

Diversidade de microrganismos do solo

Silvia Regina Goi¹, Francisco A. de Souza²

*Departamento de Ciências Ambientais, IF, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ),
BR 465, Km 7, Seropédica, RJ. Email: sgoi@globocom.com¹*

*Laboratório de Micologia, Embrapa Agrobiologia, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária.
BR465 Km 7, CEP 23890.000, Seropédica, RJ. Email: fdesouza@cnpab.embrapa.br²*

Recebido em 10 de novembro de 2006

Resumo

Os solos se constituem numa das últimas fronteiras para os estudos de biodiversidade e possuem um número extraordinário de grupos de microrganismos. Dentre esses microrganismos, destacam-se os que apresentam interação com as plantas e que possam contribuir para a sustentabilidade dos agroecossistemas. Este trabalho se concentra na discussão da diversidade de dois grupos de microrganismos do solo associados a plantas, as bactérias fixadoras de nitrogênio e os fungos micorrízicos arbusculares. Evidências obtidas até agora, indicam que a diversidade desses dois grupos de microrganismos do solo, controlam a diversidade e a produtividade de ecossistemas terrestres. No entanto, a magnitude destes resultados ainda tem sido pouco explorada, principalmente no Brasil, onde a grande maioria dos biomas ainda não foram bem caracterizados quanto a biodiversidade.

Palavras chave: bactérias fixadoras de nitrogênio, fungos micorrízicos arbusculares, agroecossistemas

Diversity of soil microorganisms

Abstract

Soil are one of the last frontiers for the biodiversity study and have a extraordinary number of microbial groups. Among them, stands out, the groups that show interaction with plants and can contributed for the sustainability of the agroecosystem. This review reports the discussion of diversity among two groups of soil microorganisms associated with plants, the nitrogen fixing bactérias and the arbuscular mycorrhizal fungi. Obtained evidences, show that the diversity of these two groups of microorganism can make a control the diversity and productivity of the land ecosystems. However, the extension of these results is not well explore, mainly in Brazil, where the most of biomes were not characterized in relation of the biodiversity.

Key words: nitrogen fixing bactéria, arbuscular mycorrhizal fungi, agroecosistems.

Diversidade de microrganismos

Os microrganismos compreendem muito da biodiversidade terrestre (Torsvik et al.,

2002) e desempenham funções importantes nos ciclos biogeoquímicos e no funcionamento dos ecossistemas (Bell et al., 2005). Além dessas “funções” ambientais, microrganismos e seus

derivados tem grande potencial biotecnológico, tais como, bioinoculantes para produção agroflorestal, controle biológico, bioremediação, produção de fármacos tais como antibióticos, enzimas, corantes entre outras substâncias químicas. Contudo a magnitude da biodiversidade microbiana ainda não é conhecida e conseqüentemente o potencial a ser explorado.

O padrão de distribuição espacial dos microrganismos também não é bem documentado (Green et al., 2006) e como os padrões de distribuição espacial são importantes para estabelecer prioridades conservacionistas, existiria aqui um grande potencial para o desenvolvimento de projetos de pesquisa. Além disso, o conceito de espécie em microrganismos ainda não está bem sedimentado. Principalmente, no caso dos procariontes devido a ocorrência freqüente de transmissão horizontal de genes.

Existem algumas razões para a falta de informação a cerca da diversidade microbiana. A maioria dos microrganismos não pode ser identificada morfológicamente e até recentemente só podiam ser identificadas através de crescimento em meios de cultura e através de testes bioquímicos. Muitos microrganismos não crescem em meios de cultura (Moreira et al., 2006). Estima-se que somente 1% das bactérias totais presentes no ambiente são cultiváveis em meios de cultura tradicionais. Isso tem sido chamado de “a grande anomalia da contagem de placas” (Stanley & Konopka 1985).

Uma outra razão é o fato de que considera-se que os microrganismos teriam distribuição cosmopolita e estariam distribuídos por todos os lugares pois a distribuição seria ilimitada (Green & Bohannan, 2006). As comunidades microbianas são muito abundantes, sendo que uma grama de solo pode conter 10^9 bactérias individuais (Green & Bohannan, 2006). Contudo, uma grande abundância ao nível de comunidade, não significa necessariamente grande riqueza de espécies. Não se sabe como é a capacidade de dispersão da maioria dos microrganismos (Papke & Ward, 2004). Algumas bactérias (Glöckner et al., 2000), fungos (Pringle et al., 2005) e actinomicetos (Brandão et al., 2002) mostram distribuição cosmopolita; mas existem evidências de que algumas espécies tem limitação na distribuição geográfica, por causa

de limitações na dispersão, implicando que nem todos os microrganismos tenham capacidade de se dispersar globalmente (Papke et al., 2003).

Recentemente, técnicas moleculares tem ajudado a revelar a existência de populações de microrganismos isoladas em diferentes tipos de habitats (Papke & Ward, 2004). Um exemplo que mostra a dependência de se usar um método sensível e adequado para levantamento de populações bacterianas e que serve para mostrar a existência de isolamento geográfico em bactérias é o trabalho desenvolvido por Cho & Tiedje (2000) que cultivaram 248 pseudomonas fluorescentes coletadas do solo de 10 locais em 4 continentes: América do Norte, América do Sul, Austrália e África. Usando diferentes níveis de resolução, obtiveram o seguinte resultado: a análise de restrição do 16S-23S revelou poucas diferenças entre as estirpes e nenhum endemismo; a análise de restrição da região do espaço interno de transcrito (ITS), revelou algum endemismo. Com REP-PCR, nenhum genótipo idêntico foi encontrado entre as diferentes regiões e agrupamentos geográficos foram observados, levando os autores a concluir que o isolamento geográfico tem um papel importante na diversificação das bactérias. Este resultado também exemplifica a problemática de se discriminar microrganismos, mesmo através da utilização de técnicas moleculares. Genes conservados, como o 16S-23S, não apresentam resolução para discriminar espécies próximas, para isso genes ou regiões gênicas menos conservadas são necessárias.

Outro argumento para explicar a possível distribuição cosmopolita dos microrganismos, seria que a baixa extinção e taxa de especiação limitaria a especiação local. O argumento para a baixa taxa de extinção é baseada no fato de que microrganismos possuem populações de grande tamanho, fazendo com que fenômenos estocásticos de extinção sejam menos prováveis. Porém não existem dados para comprovar esta hipótese. A capacidade de possuir esporos por exemplo, reduziria a probabilidade de extinção local, após algum evento ambiental que tivesse caráter catastrófico (Fenchel & Finlay, 2004). O argumento primário para uma baixa taxa de especiação seria a aparente falta de barreiras à dispersão, para que ocorra especiação como resultado do isolamento geográfico (especiação alopátrica) (Finlay, 2002). Outro mecanismo que

pode alterar a taxa de especiação seria a transferência horizontal de genes, que pode atuar como uma força coesiva (reduzindo a especiação) ou como uma fonte de inovação genética (aumentando a taxa de especiação) (Ochman et al., 2005).

No entanto, a distribuição cosmopolita de bactérias tem sido questionada, através da caracterização de comunidades microbianas por técnicas moleculares. Através destas técnicas tem sido possível detectar uma riqueza de bactérias nunca antes imaginada e uma grande variabilidade espacial, enquanto a detecção de bactérias por métodos de cultivo, limitava e restringia a detecção de bactérias a certos grupos capazes de se desenvolver em meios de cultivo, gerando a falsa impressão de que estes grupos eram dominantes e cosmopolitas. Além disso, microrganismos tidos como semelhantes com base na taxonomia morfológica ou mesmo molecular baseada em genes conservados podem apresentar grande distância genética e evolutiva, conforme discutido acima (Cho & Tiedje, 2000).

Em relação à diversidade dos agroecossistemas, a atividade agrícola tem levado a um declínio geral da biodiversidade medida através de diferentes táxons (Benton et al., 2003). A perda da heterogeneidade ecológica em escala múltipla temporal e espacial seria a consequência universal da intensidade da agricultura e a chave para restaurar a biodiversidade em sistemas agrícolas temperados seria o desenvolvimento de políticas em rede e soluções de manejo para recriar a heterogeneidade de espaço (Benton et al., 2003). A promoção da heterogeneidade seria mais importante do que a consideração individual de cada prática agrícola.

Alguns dos mecanismos que causam aumento da homogeneidade em habitats agrícolas são: extensas áreas agrícolas, simplificação da rotação de culturas, remoção de áreas silvestres, mecanização agrícola, uso de agro-químicos, irrigação, introdução de novas espécies vegetais em pastagens. Um mosaico de diferentes campos, conectados por habitat natural, pode servir de refúgio, áreas de alimentação e corredores de dispersão (Benton et al., 2003). Habitats não cultivados, são importantes como corredores de dispersão. As bordas das áreas cultivadas podem servir de corredores para pássaros (Hinsley & Bellamy, 2000) e coleópteros (Holland & Fahriq, 2000; Joyce et al., 1999). Faixas de

vegetação natural de videiras orgânicas na Califórnia, possibilitaram a rápida dispersão de inimigos naturais na cultura e controlaram eficientemente as pragas (Nicholls et al., 2001). Ao lado do declínio da biodiversidade de pássaros e mamíferos, deve-se ressaltar que a utilização continuada de áreas agrícolas, tem levado muitos solos à exaustão, com elevadas perdas da biodiversidade. Comparações entre produção orgânica e comercial, frequentemente indicam aumento da biodiversidade nas fazendas de produção orgânica na Europa e América do Norte, não só em relação aos organismos do solo (Yats et al., 1997; Hansen et al., 2001), como em relação a pássaros (Wilson et al., 1997; Freemark & Kirk, 2001), artrópodos (Moreby et al., 1994; Feber et al., 1997) e plantas daninhas (Hald, 1999; Rydberg & Milberg, 2000).

Este trabalho se concentra na discussão da diversidade de dois grupos de microrganismos do solo associados a plantas, as bactérias fixadoras de nitrogênio e os fungos micorrízicos arbusculares. Evidências obtidas até agora indicam que a diversidade desses dois grupos de microrganismos do solo controlam a diversidade e a produtividade de ecossistemas vegetais terrestres (van der Heijden et al., 1998; van der Heijden et al., 2006a; van der Heijden et al., 2006b). No entanto, a magnitude destes resultados ainda tem sido pouco explorada, principalmente no Brasil, onde a grande maioria dos biomas ainda não foram bem caracterizados (Surmer & Siqueira, 2006; Moreira et al., 2006).

Diversidade de bactérias fixadoras de nitrogênio

A fixação biológica de nitrogênio (FBN) é uma das mais importantes funções do sistema solo-planta. A capacidade de fixar nitrogênio é restrita a algumas espécies de bactérias e parte delas se associam simbioticamente com as leguminosas e são genericamente chamadas de rizóbio. A FBN tem alto valor econômico, por causa da sua eficiência em suprir N_2 atmosférico (em torno de $139 \cdot 10^6$ mg N/ano) aos ecossistemas terrestres (Moreira, 2006) e é portanto aqui considerado um serviço do ecossistema.

A importância da FBN para os agroecossistemas está bem documentada, onde apenas a soja representa

uma quantidade de N_2 fixado de 2.10^6 mg N por ano, representando uma economia de cerca de US 2,0 bilhões para o país. No ano de 1992 foi cultivada uma área de 465.621,00 hectares de soja no Estado de São Paulo; considerando a média de 6,4% de N nas sementes e a produtividade média de grãos de 2,1 t/ha, a extração de N naquela área corresponde a 62.579,5 t. Com um custo de US\$ 800,00 por t de nitrogênio, estima-se que a economia com a adubação nitrogenada no Estado de São Paulo é no mínimo da ordem de 50 milhões de dólares (Lima et al., 1998).

Contudo estima-se que a habilidade de fixar nitrogênio é desconhecida para cerca de 11.200 espécies de leguminosas espalhadas ao redor do mundo (Moreira et al., 2006), indicando um potencial ainda não explorado de benefícios dessas espécies aos ecossistemas. A maioria das espécies que nodulam estão entre as Mimosoideae (90%) e Papilionoideae (96%), sendo que as Caesalpinioideae representam somente 24%.

Em relação às espécies de bactérias que fixam nitrogênio em simbiose com as leguminosas, foram classificadas 47 espécies, pertencentes a 11 gêneros. Essas espécies se enquadram no Phylum α -Proteobacteria e β -Proteobacteria. Em adição às espécies genericamente denominadas rizóbio, recentemente foram descritos novos gêneros de bactérias que fixam nitrogênio em associação com as leguminosas. *Burkholderia* sp (Moulin et al., 2001), *Ralstonia* (Chen et al., 2001), *Methylobacterium* (Sy et al., 2001) e *Blastobacter* (van Berkun & Eardly, 2002).

Tentando relacionar a biodiversidade de rizóbio com plantas cultivadas e selvagens, Mutch & Young (2004) citam que existem algumas indicações que a diversidade pode ser maior e a recombinação mais generalizada em agroecossistemas do que em populações selvagens. A maior parte das pesquisas com populações de rizóbio são feitas com plantas cultivadas, frequentemente crescendo fora da área dos ancestrais nativos, como a soja e a ervilha, o que limita a generalização sobre biodiversidade de rizóbio em áreas agrícolas.

Em levantamento de diversidade de rizóbio feito entre leguminosas florestais no Brasil, Moreira et al (1998) encontraram que embora as estirpes mostrassem uma variedade de seqüências, as estirpes isoladas de plantas taxonomicamente tão diversas em ambientes não explorados, foram muito similares às

estirpes anteriormente descritas, muitas isoladas de agroecossistemas. Moreira (2006) cita que no Brasil, muitas ramificações filogenéticas de Leguminosae compreendem bactérias que nodulam legumes, que também são filogeneticamente diversas, o que corrobora a hipótese de que não teria ocorrido co-evolução entre simbionte e hospedeiro.

Em relação à diversidade de bactérias diazotróficas endofíticas, associativas ou de vida livre, destaca-se a importância do gênero *Burkholderia*, que já foi encontrada em associação com plantas não leguminosas e formam nódulos com leguminosas. Associadas com cana-de-açúcar, foram recentemente descritas *B. unamae* (Caballero-Mellado et al., 2004), *B. tropica* (Reis et al., 2004), *B. silvatlantica* sp. nov. (Perin et al., 2006), *B. tropica*, *B. kururiensis* e *B. caribensis* cultivadas no Brasil e Austrália (Boddey, 2003). O gênero *Azospirillum* é representado por 7 espécies, *A. amazonense*, encontrada em associação com milho, arroz, cana-de-açúcar, sorgo, *Brachiaria*, palmeiras e frutíferas. *A. brasilense* e *A. lipoferum* isolada de diversos cereais e *A. halopraeferens* isolada de uma gramínea *Leptochloa fusca*, *A. doebereineriae* isolada de *Miscanthus* e *A. irakense* isolada de arroz. Entre as endofíticas, cita-se *Gluconacetobacter diazotrophicus*, *Herbaspirillum seropedicae*, *Herbaspirillum rubrisubalbicans* e *Azoarcus* spp (Reis et al., 2006).

Diversidade de Fungos Micorrízicos

Micorriza é a denominação para diferentes tipos de simbiose entre fungos de solo e raízes de plantas, sendo reconhecidos atualmente seis tipos diferentes: arbuscular, arbutóide, ecto, ericóide, monotropóide, orquídoide (Smith & Read, 1987). Dentre os tipos de micorriza, a micorriza arbuscular é a mais ancestral e apresenta maior ocorrência entre plantas tropicais e de interesse agrícola. As ectomicorrizas tem maior revelância para espécies arbóreas, porém não há relatos da sua ocorrência em espécies nativas do Brasil. Não obstante, as ectomicorrizas tem grande valor comercial para inoculação de espécies exóticas, tais como *Pinus*, *Eucaliptus* e *Acacia*. Este texto focaliza a diversidade dos fungos micorrízicos arbusculares. Para aqueles interessados em maiores detalhes sobre simbiose micorrízica em geral, sugerimos Moreira & Siqueira (2006) como a mais completa revisão sobre micorrizas no Brasil e Berbara et al (2006) sobre

aspectos relacionados à nutrição e outros benefícios das micorrizas arbusculares para o crescimento de plantas.

Fungos Micorrízicos Arbusculares (FMA) – filo Glomeromicota - são membros importantes do sistema solo-planta uma vez que a própria diversidade destes fungos está intimamente ligada à diversidade e a produtividade de comunidades vegetais. Os FMA formam simbiose mutualística, denominada micorriza arbuscular (MA), com espécies da maioria das famílias de plantas. Nesta simbiose, a planta supre o fungo com energia para crescimento e reprodução via fotossíntese e o fungo provê a planta e o solo com uma gama de serviços. O principal destes, ou pelo menos o mais evidente até o momento, é realizado pelo micélio extra radicular do fungo e consiste na absorção de nutrientes obtidos de áreas localizadas além da zona de depleção da raiz, em especial fósforo, e translocação e disponibilização destes nutrientes para células do cortex de raízes de plantas micotróficas (Bolan, 1991; Smith & Read, 1997; Miyasaka & Habte, 2001). Outro efeito relevante dos FMA é o aumento na resistência da planta ao ataque de patógenos do sistema radicular e na capacidade de absorção de água (Smith & Read, 1997; Jeffries et al., 2003; Berbara, de Souza, & Fonseca, 2006; Moreira & Siqueira, 2006). Os FMA contribuem também para a acumulação de carbono (Rillig et al., 2001) e biomassa microbiana em solos (Olsson & Wilhelmsson, 2000), favorecendo assim o seqüestro de carbono da atmosfera. No solo, favorecem a formação e estabilidade de agregados, não só pela ação física do micélio fúngico, mas também através da ação de uma glicoproteína, denominada glomalina, que é produzida por estes fungos (Wright & Upadhyaya, 1996, 1998; Rillig & Mummey, 2006).

A importância econômica dos FMA para agricultura sustentável (Jeffries, 1987; Jeffries et al., 2003), recuperação de áreas degradadas (Jasper, 1994; de Souza & da Silva, 1996) e para uso eficiente de recursos não renováveis como fósforo (Smith & Read 1987; Moreira & Siqueira 2006; Berbara et al., 2006) tem sido amplamente aceito pela comunidade científica. Além disso, várias espécies de plantas não conseguem sobreviver em solos de baixa fertilidade natural na ausência da simbiose micorrízica. Entre estas espécies estão culturas de grande importância para o agronegócio e para a segurança alimentar como, por

exemplo, café, citrus, mandioca, batata doce, soja, e várias espécies arbóreas nativas do Brasil.

Infelizmente, estudos sobre ecologia e diversidade de espécies neste grupo de fungos ainda estão na sua infância (Hart & Klironomos, 2002; Fitter, 2005). A magnitude dos benefícios da simbiose micorrízica dependem da interação entre macro e micro simbiotes (Bever, 2002; 2003) e das características ambientais, como disponibilidade de fósforo e oferta de carbono ao simbiote (Moreira & Siqueira 2006; Berbara et al., 2006). Estas características sugerem que os FMA são funcionalmente diversos. Estudos consagrados confirmam que comunidades vegetais regulam e são regulados por FMA (Grime et al., 1987; van der Heijden et al., 1998; van der Heijden et al., 2006). Esta íntima relação ecológica se justifica pela idade ancestral e longo período de co-evolução desta simbiose.

Registros fósseis indicam que os Glomeromicetos e a simbiose que estes fungos formam com plantas, já estavam presentes em espécies da flora terrestre primordial, indicando a origem ancestral tanto dos fungos quanto da simbiose. O registro fóssil mais antigo de esporos de fungos e hifas similares aos atuais Glomeromicetos são do segundo período da Era Paleozóica, Ordoviciano, e datam de 460 milhões de anos atrás (MAA), período no qual a flora possivelmente estava no nível evolutivo das briófitas (Redecker, Kodner, & Graham, 2000). Estimativas feitas com o relógio molecular calibrado com este dado fóssil e taxas de substituição de nucleotídeos da sub-unidade menor do gene ribossomal (18S rRNA) apontam que a origem dos principais grupos de fungos terrestres (Glomeromicetos, Ascomicetos e Basidiomicetos) ocorreu a mais de 600 (MAA) (Redecker et al., 2000).

Fósseis, mostrando evidências claras da presença da simbiose micorrízica arbuscular, foram obtidos de “prostotelos” (“raízes” primitivas) de *Aglaophyton major*, uma espécie fóssil encontrada na flora do Rhynie chert, Escócia, datando 410-360 MAA. Nos tecidos colonizados desta espécie foram encontrados arbúsculos e vesículas similares aos encontrados nas espécies de plantas atuais (Remy et al., 1994; Taylor et al., 1995). A espécie é considerada uma das primeiras plantas vasculares terrestres, porém sua relação filogenética não é conhecida. Esses registros não deixam dúvidas sobre a presença da simbiose mi-

Tabela 1. Classificação filogenética atual dos Glomeromicetos segundo Ordens, Famílias e Gêneros, número de espécies descritas por gênero e presença de espécies com a forma globoide no gênero, formação de vesículas (V), células auxiliares (CA) e modo de germinação.

Table 1. Phylogenetic classification of Glomeromicetos in Ordem, Family and Genera, number of species, described in each genera, vesicule formation (V), auxiliar cells (CA) and way of germination.

Ordem	Família	Gênero	Número de espécie ¹	Esporos com forma globoide	V	CA	Germinação
Archaeosporales	Ambisporaceae ²	<i>Ambispora</i>	4	+	raras?	-	???
	Archaeosporaceae	<i>Archaeospora</i>	1	-	-	-	???
		<i>Intraspora</i> ⁴	1	-	raras?	-	???
	Geosiphonaceae ³	<i>Geosiphon</i>	1	+	-	-	???
Diversisporales	Acaulosporaceae	<i>Acaulospora</i>	33	-	+	-	através da parede
		<i>Kuklospora</i> ⁴	2	-	+	-	através da parede
	Diversisporaceae	<i>Diversispora</i>	1	+	+	-	???
	Entrophosporaceae ⁴	<i>Entrophospora</i>	2	-	???	-	???
	Gigasporaceae	<i>Gigaspora</i>	8	-	-	+	através da parede
		<i>Scutellospora</i>	33	-	-	+	através da parede
	Pacisporaceae ⁵	<i>Pacispora</i>	7	+	+	+	através da parede
Glomerales	Glomeraceae ⁶	<i>Glomus</i>	106	+	+	-	hifa sustentação
Paraglomerales	Paraglomeraceae	<i>Paraglomus</i>	2	+	-	-	???
Total	4	10	13	201			

+ = presença, - = ausência, ??? = sem informação, ou necessita de confirmação; raras? = informação necessita confirmação devido a formação de esporos intraradulares;

- (1) O número total de espécies inclui algumas sinônimas;
- (2) A família Ambisporaceae e o gênero *Ambispora* foram propostos a partir da espécie *Glomus callosum* e espécies classificadas como *Archaeospora*, bem como novas descrições com suporte da análise de sequências do 18 rDNA e 5.8S e regiões intergenicas ITS 1 e 2 (Walker et al., in press).
- (3) *Geosiphon* forma simbiose mutualística com cianobactérias, mas não forma simbiose com plantas, assim não é FMA. Por outro lado sua inclusão no Filo Glomeromicota é amplamente justificada por evidências morfológicas (esporos globoides) e moleculares pela análise do 18S rDNA.
- (4) A família Entrophosporaceae e os gêneros *Kuklospora* e *Intraspora* foram propostos para acomodar espécies classificadas como *Entrophospora*, mas que apresentam claras diferenças morfológicas quanto a formação e estrutura de esporos, bem como, algum suporte da filogenia molecular baseado no gene ribossomal (25S rRNA) para *Intraspora* (Oehl et al 2006);
- (5) A família Pacisporaceae e o gênero *Pacispora* foram propostos para acomodar a espécie *Glomus scintillas* e espécies relacionadas que formam esporos globoides com paredes germinativas com características encontradas nos gêneros *Acaulospora*, *Kuklospora* e *Scutellospora* (Oehl & Sieverding 2004). O gênero *Pacispora*. Essa família pertence a ordem Diversisporales com suporte citológico, morfológico e molecular (Walker et al. 2004; Walker & Schüßler 2004).
- (6) O gênero *Glomus* é polifilético e foi subdividido em *Glomus* A, B e C (Schwarzott et al 2001). *Glomus* grupo C foram reclassificados para família Diversisporaceae gênero *Diversispora*;

corrízica na flora primordial e dão suporte à hipótese de que os Glomeromicetos e a simbiose micorrízica foram fundamentais para a colonização do ambiente terrestre pelas plantas (Pyrozynski & Malloch, 1975; Simon et al., 1993).

A partir destas evidências, uma estimativa menos conservadora feita a partir de seqüências que codificam para proteínas, foi estimado que os Glomeromicetos se separaram de outros grupos de fungos ao

redor de 1200-1400 MAA (Heckman et al., 2001). Esta estimativa também é suportada pelas evidências fósseis que indicam que os Glomeromicetos já haviam diferenciado as principais famílias conhecidas atualmente no primeiro período do Devoniano. Embora a partir dos registros fósseis não seja possível confirmar a significância funcional da associação Glomeromicetos-plantas, as características do ambiente no qual a flora terrestre primordial vivia e as

características dos órgãos absorventes destas plantas, muito limitados, sugere que elas seriam grandemente beneficiadas pela associação micorrízica para absorção de nutrientes minerais.

Diversidade de espécies no Filo Glomeromycota

Até o momento, são conhecidas cerca de 201 espécies de FMA (Tabela 1). O número de espécies foi inicialmente contabilizado a partir da lista de espécies apresentada no site <http://www.AMF-phylogeny.com>, e posteriormente atualizada com publicações recentes. A pequena riqueza de espécies conhecidas dos Glomeromicetos é paradoxal, principalmente quando comparada à origem ancestral (1200-1400 MAA) deste grupo de fungos, à grande diversidade de plantas que estes fungos se associam, e ao longo período de co-evolução da simbiose micorrízica e a ocorrência quase que generalizada dos FMA nos ecossistemas terrestres. Além disso, microsimbiontes tendem a desenvolver especificidade hospedeira em simbioses altamente desenvolvidas, como é o caso da simbiose micorrízica arbuscular. A baixa riqueza de espécies e a ausência de especificidade hospedeira em FMA tem sido explicada pelo modo de reprodução exclusivamente clonal dos Glomeromicetos e pelo fato de se poder crescer diferentes espécies de FMA utilizando uma única espécie de planta hospedeira (Smith & Read, 1997). No entanto, a baixa diversidade e especificidade hospedeira dos FMA indica que este grupo de organismos apresenta uma grande redundância funcional. Por outro lado, este dado pode estar indicando que os critérios utilizados para definir espécies em Glomeromicetos podem ser insuficientes para diferenciar espécies e suas funções ecológicas. Além disso, existe uma clara necessidade de se conduzir inventários de longa duração, para que se possa acessar com maior precisão a diversidade dos FMA.

A aparente ausência de especificidade hospedeira e o modo de reprodução clonal têm sido utilizados para explicar a baixa riqueza de espécies neste grupo de fungos. No entanto, estudos de diversidade baseados em técnicas de biologia molecular, têm revelado uma grande riqueza de espécies baseadas em sequências de DNA (Unidades de Taxonomia Operacional). Por exemplo, Wubet et al, (2003) avaliaram a diversidade

molecular de FMA colonizando raízes de *Prunus africana*, uma espécie arbórea com propriedades medicinais que está em risco de extinção. Amostras de raízes foram coletadas de duas localidades na Etiópia, e a diversidade de FMA foi avaliada através da amplificação da região ITS com iniciadores específicos para FMA, seguido de clonagem e sequenciamento. Foram encontradas 109 seqüências relacionadas ao filo Glomeromycota. Após análise filogenética conjunta do gene 5.8S rRNA e região ITS2 foram identificados vários FMA, sendo que 20 UTO identificadas não apresentaram homologia com seqüências de espécies conhecidas nos bancos de dados (Wubet et al., 2003). E um número crescente de evidências apontam para ocorrência de comunidades distintas de FMA em plantas que co-habitam o mesmo local (ver revisões Sanders, 2003; Fitter, 2005; Fitter et al., 2005). O trabalho de Vandenkoornhuys e colaboradores é um ótimo exemplo. Eles analisaram a diversidade de FMA via T-RFLP (Terminal restriction fragment length polymorphism) em 89 amostras de raízes de três espécies de plantas que co-habitavam em parcelas de um experimento de campo. As comunidades de FMA nas três espécies de plantas apresentaram-se estatisticamente diferentes (Vandenkoornhuys et al., 2003), indicando a ocorrência de preferência hospedeira em FMA.

O Brasil é um país megadiverso, e já foram reportados mais de 82 espécies de FMA em seu território, o que representa aproximadamente 41% da diversidade total (201 espécies) conhecida de FMA. Na maioria dos inventários feitos no Brasil estão listadas espécies não conhecidas. Porém, foram descritas até o momento somente quatro espécies a partir de material coletado no Brasil, *Gigaspora ramisporophora* (Spain, Sieverding, & Schenck, 1989), *Scutellospora ceradensis* (Spain & de Miranda, 1996a), *Paraglomus brasilianum* (*Glomus brasilianum*, Spain & de Miranda, 1996b) e *Scutellospora rubra* (Sturmer & Morton, 1999b).

O ponto chave para se descrever uma nova espécie está na comprovação de que o organismo encontrado não foi descrito anteriormente. Neste sentido é necessário apresentar evidências que comprovem que a espécie a ser proposta como nova para a ciência tem características únicas em relação a outras espécies conhecidas. Infelizmente, no caso dos FMA o conceito de espécies ainda não está estabelecido. E não existe

nenhuma publicação ou base de dados completa que apresente características morfológicas e moleculares de todas as espécies conhecidas. Para dificultar ainda mais, algumas descrições, principalmente as mais antigas, foram feitas a partir de esporos coletados diretamente do campo, o que muitas vezes prejudica a qualidade da análise morfológica e consequentemente a descrição da espécie, dificultando comparações futuras. Além do que as descrições mais antigas não trazem uma riqueza de detalhes sobre a morfologia dos esporos, germinação, estruturas intraradiculares, etc, devido a falta de critérios para descrição.

Estratégias para acessar a diversidade de espécies de FMA

Comunidades de FMA tem sido analisadas, basicamente, através de três métodos, (1) extração direta de esporos, (2) cultivo armadilha, ambos seguidos de identificação morfológica de esporos (Douds & Millner, 1999; Bever et al., 2002; Oehl et al., 2005) e (3) métodos moleculares baseados na extração, amplificação e caracterização de ácidos nucleicos (Clapp et al., 2002). O grupo de pesquisa da Universidade de York na Inglaterra traz um ótimo exemplo da necessidade de integração dos métodos de avaliação da diversidade e dinâmica de comunidades de FMA. Os dados foram obtidos após vários anos de análise de uma comunidade de FMA de um sítio denominado “Pretty Wood” na Inglaterra. A diversidade de FMA foi avaliada por três métodos distintos: (a) caracterização do DNA em raízes de plantas; (b) extração direta de esporos; e (c) cultivo armadilha. Utilizando estes métodos os pesquisadores identificaram espécies com 5 comportamentos distintos que demonstram que nenhum destes métodos é capaz de revelar toda a diversidade de FMA presentes na área. (1) Espécies abundantes em raízes, com esporos raros ou ausentes; (2) Espécies raras em raízes e esporos ausentes, mas facilmente obtidas em cultivo armadilha; (3) Espécies abundantes em raízes e esporos encontrados no solo e em cultivo armadilha, mas não culturáveis isoladamente; (4) Espécies obtidas em cultivo armadilha, mas não encontradas em raízes ou como esporos no solo; (5) Espécies encontradas como esporos no solo, mas ausentes em raízes e em cultivo armadilha (Clapp et al., 2002). Este exemplo deixa claro que esses métodos devem ser utilizados

em conjunto de forma a se obter uma visão mais completa da biologia e ecologia destes fungos.

A amostragem é um ponto crítico em inventários de diversidade, tanto para coleta de solo, destinada a avaliação de esporos, como para coleta de raízes para avaliação de taxas de colonização e diversidade molecular de FMA. O sistema radicular de uma mesma planta pode conter dezenas de espécies de FMA e já foram detectados até 4 espécies de FMA, de gêneros diferentes em um único centímetro de raiz (Van Tuinen et al., 1998). Devido ao custo mais elevado da análise molecular, o planejamento da amostragem deve ser muito bem feito. A suficiência amostral deve ser determinada através de “curva do coletor”, como também para determinar o número de clones a serem analisados de um biblioteca construída a partir da clonagem de produtos de PCR. Estas medidas são importantes para que se possa avaliar espécies abundantes, comuns e raras.

Renker et al., (2006) avaliaram três procedimentos para se trabalhar com DNA extraído de raízes de plantas. Eles extraíram DNA de 50 amostras de raízes de *Plantago lanceolata*, e (1) amplificaram separadamente o DNA de cada amostra por PCR e clonaram separadamente cada reação; (2) amplificaram separadamente o DNA de cada amostra e posteriormente combinaram 1µl do produto do PCR de cada amostra e desta mistura foi feita a clonagem; (3) combinaram alíquotas de DNA das 50 amostras e 1µl da mistura foi utilizado para PCR e posterior clonagem. Os resultados dos procedimentos 1 e 2 foram semelhantes, sendo o procedimento 2 mais barato e rápido de ser executado. Já no procedimento 3, a detecção de FMA foi prejudicada e aumentou a detecção de organismos não alvo.

Considerações finais e conclusões

O acesso, a caracterização e a preservação da diversidade desses grupos de microrganismos dependerá da organização e soma de esforços da comunidade científica nacional e da criação de linhas de fomento permanentes para a execução de pesquisas nesta área. Da mesma forma, urge a necessidade de incentivos para estruturação, manutenção e implementação de bancos de germoplasma. Linhas de fomento direcionadas a pesquisa em microbiologia do solo devem ter caráter permanente e financiar pesquisa de longa

duração. Como também o fomento para estruturação e manutenção de bancos de germoplasma de microrganismos

Como áreas para investigação, pode-se sugerir inventários em biomas e de plantas ameaçados de extinção, aprimoramento de técnicas para isolamento, caracterização e preservação de germoplasma de bactérias diazotróficas e FMA. Finalmente um dos pontos chaves para o avanço do conhecimento sobre a evolução, ecologia e diversificação desses grupos de microrganismos está no aprimoramento do conceito de espécies e na elucidação dos mecanismos responsáveis pela geração de variabilidade genética.

Agradecimentos

Ao CNPq pelo suporte financeiro via Fomento Tecnológico e Projeto Universal (processo 477094/2004-0). Ao Inter American Institute for Global Change Research (programa IAI - CRN II) e a EMBRAPA projeto MP3 pelo apoio financeiro.

Referências Bibliográficas

ADHOLEYA, A., TIWARI, P., SINGH, R. Large-Scale inoculum production of arbuscular mycorrhizal fungi on root organs and inoculation strategies. In S. Declerck, D. G. Strullu, & J. A. Fortin [eds.], **In Vitro Culture of Mycorrhizas**, 315-338. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg. 2005.

AN, Z. Q., GUO, B. Z., HENDRIX, J. W. Populations of Spores and Propagules of Mycorrhizal Fungi in Relation to the Life-Cycles of Tall Fescue and Tobacco. **Soil Biology and Biochemistry** V.25, p. 813-817, 1993.

AN, Z. Q., HENDRIX, J. W., HERSHMAN, D. E., HENSON G. T. Evaluation of the Most Probable Number (Mpn) and Wet-Sieving Methods for Determining Soil-Borne Populations of Endogonaceous Mycorrhizal Fungi. **Mycologia**, V. 82, p. 576-581, 1990.

BATEMAN, R. M., CRANE, P. R., DIMICHELE, W. A., KENRICK, P. R., ROWE, N. P., SPECK, T., & STEIN W. E. Early evolution of land plants: Phylogeny, physiology, and ecology of the pri-

mary terrestrial radiation. **Annual Review of Ecology and Systematics**, V.29, p. 263-292, 1998.

BECARD, G., PFEFFER, P. E. Status of Nuclear Division in Arbuscular Mycorrhizal Fungi During in-Vitro Development. **Protoplasma**, V. 174, p. 62-68, 1993.

BELL, T., NEWMAN, J. A., SILVERMAN, B. W., TURNER, S. I., LILEY, A. K. The contribution of species richness and composition to bacterial services. **Nature**, V. 436, p. 1157-1160, 2005.

BENTIVENGA, S. P., MORTON, J. B. A Monograph of the Genus Gigaspora, Incorporating Developmental Patterns of Morphological Characters. **Mycologia**, V. 87, p. 719-731, 1995.

BENTON, T. G., VICKERY, J. A., WILSON, J. D. Farmland biodiversity: is habitat heterogeneity the key? **Trends in Ecology and Evolution**, V. 18, p. 182-188, 2003.

BERBARA, R. L. L., DE SOUZA, F. A., FONSECA, H. M. A. C., SOUZA, S. R. Transgenic root systems in Arbuscular Mycorrhizal Fungi studies. **Agronomia**, V. 35, p. 58-65, 2001.

BERBARA, R. L. L., DE SOUZA, F. A., FONSECA, H. M. A. C. Fungos Micorrízicos arbusculares: Muito além da nutrição. In M. S. Fernandes [ed.], **Nutrição Mineral de Plantas**, pp. 53-88. Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, Viçosa, MG, Brasil. 2006.

BEVER, J. D. Negative feedback within a mutualism: host-specific growth of mycorrhizal fungi reduces plant benefit. **Proceedings of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences**, V. 269, p. 2595-2601, 2002.

BEVER, J. D. Soil community feedback and the coexistence of competitors: conceptual frameworks and empirical tests. **New Phytologist**, V.157, p. 465-473, 2003.

BEVER, J. D., PRINGLE A., SCHULTZP. A. Dynamics within the plant - arbuscular mycorrhizal

- fungal mutualism: testing the nature of community feedback. In M. G. A. van der Heijden & I. R. Sanders [eds.], **Mycorrhizal Ecology**, pp. 267-292, Springer-Verlag, Berlin Heidelberg New York, 2002.
- BEVER, J. D., MORTON, J. Heritable variation and mechanisms of inheritance of spore shape within a population of *Scutellospora pellucida*, an arbuscular mycorrhizal fungus. **American Journal of Botany**, V. 86, p. 1209-1216, 1999.
- BEVER, J. D., SCHULTZ, P. A., PRINGLE, A., MORTON, J. B. Arbuscular mycorrhizal fungi: More diverse than meets the eye, and the ecological tale of why. **Bioscience**, V. 51, p. 923-931, 2001.
- BIANCIOTTO, V., BONFANTE, P. Quantification of the Nuclear-DNA Content of 2 Arbuscular Mycorrhizal Fungi. **Mycological Research** V. 96, p. 1071-1076, 1992.
- BODDEY, L. H. **Ocorrência e diversidade de bactérias diazotróficas do gênero *Burkholderia*, isoladas de cana-de-açúcar (*Saccharum* sp) cultivadas na Austrália e no Brasil**. 2003. 109p. Tese. PPGCiência do Solo, IA, UFRRJ.
- BODDINGTON, C. L., DODD, J. C. The effect of agricultural practices on the development of indigenous arbuscular mycorrhizal fungi. I. Field studies in an Indonesian ultisol. **Plant and Soil**, V. 218, p. 137-144, 2000.
- BOLAN, N. S. A Critical-Review on the Role of Mycorrhizal Fungi in the Uptake of Phosphorus by Plants. **Plant and Soil**, V. 134, p. 189-207, 1991.
- BRANDÃO, P. F. B, CLAPP, J. P., BULL, A.T. Discrimination and taxonomy of geographically diverse strains of nitrile-metabolizing actinomycetes using chemometric and molecular sequencing techniques. **Environment Microbiology**, V. 4, p. 262-276, 2002.
- BRUNDRETT, M. C. Coevolution of roots and mycorrhizas of land plants. **New Phytologist**, V. 154, p. 275-304, 2002.
- 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** V. 8, p. 315-321, 1999.
- 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** 8: 305-314, 1999.
- CABALLERO-MELLADO, J., MARTINEZ-AGUILAR, L., PAREDES-VALDEZ, G., ESTRADA DE LOS SANTOS, P. *Burkholderia unamae* sp. nov., an N₂-fixing rhizospheric and endophytic species. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, V. 54, p. 1165-1172, 2004.
- CAPRONI, A. L., FRANCO A. A., BERBARA R. L. L., TRUFEM S. B., GRANHA J., MONTEIRO A. B. Arbuscular mycorrhizal fungi occurrence in revegetated areas after bauxite mining at Porto Trombetas, Para State, Brazil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** V. 38, p. 1409-1418, 2003.
- CARRENHO, R., SILVA, E. S., TRUFEM, S. F. B., BONONIV, L. R. Successive cultivation of maize and agricultural practices on root colonization, number of spores and species of arbuscular mycorrhizal fungi. **Brazilian Journal of Microbiology** V.32, p. 262-270, 2001.
- CHEN, W. M., LAESENS, S., LEE, T. M., COENYNE, T., VOS, P., MERGEAY, M., VANDAMME, P. *Ralstonia taiwanensis* sp. Nov. isolated from nodules of *Mimosa* species and sputum of a cystic fibrosis patient. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, V. 51, p. 1729-1735, 2001.
- CHO, J. C., TIEDJE, J. M. Biogeography and degree of endemism of fluorescent *Pseudomonas* strains in soil. **Applied and Environment Microbiology**, V. 66, p. 5448-5456, 2000.
- CLAPP, J. P., HELGASON, T., DANIELL, T. J., YOUNG, J. P. W. Genetic studies of the structure

- and diversity of arbuscular mycorrhizal fungal communities. In M. G. A. van der Heijden & I. R. Sanders [eds.], **Mycorrhizal Ecology**, pp. 201-224. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg New York, 2002.
- COOKE, J. C., GEMMA J, N., KOSKER, E. Observations of Nuclei in Vesicular-Arbuscular Mycorrhizal Fungi. **Mycologia**, V. 79, p. 331-333, 1987.
- CORRADI, N., HIJRI, M., FUMAGALLI, L., SANDERS, I. R. Arbuscular mycorrhizal fungi (Glomeromycota) harbour ancient fungal tubulin genes that resemble those of the chytrids (Chytridiomycota). **Fungal Genetics and Biology** V. 41, p. 1037-1045, 2004.
- CUENCA, G., MENESES, E. Diversity patterns of arbuscular mycorrhizal fungi associated with cacao in Venezuela. **Plant and Soil** V. 183, p. 315-322, 1996.
- DA SILVA, G. A., LUMINI, E., COSTA MAIA, L., BONFANTE, P., & BIANCIOTTO, V. Phylogenetic analysis of Glomeromycota by partial LSU rDNA sequences. **Mycorrhiza** V.16, p. 183-189, 2006.
- DA SILVA, G. A., TRUFEM, S. F. B., JUNIOR, O. J. S. & MAIA L, C. Arbuscular mycorrhizal fungi in a semiarid copper mining area in Brazil. **Mycorrhiza** V.15, p. 47-53, 2005.
- DANIELL, T. J., HUSB, R., FITTER, A. H., YOUNG, J. P. W. Molecular diversity of arbuscular mycorrhizal fungi colonising arable crops. **FEMS Microbiology Ecology**, V. 36, p. 203-209, 2001.
- DE MIRANDA, J. C. C., VILELA, L., DE MIRANDA, L. N. Dynamics and contribution of arbuscular mycorrhiza in culture systems with crop rotation. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, V. 40, p. 1005-1014, 2005.
- DE SOUZA, F. A. Biology, ecology and evolution of the family Gigasporaceae, arbuscular mycorrhizal fungi (Glomeromycota). NIOO Thesis 42, University of Leiden, Leiden, The Netherlands, 2005.
- DE SOUZA, F. A. Banco Ativo de Glomales da Embrapa Agrobiologia: Catalogação e Introdução de novos isolados desde 1995. Embrapa Agrobiologia, Seropédica, 2000.
- DE SOUZA, F. A., DA SILVA, E. M. R. Micorrizas Arbusculares na Recuperação de áreas degradadas. In J. O. Siqueira [ed.], **Avanços e Aplicações na pesquisa com Micorrizas**, 255-290. DCS-DCF, Editora UFLA, Lavras, MG, Brasil, 1996.
- DE SOUZA, F. A., KOWALCHUK, G. A., LEE-FLANG, P., VAN VEEN, J. A., SMIT, E. PCR-denaturing gradient gel electrophoresis profiling of inter- and intraspecies 18S rRNA gene sequence heterogeneity is an accurate and sensitive method to assess species diversity of arbuscular mycorrhizal fungi of the genus *Gigaspora*. **Applied and Environmental Microbiology**, V.70, p. 1413-1424, 2005a.
- DE SOUZA, F. A., GUERRA, J. G. M. **Emprego da técnica do número mais provável (NMP) no estudo de populações de fungos micorrízicos arbusculares (FMA)**, Embrapa Agrobiologia, Seropédica, Circular Técnica 2, 1998.
- DE SOUZA, F. A., BERBARA, R. L. L. Ontogeny of *Glomus clarum* in Ri T-DNA transformed roots. **Mycologia**, V. 91, p. 343-350, 1999
- DE SOUZA, F. A., DECLERCK, S., SMIT, E., KOWALCHUK, G. A Morphological, ontogenetic and molecular characterization of *Scutellospora reticulata* (Glomeromycota). **Mycological Research** V.109, p. 697-706, 2005a.
- DE SOUZA, F. A., DECLERCK, S. Mycelium development and architecture, and spore production of *Scutellospora reticulata* in monoxenic culture with Ri T-DNA transformed carrot roots. **Mycologia**, V. 95, p. 1004-1012, 2003.
- DE SOUZA, F. A., TRUFEM, S. F. B., DE ALMEIDA, D. L., DA SILVA, E. M. R., GUERRA, J. G. M. Effect of pre-crops on the inoculum potential of arbuscular mycorrhizal fungi and cassava yield. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** V.34, p. 1913-1923, 1999.

- DE SOUZA, F. A., DALPE, Y., DECLERCK, S., DE LA PROVIDENCIA, I. E., SESALON-DELMAS, N. Life history strategies in Gigasporaceae: insight from monoxenic culture. In S. Declerck, D. G. Strullu, & A. Fortin [eds.], **In vitro culture of Mycorrhizas**, pp. 73-91. Springer Berlin Heidelberg New York. 2005b.
- DECLERCK, S., D'ORD, BIVORT, C. & DE SOUZA, F. A. Development of extraradical mycelium of *Scutellospora reticulata* under root-organ culture: spore production and function of auxiliary cells. **Mycological Research**, V.108, p. 84-92, 2004.
- DECLERCK, S., CRANENBROUCK, S., DALPE, Y., SEGUIN, S., GRANDMOUGIN-FERJANI, A., FONTAINE J., SANCHOLLE, M. *Glomus proliferum* sp nov.: a description based on morphological, biochemical, molecular and monoxenic cultivation data. **Mycologia** V. 92, p. 1178-1187, 2000.
- DOTZLER, N., KRINGS, M., TAYLOR, T. N., AGERER, R. Germination shields in *Scutellospora* (Glomeromycota : Diversisporales, Gigasporaceae) from the 400 million-year-old Rhynie chert. **Mycological Progress**, V.5, p.178-184, 2006.
- DOUDS, D. D. & MILLNER, P. Biodiversity of arbuscular mycorrhizal fungi in agroecosystems. **Agriculture Ecosystems & Environment**, V.74, p. 77-93, 1999.
- FEBER, R. E., FIRBANK, L. G., JOHNSON, P. J. & MACDONALD, D. W. The effects of organic farming on pest and non-pest butterfly abundance. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, V. 64, p. 133-139, 1997.
- FENCHEL, T., FINLAY, B. J. The ubiquity of small species: patterns of local and global diversity. **BioScience**, V. 54, p. 777-784, 2004.
- FINLAY, B. J. Global dispersal of free-living microbial eukaryote species. **Science**, V. 296, p.1061-1063, 2002.
- FITTER, A. H. Darkness visible: reflections on underground ecology. **Journal of Ecology** V. 93, p. 231-243, 2005.
- FITTER, A. H., GILLIGAN, C. A., HOLLINGWORTH, K., KLECZKOWSKI, A., TWYMAN, R. M., PITCHFORD, J. W. Biodiversity and ecosystem function in soil. **Functional Ecology**, V.19, p. 369-377, 2005.
- FONSECA, H., BERBARA, R. L. L., & PEREIRA M. L. *Lunularia cruciata*, a potential in vitro host for *Glomus proliferum* and *G intraradices*. **Mycorrhiza**, V. 16, p. 503-508, 2006.
- FORTIN, J. A., BECARD, G., DECLERCK, S., DALPE, Y., ST-ARNAUD, M., COUGHLAN, A. P., PICHE, Y. Arbuscular mycorrhiza on root-organ cultures. **Canadian Journal of Botany-Revue Canadienne De Botanique**, V.80, 1-20, 2002.
- FRANKE, M., MORTON, J. Ontogenic Comparisons of Arbuscular Mycorrhizal Fungi *Scutellospora-Heterogama* and *Scutellospora-Pellucida* - Revision of Taxonomic Character Concepts, Species Descriptions, and Phylogenetic Hypotheses. **Canadian Journal of Botany-Revue Canadienne De Botanique**, V.72, p. 122-134, 1994.
- FRANKE-SNYDER, M., DOUDS, 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**, V.16, 35-48, 2001.
- GADKAR, V., DRIVER, J. D., RILLIG, M. C. A novel in vitro cultivation system to produce and isolate soluble factors released from hyphae of arbuscular mycorrhizal fungi. **Biotechnology Letters**, V. 28, p. 1071-1076, 2006.
- GANDOLFI, A., SANDERS, I. R., ROSSI, V. & MENOZZI, P. Evidence of recombination in putative ancient asexuals. **Molecular Biology and Evolution**, V.20, p. 754-761, 2003.
- GIOVANNETTI, M., SBRANA, C., STRANI, P., AGNOLUCCI, M., RINAUDO, V., AVIO, L. Ge-

- netic diversity of isolates of *Glomus mosseae* from different geographic areas detected by vegetative compatibility testing and biochemical and molecular analysis. **Applied and Environmental Microbiology**, V. 69, p. 616-624, 2003.
- GLÖCKNER, F. O., ZAICHIKOV, E., BELKOVA, N., DENISSOVA, L., PERNTHALER, J., PERNTHALER, A., AMANN, R. Comparative 16S rRNA analysis of lake bacterioplankton reveals globally distributed phylogenetic clusters including an abundant group of Actinobacteria. **Applied and Environmental Microbiology**, V. 66, p. 5053-5065, 2000.
- GOLLOTTE, A., VAN TUINEN, D., ATKINSON, D. Diversity of arbuscular mycorrhizal fungi colonising roots of the grass species *Agrostis capillaris* and *Lolium perenne* in a field experiment. **Mycorrhiza**, V. 14, p. 111-117, 2004.
- GOLLOTTE, A., L'HARIDON, F., CHATAGNIER, O., WETTSTEIN, G., ARNOULD, C., DIEDERIK, V. T., GIANINAZZI-PEARSON, V. Repetitive DNA sequences include retrotransposons in genomes of the Glomeromycota. **Genetica**, V. 128, p. 455-469, 2006
- GOTO, B. T. & MAIAL, C. Glomerospores: a new denomination for the spores of Glomeromycota, a group molecularly distinct from the Zygomycota. **Mycotaxon**, V.96, p. 129-132, 2006
- GREEN, J., BOHANNAN, J. M. Spatial scaling of microbial biodiversity. **Trends in Ecology and Evolution**, V. 21, p. 502-507, 2006.
- GRIME, J. P., MACKAY, J. M. L., HILLIER, S. H., READ, D. J. Floristic diversity in a model system using experimental microcosms. **Nature**, V. 328, p. 420-422, 1987.
- HANSEN, B., ALRØE, H. F., KRISTENSEN, E. S. Approaches to assess the environmental impact of organic farming with particular regard to Denmark. **Agriculture Ecosystems and Environment**, V. 83, p. 11-26, 2001.
- HARRISON, M. J. Molecular and cellular aspects of the arbuscular mycorrhizal symbiosis. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, V. 50, p. 361-389, 1999.
- HARRISON, M. J. Signaling in the arbuscular mycorrhizal symbiosis. **Annual Review of Microbiology**, V. 59, p. 19-42, 2005.
- HART, M. M., KLIRONOMOS, J. N. Diversity of arbuscular mycorrhizal fungi and ecosystem functioning. In M. G. A. van der Heijden & I. R. Sanders [eds.], **Mycorrhizal Ecology**, pp. 225-242. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg New York, 2002.
- HECKMAN, D. S., GEISER, D. M., EIDELL, B. R., STAUFFER, R. L., KARDOS, N. L. & HEDGES, S. B. Molecular evidence for the early colonization of land by fungi and plants. **Science**, V. 293, p. 1129-1133, 2001.
- HELGASON, T., WATSON, I. J., YOUNG, J. P. W. Phylogeny of the Glomerales and diversisporales (Fungi : Glomeromycota) from actin and elongation factor 1-alpha sequences. **FEMS Microbiology Letters**, V. 229, p. 127-132, 2003.
- HELGASON, T., DANIELL, T. J., HUSBAND, R., FITTER, A. H., YOUNG, J. P. W. Ploughing up the wood-wide web? **Nature**, V. 394, p. 431-431, 1998.
- HERRERA-PERAZA, R. A., CUENCA, G., WALKER, C. *Scutellospora crenulata*, a new species of Glomales from La Gran Sabana, Venezuela. **Canadian Journal of Botany-Revue Canadienne De Botanique**, V. 79, p. 674-678. 2001.
- HIJRI, I., SYKOROVA, Z., OEHL, F., INEICHEN, K., MADER, P., WIEMKEN, A., REDECKER, D. Communities of arbuscular mycorrhizal fungi in arable soils are not necessarily low in diversity. **Molecular Ecology**, V. 15, p. 2277-2289, 2006.
- HIJRI, M., SANDERS, I. R. Low gene copy number shows that arbuscular mycorrhizal fungi inherit genetically different nuclei. **Nature**, V. 433, p. 160-163, 2005.
- HIJRI, M., SANDERS, I. R. The arbuscular mycor-

- rhizal fungus *Glomus intraradices* is haploid and has a small genome size in the lower limit of eukaryotes. **Fungal Genetics and Biology**, V. 41, p. 253-261, 2004.
- HOSNY, M., GIANINAZZI-PEARSON, V., DULIEU, H. Nuclear DNA content of 11 fungal species in Glomales. **Genome**, V. 41, p. 422-428, 1998.
- HUSBAND, R., HERRE, E. A. & YOUNG, J. P. W.. Temporal variation in the arbuscular mycorrhizal communities colonising seedlings in a tropical forest. **FEMS Microbiology Ecology**, V.42, p. 131-136, 2002.
- HUSBAND, R., HERRE, E. A., TURNER, S. L., GALLERY, R., YOUNG, J. P. W. Molecular diversity of arbuscular mycorrhizal fungi and patterns of host association over time and space in a tropical forest. **Molecular Ecology**, V. 11, p. 2669-2678, 2002.
- ISHII, S., LOYNACHAN, T. E. Rapid and reliable DNA extraction techniques from trypan-blue-stained mycorrhizal roots: comparison of two methods. **Mycorrhiza**, V. 14, p. 271-275, 2004.
- JAMES, T. Y., KAUFF, F., SCHOCH, C. L., MATHENY, P. B., HOFSTETTER, V., COX, C. J., CELIO, G., GUEIDAN, C., FRAKER, E., MIADLIKOWSKA, J., LUMBSCH, H. T., RAUHUT, A., REEB, V., ARNOLD, A. E., AMTOFT, A., STAJICH, J. E., HOSAKA, K., SUNG, G. H., JOHNSON, D., O'ROURKE, B., CROCKETT, M., BINDER, M., CURTIS, J. M., SLOT, J. C., WANG, Z., WILSON, A. W., SCHÜBLER, A., LONGCORE, J. E., O'DONNELL, K., MOZLEY-STANDRIDGE, S., PORTER, D., LETCHER, P. M., POWELL, M. J., TAYLOR, J. W., WHITE, M. M., GRIFFITH, G. W., DAVIES, D. R., HUMBER, R. A., MORTON, J. B., SUGIYAMA, J., ROSSMAN, A. Y., ROGERS, J. D., PFISTER, D. H., HEWITT, D., HANSEN, K., HAMBLETON, S., SHOEMAKER, R. A., KOHLMAYER, J., VOLKMANN-KOHLMEYER, B., SPOTTS, R. A., SERDANI, M., CROUS, P. W., HUGHES, K. W., MATSUURA, K., LANGER E., LANGER, G., UNTEREINER, W. A., LUCKING, R., BUDEL, B., GEISER, D. M., APTROOT, A., DIEDERICH, P., SCHMITT, I., SCHULTZ, M., YAHR, R., HIBBETT, D. S., LUTZONI, F., MCLAUGHLIN, D.J., SPATAFORA, J. W., VILGALYS, R. Reconstructing the early evolution of Fungi using a six-gene phylogeny. **Nature**, V. 443, p. 818-822, 2006.
- JASPER, D. A. Management of mycorrhizas in revegetation. In A. D. Robson, L. K. Abbott, & N. Malajczuk [eds.], **Management of mycorrhizas in Agriculture, Horticulture and Forestry**, pp. 211-220. Kluwer Academic Publisher, Netherlands. 1994.
- JEFFRIES, P. Use of Mycorrhizae in Agriculture. **Critical Reviews in Biotechnology**, V. 5, p. 319-357, 1987.
- JEFFRIES, P., GIANINAZZI, S., PEROTTO, S., TURNAU, K., BAREA, J. M. The contribution of arbuscular mycorrhizal fungi in sustainable maintenance of plant health and soil fertility. **Biology and Fertility of Soils**, V. 37, p. 1-16. 2003.
- JOHNSON, N. C., COPELAND, P. J., CROOKSTON, R. K., PFLEGER, F. L. Mycorrhizae - Possible Explanation for Yield Decline with Continuous Corn and Soybean. **Agronomy Journal**, V. 84, p. 387-390, 1992.
- JOYCE, K. A., HOLLAND, J. M. & DONCASTER, C. P. Influences of hedgerow intersections and gaps on the movement of carabid beetles. **Bulletin of Entomological Research**, V. 89, p. 523-531, 1999.
- JUDSON, O. P., NORMARK, B. B. Ancient asexual scandals. **Trends in Ecology and Evolution**, V.11, p. A41-A46, 1996.
- KARAKOUSIS, A., TAN, L., ELLIS, D., ALEXIOU, H., WORMALD, P. J.. An assessment of the efficiency of fungal DNA extraction methods for maximizing the detection of medically important fungi using PCR. **Journal of Microbiological Methods**, V.65, p. 38-48. 2006.
- KEANE, T. M., NAUGHTON, T. J., TRAVERS, S. A. A., MCINERNEY, J. O., MCCORMACK, G. P. DPRml: Distributed Phylogeny Reconstruction by Maximum Likelihood. **Bioinformatics** V. 21, p.

969-974, 2005.

KLIRONOMOS, J. N., HART, M. M.. Colonization of roots by arbuscular mycorrhizal fungi using different sources of inoculum. **Mycorrhiza**, V. 12, p. 181-184, 2002.

KOCH, A. M., CROLL D., SANDERS, I. R. Genetic variability in a population of arbuscular mycorrhizal fungi causes variation in plant growth. **Ecology Letters**, V. 9, p. 103-110, 2006.

KOCH, A. M., KUHN, G., FONTANILLAS, P., FUMAGALLI, L., GOUDET, I., SANDERS, I. R. High genetic variability and low local diversity in a population of arbuscular mycorrhizal fungi. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, V.101, p. 2369-2374, 2004.

KOWALCHUK, G. A., DE SOUZA, F. A., VAN VEEN, J. A.. Community analysis of arbuscular mycorrhizal fungi associated with *Ammophila arenaria* in Dutch coastal sand dunes. **Molecular Ecology**, V.11, p. 571-581, 2002.

KRAMADIBRATA, K., WALKER, C., SCHWARZOTT, D., SCHÜBLER, A. A new species of *Scutellospora* with a coiled germination shield. **Annals of Botany**, V. 86, p. 21-27, 2000.

KUHN, G., HIJRI, M., SANDERS, I. R. Evidence for the evolution of multiple genomes in arbuscular mycorrhizal fungi. **Nature**, V. 414, p. 745-748, 2001.

LAMBAIS, M. R. Unraveling the signaling and signal transduction mechanisms controlling arbuscular mycorrhiza development. **Scientia Agricola**, V. 63, p. 405-413, 2006.

LIMA, S.C., LOPES, E.S., LEMOS, E.G.M. Rhizobia, *Bradyrhizobium japonicum* characterization and soybean productivity. **Scientia Agricola**, Piracicaba, V. 55, n. 3, 1998. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-90161998000300003&lng=en&nrm=iso>. Acesso em: 26-10-2006. Pré-publicação. doi: 10.1590/S0103-90161998000300003.

MIYASAKA, S. C., HABTE, M. Plant mechanisms and mycorrhizal symbioses to increase phosphorus uptake efficiency. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, V. 32, p. 1101-1147, 2001.

MOREBY, S. J., AEBISCHER, N. J., SOUTHWAY, S. E., SOTHERTON, N. W. A comparison of the flora and arthropod fauna of organically and conventionally grown winter-wheat in southern England. **Annual Applied Biology**, V. 125, p. 13-27, 1994.

MOREIRA, F. M. S. Nitrogen-fixing Leguminosae-nodulating Bacteria. In: **Soil Biodiversity in Amazonian and other Brazilian Ecosystems**. Moreira, F.M.S., Siqueira, J. O., Brussard, L. Eds. CABI Publishing, pp 237-270, 2006.

MOREIRA, F. M. S., HAUKKA, K., YOUNG, J. P. W. Biodiversity of rhizobia isolated from a wide range of forest legumes in Brazil. **Molecular Ecology**, V. 7, p. 889-895, 1998.

MOREIRA, F. M. S., SIQUEIRA, J. O., BRUSSARD, L. Soil organisms in tropical Ecosystems: a key role for Brazil in the global quest for the conservation and sustainable use of biodiversity. In: **Soil Biodiversity in Amazonian and other Brazilian Ecosystems**. Moreira, F.M.S., Siqueira, J. O., Brussard, L. Eds. CABI Publishing, pp1-12, 2006.

MOREIRA, F. S., SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e Bioquímica do Solo**. Editora UFLA, Lavras, MG, Brasil, 2006.

MORTON, J. B. Evolution of endophytism in arbuscular mycorrhizal fungi of Glomales. In C. W. Bacon & J. F. J. White [eds.], **Microbial Endophytes**, pp. 121-140. Marcel Dekker, Inc., New York – Basel, 2000.

MORTON, J. B., BENNY, G. L. Revised Classification of Arbuscular Mycorrhizal Fungi (Zygomycetes) - a New Order, Glomales, 2 New Suborders, Glomineae and Gigasporineae, and 2 New Families, Acaulosporaceae and Gigasporaceae, with an Emendation of Glomaceae. **Mycotaxon**, V. 37, p. 471-491, 1990.

- MOULIN, L., MUNIVE, A., DREYFUS, B., BOLVIN-MASSON, C. Nodulation of legumes by members of the β sub-class of *Proteobacteria*. **Nature**, V. 411, p. 948-950, 2001.
- NORMARK, B. B., JUDSON, O. P., MORAN, N. A. Genomic signatures of ancient asexual lineages. **Biological Journal of the Linnean Society**, V. 79, p. 69-84, 2003.
- OCHMAN, H., LERAT, E., DAUBIN, V. Examining bacterial species under the specter of gene transfer and exchange. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, V. 102, p. 6595-6599, 2005.
- OEHL, F., SIEVERDING, E., INEICHEN, K., RIS E. A., BOLLER, T., WIEMKEN, A. Community structure of arbuscular mycorrhizal fungi at different soil depths in extensively and intensively managed agroecosystems. **New Phytologist**, V. 165, p. 273-283, 2005.
- OEHL, F., SIEVERDING, E. *Pacispora*, a new vesicular arbuscular mycorrhizal fungal genus in the glomeromycetes. **Journal of Applied Botany and Food Quality-Angewandte Botanik**, V. 78, p. 72-82, 2004.
- OLSSON, P. A., WILHELMSSON P. The growth of external AM fungal mycelium in sand dunes and in experimental systems. **Plant and Soil**, V. 226, p. 161-169, 2000.
- PAPKE, R. T., RAMSING, N. B., BATESON, M. M., WARD, D. M. Geographic isolation in hot spring cyanobacteria. **Environmental Microbiology**, V. 5, p. 650-659, 2003.
- PAPKE, R. T., WARD, D. M. The importance of physical isolation to microbial diversification. **FEMS Microbiology Ecology**, V. 48, p. 293-303, 2004.
- PAPKE, R. T., RAMSING, N. B., BATESON, M. M., WARD, D. M. Geographic isolation in hot spring cyanobacteria. **Environment Microbiology**, V.5, p. 650-659, 2003.
- PAWLOWSKA, T. E. Genetic processes in arbuscular mycorrhizal fungi. **FEMS Microbiology Letters**, V. 251, p. 185-192, 2005.
- PAWLOWSKA, T. E., TAYLOR, J. W. Organization of genetic variation in individuals of arbuscular mycorrhizal fungi. **Nature**, V. 427, p. 733-737, 2004.
- PERIN, L., MARTINEZ-AGUILAR, L., PAREDES-VALDEZ, G., BALDANI, J. I., ESTRADA-DE LOS SANTOS, REIS, V. M., CABALLERO-MELLADO. *Burkholderia silvatlantica* sp. nov., a diazotrophic bacterium associated with sugar cane and maize. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, V. 56, p.1931-1937, 2006.
- PIROZYNSKI, K. A., MALLOCH, D. W. The origin of land plants: a matter of mycotropism. **BioSystems**, V. 6, p. 153-164, 1975.
- POSADA, D., CRANDALLK, A. MODELTEST: testing the model of DNA substitution. **Bioinformatics**, V.14, p. 817-818, 1998.
- PRINGLE, A., BAKER, D. M., PLATT, J. L., WARES, J. P., LATGÉ, J. P., TAYLOR, J. W. Cryptic speciation in the cosmopolitan and clonal human pathogenic fungus *Aspergillus fumigatus*, **Evolution**, V. 59, p. 1886-1899, 2005.
- PRINGLE, A., TAYLOR, J. W. The fitness of filamentous fungi. **Trends in Microbiology**, V.10, p. 474-481, 2002.
- PURIN, S., KLAUBERG O., STURMER, S. L. Mycorrhizae activity and diversity in conventional and organic apple orchards from Brazil. **Soil Biology and Biochemistry**, V. 38, p. 1831-1839, 2006.
- RAAB, P. A., BRENNWALD, A., REDECKER, D. Mitochondrial large ribosomal subunit sequences are homogeneous within isolates of *Glomus* (arbuscular mycorrhizal fungi, Glomeromycota). **Mycological Research**, V.109, p. 1315-1322, 2005.
- REDECKER, D. Specific PCR primers to identify arbuscular mycorrhizal fungi within colonized roots. **Mycorrhiza**, V. 10, p. 73-80, 2000.

- REDECKER, D., MORTON, J. B., BRUNS, T. D. Ancestral lineages of arbuscular mycorrhizal fungi (Glomales). **Molecular Phylogenetics and Evolution**, V. 14, p. 276-284, 2000a.
- REDECKER, D., MORTON, J. B., BRUNS, T. D. Molecular phylogeny of the arbuscular mycorrhizal fungi *Glomus sinuosum* and *Sclerocystis coremioides*. **Mycologia**, V. 92, 282-285, 2000b.
- REDECKER, D., KODNER, R., GRAHAM, L. E. Glomalean fungi from the Ordovician. **Science**, V. 289, p. 1920-1921, 2000.
- REIS, V. M., ESTRADA DE LOS SANTOS, P., TENORIO-SALGADO, S., VOLGEL, J., STROFFELS, M., GUYON, S., MAVINGUI, P., BALDANI, V. L. D., SCHMID, M., BALDANI, J. I., BALANDREAU, J., HARTMANN, A., CABALLERO-MELLADO, J. *Burkholderia tropica* sp. nov., a novel nitrogen-fixing, plant-associated bacterium. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, V. 54, p. 2155-2162, 2004.
- REIS, V. M., OLIVEIRA, A. L.M., DIVAN, V. L.D., OLIVARES, F. L., BALDANI, J. I. Fixação biológica de nitrogênio simbiótica e associativa. In: **Nutrição Mineral de Plantas**, Ed. FERNANDES, M. S., SBCS, Viçosa, 432p., 2006.
- REMY, W., TAYLOR, T. N., HASS, H., KERP, H. 4-Hundred-Million-Year-Old Vesicular-Arbuscular Mycorrhizae. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, V. 91, p. 11841-11843, 1994.
- RENKER, C., WEISSHUHN, K., KELLNER, H., BUSCOT F. Rationalizing molecular analysis of field-collected roots for assessing diversity of arbuscular mycorrhizal fungi: to pool, or not to pool, that is the question. **Mycorrhiza**, V. 16, p. 525-531, 2006.
- RILLIG, M. C., MUMMEY, D. L. Mycorrhizas and soil structure. **New Phytologist**, V. 171, p. 41-53, 2006.
- RILLIG, M. C., WRIGHT, S. F., NICHOLS, K. A., SCHMIDT, W. F., TORN, M. S. Large contribution of arbuscular mycorrhizal fungi to soil carbon pools in tropical forest soils. **Plant and Soil**, V. 233, p. 167-177, 2001.
- RODRIGUEZ, A., DOUGALL, T., DODD, J. C., CLAPP, J. P. The large subunit ribosomal RNA genes of *Entrophospora infrequens* comprise sequences related to two different glomalean families. **New Phytologist**, V. 152, p. 159-167, 2001.
- SANDERS, I. Preference, specificity and cheating in the arbuscular mycorrhizal symbiosis. **Trends in Plant Science**, V. 8, p. 143-145, 2003.
- SANDERS, I. R. Ecology and evolution of multigenomic arbuscular mycorrhizal fungi. **American Naturalist**, V. 160, p. S128-S141, 2002.
- SANTOS, A. L. D., DE SOUZA, F. A., BERBARA, R. L. L., GUERRA, J. G. M. Establishment and infective capacity of *Gigaspora margarita* Becker & Hall and *Glomus clarum* Nicol. Gerd. in eroded soil. **Acta Botanica Brasilica**, V.14, p. 127-139, 2000.
- SANTOS, J. C., FINLAY, R. D., TEHLER, A. Molecular analysis of arbuscular mycorrhizal fungi colonising a semi-natural grassland along a fertilisation gradient. **New Phytologist**, V. 172, p. 159-168, 2006.
- SCHARDL, C. L., CRAVEN, K. D. Interspecific hybridization in plant-associated fungi and oomycetes: a review. **Molecular Ecology**, V. 12, p. 2861-2873, 2003.
- SCHENCK, N. C., PEREZ, Y. **Manual for identification of VA mycorrhizal fungi**. Synergistic Publications, Gainesville, Florida, 1990.
- SCHÜBLER, A., MOLLENHAUER, D., SCHNEPF, E., KLUGE, M. *Geosiphon-Pyriforme*, an Endosymbiotic Association of Fungus and Cyanobacteria - the Spore Structure Resembles That of Arbuscular Mycorrhizal (Am) Fungi. **Botanica Acta**, V. 107, p. 36-45, 1994.
- SCHÜBLER, A., SCHWARZOTT, D., WALKER, C. A new fungal phylum, the Glomeromycota: phylog-

- eny and evolution. **Mycological Research**, V. 105, p. 1413-1421, 2001.
- SCHÜBLER, A., WOLF, E. *Geosiphon pyriformis* - a Glomeromycotan soil fungus forming endosymbiosis with cyanobacteria. In S. Declerck, D. G. Strullu, & A. Fortin [eds.], **In vitro culture of mycorrhizas**. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg New York, 2005.
- SCHWARZOTT, D., SCHÜBLER, A. A simple and reliable method for SSU rRNA gene DNA extraction, amplification, and cloning from single AM fungal spores. **Mycorrhiza**, V.10, p. 203-207, 2001.
- SCHWARZOTT, D., WALKER, C., SCHÜBLER, A. *Glomus*, the largest genus of the arbuscular mycorrhizal fungi (Glomales), is nonmonophyletic. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, V.21, p. 190-197, 2001.
- SEJALON-DELMAS, N., MAGNIER, A., DOUDS, D. D., BECARD, G. Cytoplasmic autofluorescence of an arbuscular mycorrhizal fungus **Gigaspora gigantea** and nondestructive fungal observations in planta. **Mycologia**, V. 90, p. 921-926, 1998.
- SIEVERDING, E. **Vesicular-arbuscular mycorrhiza management in tropical agrosystems** GTZ, Eschborn, Germany, 1991.
- SIEVERDING, E., OEHL, F. Revision of *Entrophospora* and description of *Kuklospora* and *Intraspora*, two new genera in the arbuscular mycorrhizal Glomeromycetes. **Journal of Applied Botany and Food Quality-Angewandte Botanik**, V.80, p. 69-81, 2006.
- SIMON, L., BOUSQUET, J., LEVESQUE, R. C., LALONDE, M. Origin and Diversification of Endomycorrhizal Fungi and Coincidence with Vascular Land Plants. **Nature**, V.363, p. 67-69, 1993.
- SIMON, L., LALONDE, M., BRUNS, T. D. Specific Amplification of 18s Fungal Ribosomal Genes from Vesicular-Arbuscular Endomycorrhizal Fungi Colonizing Roots. **Applied and Environmental Microbiology**, V. 58, p. 291-295, 1992.
- SIQUEIRA, J. O., COLOZZI FILHO, A., DEOLIVEIRA, E. Occurrence of Vesicular-Arbuscular Mycorrhizae in Agroecosystems and Natural Ecosystems of Minas-Gerais State. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, V.24, p. 1499-1506, 1989.
- SIQUEIRA, J. O., COLOZZI, A., DE OLIVEIRA, E., FERNANDES, A. B., FLORENCE, M. L. Vesicular-Arbuscular Mycorrhizae in Coffee Seedlings in the Southern Region of Minas-Gerais State, Brazil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, V. 22, p. 31-38, 1987.
- SMITH, S. E., READ, D. J. **Mycorrhizal Symbiosis**. Academic Press, London, UK, 1997.
- SPAIN, J. L., SIEVERDING, E., SCHENCK, N. C. *Gigaspora ramisporophora*: a new species with novel sporophores from Brazil. **Mycotaxon**, V.2, p. 667-677, 1989.
- SPAIN, J. L., DE MIRANDA, J. C. *Glomus brasilianum*: An ornamented species in the Glomaceae. **Mycotaxon**, V. 60, p. 137-142, 1996b.
- SPAIN, J. L., DE MIRANDA, J. C. *Scutellospora cerradensis*: An ornamented species in the Gigasporaceae (Glomales) from the Cerrado Region of Brazil. **Mycotaxon**, V.60, p. 129-136, 1996a.
- STALEY JT, KONOPKA, A. Measurement of *in situ* activities of nonphotosynthetic microorganisms in aquatic and terrestrial habitats. **Annual Review of Microbiology**, V. 39, p.321-346, 1985.
- STUKENBROCK, E. H., ROSENDAHL, S. Clonal diversity and population genetic structure of arbuscular mycorrhizal fungi (*Glomus* spp.) studied by multilocus genotyping of single spores. **Molecular Ecology**, V. 14, p. 743-752, 2005.
- STURMER, S. L., MORTON, J. B. Developmental patterns defining morphological characters in spores of four species in *Glomus*. **Mycologia**, V. 89, p. 72-81, 1997.
- STURMER, S. L., MORTON, J. B. *Scutellospora rubra*, a new arbuscular mycorrhizal species from

- Brazil. **Mycological Research**, V.103, p. 949-954, 1999b.
- STURMER, S. L., MORTON, J. B. Taxonomic reinterpretation of morphological characters in Acaulosporaceae based on developmental patterns. **Mycologia**, V. 91, p. 849-857, 1999a.
- SY, A., GIRAUD, E., JOURAND, P., GARCIA, N., WILLEMS, A. DE LAJUDIE, P., PRIN, Y., NEYRA, M., GILLIS, M., BOLVIN-MOSSON, C., DREYFUS, B. Methylophilic *Methylobacterium* bacteria nodulate and fix nitrogen in symbiosis with legumes. **Journal of Bacteriology**, V. 183, p. 214-220, 2001.
- TAYLOR, T. N., REMY, W., HASS, H., KERP, H. Fossil Arbuscular Mycorrhizae from the Early Devonian. **Mycologia**, V.87, p. 560-573, 1995.
- TOMMERUP, I. C., SIVASITHAMPARAM, K. Zygosporangia and Asexual Spores of Gigaspora-Decipiens, an Arbuscular Mycorrhizal Fungus. **Mycological Research**, V. 94, p. 897-900, 1990.
- TROUVELOT, S., VAN TUINEN, D., HIJRI, M., GIANINAZZI-PEARSON, V. Visualization of ribosomal DNA loci in spore interphasic nuclei of glomalean fungi by fluorescence in situ hybridization. **Mycorrhiza**, V. 8, p. 203-206, 1999.
- VAN BERKUN, P. EARDLY, B. D. The aquatic budding bacterium *Blastobacter denitrificans* is a nitrogen-fixing symbiont of *Aeschynomene indica*. **Applied and Environmental Microbiology**, V. 68, p. 1132-1136, 2002.
- VAN DER HEIJDEN, M. G. A., KLIRONOMOS, J. N., URSIC, M., MOUTOGLIS, P., STREITWOLF-ENGEL, R., BOLLER, T., WIEMKEN, A., SANDERS, I. R. Mycorrhizal fungal diversity determines plant biodiversity, ecosystem variability and productivity. **Nature**, V. 396, p. 69-72, 1998.
- VAN DER HEIJDEN, M. G. A., BAKKER, R., VERWAAL, J., SCHEUBLIN, T. R., RUTTEN, M., VAN LOGTESTIJN, R., STAEHELIN, C. Symbiotic bacteria as a determinant of plant community structure and plant productivity in dune grassland. **FEMS Microbiology Ecology**, V.56, p. 178-187, 2006a.
- VAN DER HEIJDEN, M. G. A., STREITWOLF-ENGEL, R., RIEDL, R., SIEGRIST, S., NEUDECKER, A., INEICHEN, K., BOLLER, T., WIEMKEN, A., SANDERS, I. R. The mycorrhizal contribution to plant productivity, plant nutrition and soil structure in experimental grassland. **New Phytologist**, V.172, p. 739-752, 2006b.
- VAN TUINEN, D., JACQUOT, E., ZHAO, B., GOLLOTTE, A., GIANINAZZI-PEARSON, V. Characterization of root colonization profiles by a microcosm community of arbuscular mycorrhizal fungi using 25S rDNA-targeted nested PCR. **Molecular Ecology**, V.7, p. 879-887, 1998.
- VANDENKOORNHUYSE, P., RIDGWAY K. P., WATSON I. J., FITTER A. H., YOUNG J. P. W. Co-existing grass species have distinctive arbuscular mycorrhizal communities. **Molecular Ecology**, V.12, p. 3085-3095, 2003.
- VANDENKOORNHUYSE, P., HUSBAND, R., DANIELL, T. J., WATSON, I. J., DUCK J. M., FITTER A. H., YOUNG J. P. W. Arbuscular mycorrhizal community composition associated with two plant species in a grassland ecosystem. **Molecular Ecology**, V. 11, p. 1555-1564, 2002.
- WALKER, C., SCHÜBLER, A. Molecular clarifications and new taxa in the Glomeromycota. **Mycological Research**, V. 108, p. 981-982, 2004.
- WALKER, C., BLASZKOWSKI, J., SCHWARZOTT D., SCHÜBLER, A. *Gerdemannia* gen. nov., a genus separated from *Glomus*, and Gerdemanniaceae fam. nov., a new family in the Glomeromycota. **Mycological Research**, V. 108, p. 707-718, 2004.
- WALKER, C., VESTBERG, M., DEMIRCIK, F., STOCKINGER, H., SAITO, M., SAWAKI, H., NISHMURA, I., SCHÜBLER, A. Molecular phylogeny and new taxa in the Archaeosporales (Glomeromycota): *Ambispora fennica* sp. et gen. nov., Ambisporaceae fam. nov., and emendation of Archaeospora and Archaeosporaceae. **Mycological**

Research. (no prelo).

WANG, B., QIU, Y. L. Phylogenetic distribution and evolution of mycorrhizas in land plants. **Mycorrhiza**, V.16, p. 299-363. 2006.

WEISSENHORN, I., GLASHOFF, A., LEYVAL C., BERTHELIN, J. Differential Tolerance to Cd and Zn of Arbuscular Mycorrhizal (Am) Fungal Spores Isolated from Heavy Metal-Polluted and Unpolluted Soils. **Plant and Soil**, V.167, p. 189-196, 1994.

WEISSENHORN, I., LEYVAL, C., BERTHELIN, J. Cd-Tolerant Arbuscular Mycorrhizal (Am) Fungi from Heavy-Metal Polluted Soils. **Plant and Soil**, V. 157, p. 247-256, 1993.

WILSON, J. D., EVANS, J., BROWNE, S. J., KING, J. R. Territory distribution and breeding success of Skylarks *Alauda arvensis* on organic and intensive farmland in southern England. **Journal of Applied Ecology**, V. 34, p.1462-1478, 1997.

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

WRIGHT, S. F., UPADHYAYA, A. Extraction of an abundant and unusual protein from soil and comparison with hyphal protein of arbuscular mycorrhizal fungi. **Soil Science**, V.161, p. 575-586, 1996.

WUBET, T., WEISS, M., KOTTKE, I., TEKETAY, D., OBERWINKLER, F. Molecular diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in *Prunus africana*, an endangered medicinal tree species in dry Afromontane forests of Ethiopia. **New Phytologist**, V. 161, p. 517-528, 2003.

YATES, G. W., BARDGETT, R. D., COOK, R., HOBBS, P. J. BOWLING, P. J., POTTER, J. F. A. Faunal and microbial diversity in three Welsh grassland soils under conventional and organic management regimes. **Journal of Applied Ecology**, V. 34, p. 453-470, 1997.