

DENSIDADE DE ESPOROS DE FUNGOS MICORRIZICOS ARBUSCULARES DO BANCO DE GERMOPLASMA DE *Glomales* DA UNIPAR

Priscila Rosseto¹
Regiane Cristina Urcoviche²
Jussara Ricardo Oliveira³
Odair Alberton⁴

ROSSETO, P.; URCOVICHE, R. C.; OLIVIERA, J. R.; ALBERTON, O. Densidade de esporos de fungos micorrizicos arbusculares do banco de germoplasma de *glomales* da unipar. **Arq. Ciênc. Vet. Zool. UNIPAR**, Umuarama, v. 15, n. 1, p. 43-47, jan./jun. 2012.

RESUMO: Os fungos micorrizicos arbusculares (FMAs) formam associação simbiótica mutualística com as raízes da maioria das espécies de plantas que geralmente contribui para o crescimento e sustentabilidade da produção das plantas. O presente trabalho teve como objetivo avaliar a densidade de esporos de FMAs depositados no banco de germo plasma de *glomales* utilizando *Brachiaria brizantha* como planta hospedeira. Foram avaliados 13 isolados (acessos) de FMAs fornecidos pela Universidade Estadual de Londrina – UEL e Instituto Agrônomo do Paraná - IAPAR. Os inóculos de FMAs avaliados foram: *Glomus clarum*, *Scutellospora calospora*, *S. heterogama*, *Gigaspora margarita*, *Paraglomus brasiliensis*, *Glomus etunicatum*, *Gigaspora rosea* e *Acaulospora* spp. *B. brizantha* foi crescida em vasos com 3 Kg de solo estéril coletado do Campus II da Universidade Paranaense – UNIPAR. O período de avaliação foi entre 2011/2012. Após o período de um ano, foram encontrados esporos de FMAs em todos os acessos avaliados, indicando sucesso na implementação e manutenção do banco de germoplasma de *glomales* da UNIPAR. As espécies *Paraglomus brasiliensis* e *Glomus etunicatum* apresentaram 0,38 e 2,36 esporos g⁻¹ de solo seco respectivamente, representando as espécies de menor e maior frequência de esporos.

PALAVRAS-CHAVE: Micorrizas; Banco de germoplasma; Inóculo; Simbiose.

SPORE DENSITY OF ARBUSCULAR MYCORRHIZAL FUNGI IN *Glomales* GERMOPLASM BANK OF UNIPAR

ABSTRACT: Arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) form a mutualistic symbiotic association with the roots of most plant species contributing to plant growth and environmental sustainability. The present study aims to evaluate the density of AMF spores deposited in *glomales* germplasm bank using *Brachiaria brizantha* as host plant. 13 isolates (access) of AMF provided by Universidade Estadual de Londrina - UEL and the Agronomic Institute of Paraná – IAPAR were assessed. Evaluated AMF inocula were *Glomus clarum*, *Scutellospora calospora*, *S. heterogama*, *Gigaspora margarita*, *Paraglomus brasiliensis*, *Glomus etunicatum*, *Gigaspora rosea* and *Acaulospora* spp. *B. brizantha* was grown in the Laboratory of Botany-II at the Universidade Paranaense – UNIPAR in pots with 3 kg of sterile soil. The evaluation period was from 2011 to 2012. After a one-year period, AMF spores were found in all access, indicating success of implementation and maintenance of *glomales* germplasm bank of UNIPAR. *Paraglomus brasiliensis* and *Glomus etunicatum* presented 0.38 and 2.36 spores g⁻¹ dry soil, respectively, representing the species of with the lowest and highest frequency of spores.

KEYWORDS: Arbuscular mycorrhizal fungi; Germplasm bank; Inoculum; Symbiosis.

DENSIDAD DE ESPORAS DE HONGOS MICORRIZAS ARBUSCULARES DEL BANCO DE GERMOPLASMA DE *Glomales* EN UNIPAR

RESUMEN: Los hongos micorrizas arbusculares (HMA) forman asociación mutualista simbiótica con las raíces de la mayoría de las especies de plantas, que generalmente contribuye al crecimiento y sostenibilidad de producción de las plantas. Este estudio tuvo como objetivo evaluar la densidad de esporas de HMAs depositados en el banco de germoplasma de *glomales* utilizando *Brachiaria brizantha* como planta hospedera. Se ha evaluado 13 aislados (acessos) de HMAs proporcionados por la Universidade Estadual de Londrina - UEL e Instituto Agrônomo do Paraná - IAPAR. Los inóculos HMAs evaluados fueron: *Glomus clarum*, *Scutellospora calospora*, *S. heterogama*, *Gigaspora margarita*, *Paraglomus brasiliensis*, *Glomus etunicatum*, *Gigaspora rosea* y *Acaulosporas* pp. *B. brizantha*, cultivados en macetas con 3 kg de suelo estéril colectado del Campus II de la Universidad Paranaense - UNIPAR. El período de evaluación fue entre 2011/2012. Tras el periodo de un año, se ha encontrado esporas de HMAs en todos los accesos evaluados, lo que indica éxito en la implementación y mantenimiento del banco de germoplasma de *glomales* de la UNIPAR. Las especies *Paraglomus brasiliensis* y *Glomus etunicatum* presentaron 0,38 y 2,36 esporas g⁻¹ del suelo seco respectivamente, representando las especies de menor y mayor frecuencia de esporas.

PALABRAS CLAVE: Micorrizas; Banco de germoplasma; Inoculo; Simbiosis.

¹Discente do curso de Ciências Biológicas, PIBIC da UNIPAR, Praça Mascarenhas de Moraes, 4282, Zona III, 87502-210, Umuarama – PR, pri_rsto@hotmail.com

²Mestranda do Programa de Biotecnologia Aplicada à Agricultura; UNIPAR, Umuarama – PR. regiurco@hotmail.com

³Docente do Curso de Ciências Biológicas; UNIPAR, Umuarama – PR, jotoledo@unipar.br

⁴Docente do Programa de Mestrado em Biotecnologia Aplicada à Agricultura -UNIPAR, Umuarama – PR. odair@unipar.br

Introdução

Micorriza arbusculares são associações simbióticas mutualistas formadas entre fungos do filo Glomeromycota e raízes da maioria das plantas superiores (SMITH; READ, 2008; SIQUEIRA, et al., 2010). Plantas micorrizadas apresentam maior atividade fotossintética, maior atividade enzimática e produção de substâncias reguladoras de crescimento. Essas alterações metabólicas conferem às plantas micorrizadas maior resistência aos efeitos provocados por estresses de natureza biótica (pragas e doenças) ou abiótica (déficits hídricos e nutricionais ou estresses térmicos) (SMITH; READ, 2008; SIQUEIRA, et al., 2010).

Ecologicamente, a micorrização melhora a utilização e conservação dos nutrientes disponíveis no sistema solo-planta, possibilita a planta uma melhor adaptação ao ecossistema. Desse modo, plantas colonizadas por fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) têm suas necessidades nutricionais reduzida à metade ou até a 1/10 quando comparadas àquelas não micorrizadas (SIQUEIRA; FRANCO, 1988; SIQUEIRA, et al., 2010). Esses efeitos são mais acentuados para nutrientes que possuem baixa mobilidade no solo, como P, Zn e Cu, para a maioria das plantas (SMITH; READ, 2008).

A importância econômica dos FMAs para agricultura sustentável, recuperação de áreas degradadas (JASPER, 1994; SOUZA; SILVA, 1996) e para uso eficiente de nutrientes, como fósforo (BERBARA; SOUZA; FONSECA, 2006; MOREIRA; SIQUEIRA, 2006; SMITH; READ, 2008; SIQUEIRA, et al., 2010) tem sido amplamente aceita pela comunidade científica. No entanto, é necessário conhecer essa simbiose em sistemas agro-florestais, e sua diversidade, por meio de bancos ativos de germoplasma mantidos por instituições de pesquisa e universidades (SOUZA, 2000; NOVAIS; SOUZA; SIQUEIRA, 2010).

A multiplicação dos fungos é efetuada, tradicionalmente, pelo método de cultura em vasos (Bancos de Germoplasma) (GILMORE, 1968; MORTON; BENTIVENGA; WHEELER, 1993; SOUZA, 2000; NOVAIS; SOUZA; SIQUEIRA, 2010), cujo substrato pode ser utilizado, posteriormente como inoculantes.

Estudos de biodiversidade, diversidade genética e de ecologia de Glomales são fundamentais para o avanço das pesquisas em micorrizas. No entanto, os FMA são biotróficos obrigatórios e não se multiplicam em meios sintéticos (cultivo axênico), mas podem ser multiplicados quando associados a raízes metabolicamente ativas de plantas compatíveis, formando esporos assexuados (MORTON; BENTIVENGA; WHEELER, 1993; SOUZA, 2000). Devido a isto, a classificação taxonômica e afilogenia destes fungos está baseada, quase que exclusivamente, na morfologia e estrutura de seus esporos vegetativos (MORTON; BENNY, 1990). Além disso, os esporos são a principal fonte de material genético para estudos baseados em técnicas de biologia molecular (NOVAIS; SOUZA; SIQUEIRA, 2010).

A manutenção de bancos ativos de germoplasma é fundamental para o desenvolvimento de pesquisas básicas e aplicadas, permitindo o acúmulo de dados sobre os isolados, mesmo que não caracterizados taxonomicamente (SOUZA, 2000).

Assim, as principais funções do banco de germo-

plasma é manter culturas viáveis, preservar características genéticas dos acessos depositados, catalogar, registrar informações sobre os acessos, propagar e distribuir para comunidade científica. Além dessas funções, a geração de conhecimento em áreas afins tais como, técnicas de manutenção de germoplasma, taxonomia e apoio a pesquisa básica (SOUZA, 2000; NOVAIS; SOUZA; SIQUEIRA, 2010).

O presente trabalho teve como objetivo avaliar a densidade de esporos de 13 acessos de FMAs depositados no banco de germoplasma de glomales utilizando *Brachiaria brizantha* como planta hospedeira.

Materiais e Métodos

O estudo foi realizado no Laboratório de Botânica II da Universidade Paranaense – UNIPAR Campus Sede. Foram separados vasos com 3 Kg de solo estéril coletado na camada de 0 – 20 cm de profundidade do Campus II da UNIPAR – Unidade de Umuarama – PR. O solo é de formação arenito Caiuá, pertencente à classe LVd19 – Latossolo vermelho distrófico, cuja a análise granulométrica foi feita pelo laboratório Solo Fértil estabelecido na cidade de Umuarama – PR, pelo método de densímetro, seguindo os padrões preconizados pela comissão estadual de laboratórios de análises agrônômicas (CELA/PR). A análise química do solo também foi feita pelo laboratório Solo Fértil. As características determinadas foram: pH em CaCl₂, Ca²⁺, Mg²⁺ e Al³⁺ extraídos em KCl 1N e P e K⁺ extraídos em Mehlich-1. Todas as análises realizadas seguiram os padrões preconizados pela CELA/PR, obtendo assim uma maior confiabilidade nos resultados.

Foi realizada uma mistura de solo com areia lavada 2:1 (v/v), e esterilizado em autoclave por 1 hora a 121 °C, resfriado por uma noite e novamente esterilizado em autoclave por 1 hora a 121 °C. O substrato estéril foi transferido para os vasos e preenchido até a metade e inoculado com um dos 13 acessos diferentes de FMAs atualmente depositados no banco de germoplasma da UNIPAR (Tabela 1), sendo cada um dos acessos em um vaso, após o vaso completado com substrato estéril. Sobre o substrato foi semeado de 20 a 25 sementes de *Brachiaria brizantha* cv. Toledo (CIAT 26110, também conhecida como MG-5 Vitória e Xaraés) cuja, as sementes foram previamente desinfetadas em solução de hipoclorito a 2% por 10 min e lavadas 3 vezes em água destilada. Os vasos foram irrigados sempre que necessário com água destilada para manter o substrato sempre úmido não deixando a planta com excesso nem com escassez de água.

Tabela 1: Número na coleção, procedência, gênero e espécie dos FMAs depositados no banco de germoplasma ativo de glomales na Universidade Paranaense – UNIPAR.

Número do acesso	Gênero e espécie do FMAs	Procedência #
01	<i>Glomus clarum</i>	IAPAR
02	<i>Glomus clarum</i>	IAPAR
03	<i>Glomus clarum</i>	IAPAR
04	<i>Scutellospora calospora</i>	IAPAR
05	<i>Scutellospora calospora</i>	IAPAR
06	<i>Scutellospora heterogama</i>	IAPAR

07	<i>Scutellospora heterogama</i>	IAPAR
08	<i>Gigaspora margarita</i>	IAPAR
09	<i>Paraglomus brasiliensis</i>	IAPAR
10	<i>Glomusclarum</i>	UEL
11	<i>Glomus etunicatum</i>	UEL
12	<i>Gigaspora rosea</i>	UEL
13	<i>Acaulospora spp.</i>	UEL

[#]Universidade Estadual de Londrina – UEL; Instituto Agrônomo do Paraná – IAPAR.

Os esporos foram extraídos do solo por meio de Peneiramento Úmido conforme Gerdemann e Nicolson (1963) que consistiu em retirar 50 g de solo de cada vaso. Foi retirada a camada superficial e coletando o solo próximo a raiz da planta. As amostras foram peneiradas em duas peneiras de solo com malhas de 0,42 e 0,053 mm, repetindo o processo três vezes sob água, a cada troca de amostra as peneiras eram lavadas com esponja e detergente para evitar a contaminação

Tabela 2: Análise química e granulométrica do solo experimental para pH em CaCl₂ (pH), fósforo (P), carbono (C), alumínio (Al³⁺), acidez potencial (H⁺+Al³⁺), cálcio (Ca²⁺), magnésio (Mg²⁺), potássio (K⁺), soma de bases (SB), capacidade de troca catiônica (CTC) e saturação por bases (V).

pH	P	C	Al ³⁺	H ⁺ +Al ³⁺	Ca ²⁺	Mg ²⁺	K ⁺	SB	CTC	V	Areia	Silte	Argila
	mg dm ⁻³	g dm ⁻³	----- Cmolcdm ⁻³ -----				----- %-----			-----%-----			
4,80	19,08	7,02	0,00	3,97	0,88	0,38	0,18	4,77	4,47	36,39	36,4	33,6	30,0

O maior número de esporos foi encontrado no acesso 11 (*Glomus etunicatum*), com 118 esporos 50 g⁻¹ de solo que corresponde a 2,36 esporos g⁻¹ de solo, onde o crescimento das plantas foi maior visualmente comparando-se com os demais acessos de FMAs. Já o acesso 09 (*Paraglomus brasiliensis*) apresentou apenas 19 esporos 50 g⁻¹ de solo, com uma densidade de 0,38 esporos g⁻¹ de solo (Tabela 3).

Tabela 3: Espécies de fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) utilizadas em cada vaso, densidade de esporos em 50 g de solo (DE 50), densidade de esporos no solo (DE) g⁻¹ de solo dos FMAs depositados no banco de germoplasma ativo de glomales na Universidade Paranaense – UNIPAR.

Número de acesso	Espécies de FMAs	DE 50 g	DE g ⁻¹
01	<i>Glomusclarum</i>	31	0,62
02	<i>Glomusclarum</i>	33	0,66
03	<i>Glomusclarum</i>	43	0,86
04	<i>Scutellospora calospora</i>	25	0,50
05	<i>Scutellospora calospora</i>	50	1,00
06	<i>Scutellospora heterogama</i>	29	0,58
07	<i>Scutellospora heterogama</i>	74	1,48
08	<i>Gigaspora margarita</i>	71	1,42
09	<i>Paraglomus brasiliensis</i>	19	0,38
10	<i>Glomusclarum</i>	64	1,28
11	<i>Glomus etunicatum</i>	118	2,36
12	<i>Gigaspora rosea</i>	59	1,18
13	<i>Acaulospora spp.</i>	52	1,04

Todos os 13 acessos de FMAs contribuíram para um

entre as amostras. Ao término da lavagem do solo, o material restante na peneira foi transferido para um tubo de centrifuga de 50 mL, preenchido com água destilada e centrifugado (3 min, 3000 rpm). Após descartou-se cuidadosamente o sobrenadante. O tubo foi novamente preenchido com solução de sacarose a 50% centrifugados (2 min, 2000 rpm). Nesse procedimento os esporos ficam suspensos no sobrenadante, que é revertido cuidadosamente para a peneira de 0,053mm, e com uma piseta com água destilada os esporos de FMAs são transferidos para uma placa de Petri, dividida em quadrantes para facilitar a contagem em microscópio estereoscópio (40X) para determinar a densidade de esporos de cada um dos acessos de FMAs do banco de germoplasma.

Resultados e discussão

Os resultados das análises química e granulométrica do solo utilizado como substrato no banco de germoplasma se encontram na tabela 2.

crescimento rápido das plantas, alguns vasos com uma quantidade menos numerosa de plantas, porém mesmo com menor quantidade de plantas, todos os vasos continham esporos. Estudos feitos por Sylvia e Williams (1992) em estufas mostram que o fungo micorrízico atua como um mecanismo biológico benéfico para as plantas, principalmente em situações de estresse edafoclimático. Além de aumentar a sobrevivência das plantas em períodos de seca (LINDERMAN, 2000; AL-KARAKI; MCMICHAEL; ZAK, 2004) e, sobretudo em condições de estresse, ou em fases específicas de seu ciclo de vida (HARTNETT; WILSON, 2002; MIRANDA; VILELA; MIRANDA, 2005; SIQUEIRA, et al., 2010).

A eficiência da associação micorrízica no crescimento e produtividade das culturas está vinculada a disponibilidade de nutrientes no solo e sua absorção pelas plantas, as quais podem ser alteradas pelas múltiplas práticas agrícolas efetuadas durante seu cultivo (SMITH; READ, 2008; SIQUEIRA, et al., 2010). A resposta da planta hospedeira associada ao fungo é atribuída principalmente a sua maior absorção de P, que é um nutriente pouco móvel no solo (BOLAN, 1991; O'KEEFE; SYLVIA, 1991; SIQUEIRA, et al., 2010). De modo geral, a presença da FMAs no solo e na planta potencializa a ação de corretivos e fertilizantes, beneficiando assim a produção vegetal (MIRANDA, 2008).

A densidade de espécies de FMAs em diferentes solos nativos na região do cerrado varia em média de 2 a 63 esporos 50 g⁻¹ de solo (FERREIRA; CARNEIRO; SAGGIN-JUNIOR, 2012; MIRANDA; SOUZA; MIRANDA, 1984; MIRANDA; VILELA; MIRANDA, 2005; MIRANDA, 2008; SIQUEIRA; COLOZZI-FILHO; OLIVEIRA, 1989). Nos agroecossistemas, os fungos apresentam, em geral, uma densidade de espécies mais elevada, que pode variar em fun-

ção das culturas utilizadas, dos fatores edafoclimáticos, do tempo de cultivo, bem como das práticas agrícolas utilizadas (MIRANDA; VILELA; MIRANDA, 2005; MIRANDA, 2008), já a densidade apresentada no banco de germoplasma variou entre 19 e 118 esporos 50 g⁻¹ de solo.

Em um solo de formação arenito Caiuá região Noroeste do Estado do Paraná, a espécie de FMAs que predominou foi *Glomus etunicatum*, como foi observado por Carneiro et al. (1999), o que indica certa adaptação desta espécie ao ambiente do solo degradado estudado com o cultivo de forrageiras como *B. brizantha*, utilizada neste estudo. Escolhemos a *B. brizantha* por ser uma das espécies de plantas mais recomendadas e utilizadas em banco de germoplasma ativo de Glomales, segundo Souza (2000).

Miranda (2008) recomenda três espécies de FMAs para o uso na produção de inoculantes, dentre eles o *Glomus etunicatum* no topo, *Entrophospora colombiana* e *Glomus manihotis*. O emprego dessas espécies em substratos, para a produção de mudas beneficia o crescimento de diversas plantas hospedeiras em diferentes condições de acidez e fertilidade do solo, agregando valor a muda e tornando o processo de inoculação mais prático e econômico. Em uma revisão, Siqueira; Lambais e Stürmer (2002) recomenda o FMA *Glomus clarum* como inoculante devido esta espécie ser responsiva e associada a um grande número de plantas de interesse agrícola.

Conclusão

Os FMAs contribuem para o crescimento das plantas, fornecendo nutrientes essenciais, e diminuindo os estresses, tanto bióticos como abióticos.

Foram encontrados esporos de FMAs em todos os acessos avaliados, indicando um sucesso na implementação e manutenção do banco de germoplasma de glomales da UNIPAR, sendo as espécies *Paraglomus brasiliensis* e *Glomus etunicatum* de menor e maior frequência de esporos, respectivamente no solo cultivado com *B. brizantha*.

Devido à importância econômica dos FMAs para agricultura sustentável, é preciso manter bancos ativos de germoplasma por instituições de pesquisa e universidades como a UNIPAR.

A manutenção de bancos ativos de germoplasma é fundamental para o desenvolvimento de pesquisas básicas e aplicadas, permitindo o acúmulo de dados sobre os isolados, sendo os esporos de FMAs, a principal fonte de material genético para estudos baseados em técnicas de biologia molecular com micorrizas.

Agradecimentos

Os autores agradecem à Universidade Paranaense – UNIPAR e a CAPES pelo apoio financeiro e pela bolsa de estudos concedida. Agradecem gentilmente os 04 acessos de FMAs fornecidos pela Universidade Estadual de Londrina – UEL e 09 acessos de FMAs fornecidos pela Instituto Agrônomo do Paraná - IAPAR.

Referências

AL-KARAKI, G.; MCMICHAEL, B.; ZAK, L. J. Field

response of wheat to arbuscular mycorrhizal fungi and drought stress. **Mycorrhiza**, Berlin, v. 14, p. 263-269, 2004.

BERBARA, R. L. L.; SOUZA, F. A.; FONSECA, H. M. A. C. Fungos Micorrízicos arbusculares: Muito além da nutrição. In: FERNANDES, M. S. **Nutrição Mineral de Plantas**. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo – SBCS. 2006. p. 53-88.

BOLAN, N. S. A critical review on the role of mycorrhizal fungi in the uptake of phosphorus by plants. **Plant and soil**, Dordrecht, v. 134, p. 189-207, 1991.

CARNEIRO, M. A. C. et al. Efeitos da inoculação de fungos micorrízicos arbusculares e da aplicação de fósforo no estabelecimento de forrageiras em solo degradado. **Pesquisa agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 34, n. 9, p. 1669-1677, 1999.

FERREIRA, D. A.; CARNEIRO, M. A. C.; SAGGIN-JUNIOR, O. J. Fungos micorrízicos arbusculares em um latossolo vermelho sob manejos e usos no cerrado. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 36, p. 36-31, 2012.

GERDEMANN, J. W.; NICOLSON, T. H. Spores of mycorrhizal engogne species extracted from soil by wet sieving and decanting. **Transactions of the British Mycological Society**, London, v. 46, n. 2, p. 235-244, 1963.

GILMORE, A. E. Phycomycetous mycorrhizal organisms collected by open-pot culture methods. **Hilgardia**, Berkeley, v. 39, p. 87-105, 1968.

HARTNETT, D. C.; WILSON, G. W. T. The role of mycorrhizas in plant community structure and dynamics: lessons from grasslands. **Plant and soil**, Dordrecht, v. 244, p. 319-331, 2002.

JASPER, D. A. Management of mycorrhizas in revegetation. In: ROBSON, A. D.; ABBOTT, L. K.; MALAJCZUK, N. **Management of mycorrhizas in Agriculture, Horticulture and Forestry**. Dordrecht: Kluwer Academic Publisher, 1994. p. 211-220.

LINDERMAN, R. G. Effects of mycorrhizas on plant tolerances to diseases. In: KAPULNIK, Y.; DOUDS, D. D. J. **Arbuscular mycorrhizas: physiology and function**. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 2000. p. 331-336.

MIRANDA, J. C. C. **Cerrado: Micorriza arbuscular, ocorrência e manejo**. Planaltina, EMBRAPA-Cerrados, 2008. p. 169.

MIRANDA, J. C. C.; SOUZA, D. M. G.; MIRANDA, L. N. Influência de fungos endomicorrízicos vesículo-arbusculares na absorção de fósforo e no rendimento de matéria seca de plantas de sorgo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 8, p. 31-36, 1984.

MIRANDA, J. C. C.; VILELA, L.; MIRANDA, L. N.

- Dinâmica e contribuição da micorriza arbuscular em sistemas de produção com rotação de culturas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 40, p. 1005-1014, 2005.
- MOREIRA, F. S.; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia bioquímica do solo**. 2. ed. Lavras: UFLA, 2006. 729 p.
- MORTON, J. B.; BENNY, G. L. Revised classification of arbuscular mycorrhizal fungi (Zygomycetes): A new order, Glomales, two new suborders, Glomineae and Gigasporineae, and two new families, Acaulosporaceae and Gigasporaceae, with an emendation of Glomaceae. **Mycotaxon**, Ithaca, v. 37, p. 471-491, 1990.
- MORTON, J. B.; BENTIVENGA, S. P.; WHEELER, W. W. Germplasm in the International Collection of Arbuscular and Vesicular-arbuscular Mycorrhizal Fungi (INVAM) and procedures for culture development, documentation and storage. **Mycotaxon**, Ithaca, v. 48, p. 491-528, 1993.
- NOVAIS, C. B.; SOUZA, F. A. de; SIQUEIRA, J. O. Caracterização fenotípica e molecular de esporos de fungos micorrízicos arbusculares mantidos em banco de germoplasma. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 45, p. 806-896, 2010.
- O'KEEFE, D. M.; SYLVIA, D. M. Mechanisms of the vesicular-arbuscular mycorrhizal plant growth response. In: ARORA, D. K. et al. **Handbook of applied mycology**. New York: M. Dekker, 1991. p. 35-53.
- SIQUEIRA, J. O.; COLOZZI-FILHO, A.; OLIVEIRA, E. Ocorrência de micorrizas vesicular-arbusculares em agro e ecossistemas naturais do estado de Minas Gerais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 24, p. 1499-1506, 1989.
- SIQUEIRA, J. O.; FRANCO, A. A. **Biotecnologia do solo: fundamentos e perspectivas**. Lavras: ESALQ/Faepe, 1988. 236 p.
- SIQUEIRA, J. O.; LAMBAIS, M. R.; STÜRMER, S. L. Fungos micorrízicos arbusculares. **Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento**, 2002. 326 p.
- SIQUEIRA, J. O. et al. **Micorrizas: 30 anos de pesquisa no Brasil**. Lavras: UFLA, 2010. 716 p.
- SMITH, S. E.; READ, D. J. **Mycorrhizal Symbiosis**. 3. ed. London: Academic Press, 2008. 815 p.
- SOUZA, F. A. de. **Banco Ativo de Glomales da Embrapa Agrobiologia: catalogação e introdução de novos isolados desde 1995**. Seropédica, 2000. Documentos, n. 123, EMBRAPA-Agrobiologia, 40 p.
- SOUZA, F. A. de.; SILVA, E. M. R. da. Micorrizas Arbusculares na Recuperação de áreas degradadas. In: SIQUEIRA, J. O. **Avanços e aplicações na pesquisa com Micorrizas**. Lavras: UFLA, 1996. p. 255-290.
- SYLVIA, D. M.; WILLIAMS, S. E. Vesicular arbuscular mycorrhizae and environmental stresses. In: BETHLENFALVAY, G. J.; LINDERMAN, R. G. **Mycorrhizae in sustainable agriculture**. Madison: American Society of Agronomy (ASA. Special Publication, 54), 1992. p. 101-124.