524	
1 -1 0 0 0	0.68423	0.001
1 0 -1 0 0	0.88099	0.004
1 0 0 -1 0	1.0198	0.001
1 0 0 0 -1	0.45302	0.001
0 1 -1 0 0	0.18616	0.034
0 1 0 -1 0	0.71704	0.658
0 1 0 0 -1	0.42751	0.003
0 0 1 -1 0	0.76926	0.071
0 0 1 0 -1	0.74303	0.003
0 0 0 1 -1	5.6708	0.002
Total	8.3303	

\* matriz de semelhança obtida pelo índice de Gower.

\*\* contrastes entre manejos: grupo 1 = pomares adultos orgânicos; grupo 2 = pomares adultos convencionais; grupo 3 = pomar jovem e viveiro orgânico; grupo 4 = pomar jovem e viveiro convencional; grupo 5 = mata nativa.

Apêndice 07 – Análise de Variância Multivariada com Teste de Aleatorização\* de 36 unidades amostrais descritas pela riqueza de espécies de FMAs pertencentes a mata nativa e a pomares e viveiros de citros no município de Montenegro/RS. As coletas foram realizadas no mês de março/2002.

Fonte de variacao	Soma de quadrados(Q)	P(QbNULL>=Qb)
Ecosistema		
Entre grupos	281.22	0.001
Contrastes**:		
Grupos: 1 2 3 4 5	2.25	
1 -1 0 0 0	49	0.738
1 0 -1 0 0	42.25	0.083
1 0 0 -1 0	88.167	0.1
1 0 0 0 -1	30.25	0.011
0 1 -1 0 0	25	0.157
0 1 0 -1 0	112.67	0.212
0 1 0 0 -1	0.25	0.003
0 0 1 -1 0	228.17	0.932
0 0 1 0 -1	216	0.001
0 0 0 1 -1	242	0.001
Total	8.3303	

\* matriz de semelhança obtida por distância Euclidiana;

\*\* contrastes entre manejos: grupo 1 = pomares adultos orgânicos; grupo 2 = pomares adultos convencionais; grupo 3 = pomar jovem e viveiro orgânico; grupo 4 = pomar jovem e viveiro convencional; grupo 5 = mata nativa.

Apêndice 08 – Análise de Variância Multivariada com Teste de Aleatorização\* de 84 unidades amostrais descritas pela porcentagem de colonização radicular de FMAs. As unidades amostrais pertencem a pomares e viveiros de citros conduzidos com manejo convencional e orgânico, localizados no município de Montenegro/RS. As coletas foram realizadas no meses de agosto/2001, outubro/2001, março/2002 e agosto/2002.

Fonte de variacao	Soma de quadrados(Q)	P(QbNULL>=Qb)
Manejo:		
Entre grupos	8767.3	0.001
Contrastes***:		
Grupos: 1 2 3 4 5 6 7 8		
1 -1 0 0 0 0 0 0	4378	0.001
1 0 -1 0 0 0 0 0	2884	0.001
1 0 0 -1 0 0 0 0	3044.2	0.002
1 0 0 0 -1 0 0 0	96.796	0.512
1 0 0 0 0 -1 0 0	1613.7	0.009
1 0 0 0 0 0 -1 0	1543.6	0.01
1 0 0 0 0 0 0 -1	1096.3	0.033
0 1 -1 0 0 0 0 0	3.2319	0.921
0 1 0 -1 0 0 0 0	10.684	0.83
0 1 0 0 -1 0 0 0	3812.3	0.001
0 1 0 0 0 -1 0 0	137.69	0.438
0 1 0 0 0 0 -1 0	159.18	0.39
0 1 0 0 0 0 0 -1	353.23	0.248
0 0 1 -1 0 0 0 0	1.5625	0.925
0 0 1 0 -1 0 0 0	2916	0.002
0 0 1 0 0 -1 0 0	132.25	0.486
0 0 1 0 0 0 -1 0	150.06	0.429
0 0 1 0 0 0 0 -1	306.25	0.28
0 0 0 1 -1 0 0 0	3052.6	0.002
0 0 0 1 0 -1 0 0	162.56	0.421
0 0 0 1 0 0 -1 0	182.25	0.387
0 0 0 1 0 0 0 -1	351.56	0.24
0 0 0 0 1 -1 0 0	1806.2	0.005
0 0 0 0 1 0 -1 0	1743.1	0.006
0 0 0 0 1 0 0 -1	1332.2	0.017
0 0 0 0 0 1 -1 0	0.5625	0.968
0 0 0 0 0 1 0 -1	36	0.719
0 0 0 0 0 0 1 -1	27.562	0.757
Dentro de Grupos	11214	
Total	129.22	

\* matriz de semelhança obtida por distância euclidiana.

\*\* contrastes entre regiões: grupo 1 = pomares adultos; grupo 2 = pomares jovens e viveiros; grupo 3 = mata nativa. \*\*\* contrastes entre manejos: grupo 1 = pomare adulto orgânico várzea; grupo 2 = pomare adulto orgânico meia-encosta; grupo 3 = pomare adulto convencional várzea; grupo 4 = pomar adulto convencional meia-encosta; grupo 5 = pomar jovem orgânico; grupo 6 = pomar jovem convencional; grupo 7 = viveiro orgânico; grupo 8 = viveiro convencional.

Apêndice 09 – Análise de Variância Multivariada com Teste de Aleatorização\* de 84 unidades amostrais descritas pela presença de estruturas de FMAs em segmentos de raízes de citros. As unidades amostrais pertencem a pomares e viveiros de citros conduzidos com manejo convencional e orgânico, localizados no município de Montenegro/RS. As coletas foram realizadas no meses de agosto/2001, outubro/2001, março/2002 e agosto/2002.

Fonte de variacao	Soma de quadrados(Q)	P(QbNULL>=Qb)
Manejo:		
Entre grupos	39.393	0.001
Contrastes***:		
Grupos: 1 2 3 4 5 6 7 8		
1 -1 0 0 0 0 0 0	16.055	0.001
1 0 -1 0 0 0 0 0	15.361	0.001
1 0 0 -1 0 0 0 0	18.765	0.001
1 0 0 0 -1 0 0 0	1.8094	0.183
1 0 0 0 0 -1 0 0	9.796	0.001
1 0 0 0 0 0 -1 0	2.7618	0.083
1 0 0 0 0 0 0 -1	11.009	0.001
0 1 -1 0 0 0 0 0	1.4972	0.213
0 1 0 -1 0 0 0 0	2.1817	0.131
0 1 0 0 -1 0 0 0	6.4894	0.003
0 1 0 0 0 -1 0 0	1.9823	0.155
0 1 0 0 0 0 -1 0	2.7274	0.082
0 1 0 0 0 0 0 -1	0.72893	0.486
0 0 1 -1 0 0 0 0	0.13881	0.917
0 0 1 0 -1 0 0 0	7.4462	0.004
0 0 1 0 0 -1 0 0	1.8751	0.187
0 0 1 0 0 0 -1 0	4.8386	0.014
0 0 1 0 0 0 0 -1	1.3836	0.259
0 0 0 1 -1 0 0 0	9.4963	0.001
0 0 0 1 0 -1 0 0	2.7151	0.104
0 0 0 1 0 0 -1 0	6.3472	0.005
0 0 0 1 0 0 0 -1	1.9229	0.16
0 0 0 0 1 -1 0 0	2.9596	0.065
0 0 0 0 1 0 -1 0	0.82548	0.469
0 0 0 0 1 0 0 -1	4.1363	0.025
0 0 0 0 0 1 -1 0	2.0418	0.167
0 0 0 0 0 1 0 -1	0.4019	0.711
0 0 0 0 0 0 1 -1	2.1057	0.138
Dentro de Grupos	50.883	
Total	90.276	

\* matriz de semelhança obtida por distância euclidiana.

\*\* contrastes entre regiões: grupo 1 = pomares adultos; grupo 2 = pomares jovens e viveiros; grupo 3 = mata nativa. \*\*\* contrastes entre manejos: grupo 1 = pomare adulto orgânico várzea; grupo 2 = pomare adulto orgânico meia-encosta; grupo 3 = pomare adulto convencional várzea; grupo 4 = pomar adulto convencional meia-encosta; grupo 5 = pomar jovem orgânico; grupo 6 = pomar jovem convencional; grupo 7 = viveiro orgânico; grupo 8 = viveiro convencional.

Apêndice 10 – Correlação entre as características químicas do solo e as estruturas de FMAs presentes nas raízes de citros. Foram consideradas na análise 32 unidades amostrais pertencentes aos pomares adultos localizados as margens da RST 470 no Município de Montenegro/RS. As coletas foram realizadas nos meses de março/2002 e agosto/2002.

	Eestruturas	pH	MO	pH	K	Ca	Mg	Umidade
Probabilidades geradas por Aleatorização	Vesículas	0.136	0.007	0.038	0.813	0.036	0.134	0.005
	Arbúsculs	0.008	0.001	0.106	0.083	0.001	0.001	0.001
	Hifas	0.269	0.002	0.04	0.312	0.008	0.002	0.001
Índice de correlação	Vesículas	-0.27	-0.47	0.34	-0.04	-0.38	-0.26	-0.52
	Arbúsculs	-0.44	-0.75	0.29	0.30	-0.57	-0.58	-0.72
	Hifas	-0.18	-0.66	0.37	0.19	-0.45	-0.53	-0.77

Apêndice 11 – Análise de Variância Multivariada com Teste de Aleatorização\* de 64 unidades amostrais descritas pelas características do solo. As unidades amostrais pertencem a pomares e viveiros de citros conduzidos com manejo convencional e orgânico, localizados no município de Montenegro/RS. As coletas foram realizadas no meses de março/2002 e agosto/2002.

Fonte de variacao	Soma de quadrados(Q)	P(QbNULL>=Qb)
Manejo:		
Entre grupos	6.6007	0.001
Contrastes***:		
Grupos: 1 2 3 4 5 6 7 8		
1 -1 0 0 0 0 0 0	1.0071	0.001
1 0 -1 0 0 0 0 0	1.4426	0.001
1 0 0 -1 0 0 0 0	1.5005	0.001
1 0 0 0 -1 0 0 0	1.3887	0.001
1 0 0 0 0 -1 0 0	1.4335	0.001
1 0 0 0 0 0 -1 0	1.3217	0.001
1 0 0 0 0 0 0 -1	1.4322	0.001
0 1 -1 0 0 0 0 0	1.1922	0.001
0 1 0 -1 0 0 0 0	1.2033	0.001
0 1 0 0 -1 0 0 0	0.87048	0.001
0 1 0 0 0 -1 0 0	1.255	0.001
0 1 0 0 0 0 -1 0	0.83014	0.002
0 1 0 0 0 0 0 -1	1.1875	0.001
0 0 1 -1 0 0 0 0	0.53911	0.004
0 0 1 0 -1 0 0 0	0.63566	0.001
0 0 1 0 0 -1 0 0	0.41637	0.042
0 0 1 0 0 0 -1 0	0.92558	0.001
0 0 1 0 0 0 0 -1	0.47788	0.022
0 0 0 1 -1 0 0 0	0.47378	0.018
0 0 0 1 0 -1 0 0	0.97662	0.001
0 0 0 1 0 0 -1 0	1.2217	0.001
0 0 0 1 0 0 0 -1	0.23343	0.363
0 0 0 0 1 -1 0 0	0.84723	0.001
0 0 0 0 1 0 -1 0	0.48115	0.021
0 0 0 0 1 0 0 -1	0.39772	0.057
0 0 0 0 0 1 -1 0	0.87418	0.001
0 0 0 0 0 1 0 -1	0.79433	0.002
0 0 0 0 0 0 1 -1	1.0431	0.001
Dentro de Grupos	7.8594	
Total	14.46	

\* matriz de semelhança obtida pelo índice de Gower;

\*\* contrastes entre regiões: grupo 1 = pomares adultos; grupo 2 = pomares jovens e viveiros; grupo 3 = mata nativa. \*\*\* contrastes entre manejos: grupo 1 = pomare adulto orgânico várzea; grupo 2 = pomare adulto orgânico meia-encosta; grupo 3 = pomare adulto convencional várzea; grupo 4 = pomar adulto convencional meia-encosta; grupo 5 = pomar jovem orgânico; grupo 6 = pomar jovem convencional; grupo 7 = viveiro orgânico; grupo 8 = viveiro convencional.

Tabela 1 - Tipos morfológicos (morfortipos<sup>1</sup>) de esporos de FMAs e espécies identificadas em cada morfortipo unidades amostrais pertencentes a pomares, viveiros e mata nativa localizadas em Montenegro/RS. As coletas realizadas nos meses de agosto/2001, outubro/2001, março/2002 e agosto/2002.

espécies	Morfortipos																										
	A2	A5	B5	B6	B12	C4	C5	C7	E5	F3	F5	G2	G10	H2	H11	A1	B10	G9	H12	A4	C2	C3	C6	D2	D4	D5	
<i>Acaulospora sp 1</i>																X		X	X								
<i>Acaulospora aff. capsicula</i>																											X
<i>Acaulospora bireticulata</i>																	X				X	X					
<i>Acaulospora foveata</i>																											
<i>Acaulospora mellea</i>																								X			X
<i>Acaulospora rehmsii</i>																							X		X		
<i>Acaulospora scrobiculata</i>																							X			X	
<i>Entrophospora infrequens</i>																											
<i>Entrophospora colombiana</i>																											
<i>Gigasporaceae</i>																											
<i>Glomus sp 1</i>								X																			
<i>Glomus sp 2</i>											X			X													
<i>Glomus aff. australe</i>			X	X																							
<i>Glomus aff. fasciculatum</i>																							X				X
<i>Glomus aff. mosseae</i>																										X	
<i>Glomus aff. versiforme</i>																							X				
<i>Glomus claroideum</i>	X			X																		X		X		X	X
<i>Glomus etunicatum</i>				X	X										X							X		X			
<i>Glomus geosporum</i>			X			X																					
<i>Glomus glomerulatum</i>					X																						
<i>Glomus macrocarpum</i>	X						X		X	X			X								X			X	X		X
<i>Glomus microaggregatum</i>				X			X				X	X		X								X			X		X
<i>Scutellospora cerradensis cf.</i>																											
<i>Scutellospora heterogama</i>																											
<i>Scutellospora nodosa cf.</i>																											
<i>Scutellospora pellucida</i>																											

1 – Morfortipo = esporos de FMAs separados de acordo com o tamanho, forma, cor, transparência e brilho.





