

**BIODIVERSIDADE E ECOFISIOLOGIA DE
FUNGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES
EM ASSOCIAÇÃO COM BROMÉLIAS**

BEATRIZ CRISTINA DE MATTEO

Dissertação apresentada à Escola Superior de
Agricultura "Luiz de Queiroz" Universidade
de São Paulo, para obtenção do título de
Mestre em Recursos Florestais, opção em
Conservação de Ecossistemas Florestais.

PIRACICABA

Estado de São Paulo - Brasil

Fevereiro – 2002

**BIODIVERSIDADE E ECOFISIOLOGIA DE
FUNGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES
EM ASSOCIAÇÃO COM BROMÉLIAS**

BEATRIZ CRISTINA DE MATTEO

Biólogo

Orientador: Prof. Dr. **ANTONIO NATAL GONÇALVES**

Dissertação apresentada à Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" Universidade de São Paulo, para obtenção do título de Mestre em Recursos Florestais, Área de Concentração: Recursos Florestais, com opção em Conservação de Ecossistemas Florestais.

PIRACICABA

Estado de São Paulo - Brasil

Fevereiro – 2002

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
DIVISÃO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - ESALQ/USP**

Matteo, Beatriz Cristina de
Biodiversidade e ecofisiologia de fungos micorrízicos arbusculares em associação
com bromélias / Beatriz Cristina de Matteo. - - Piracicaba, 2002.
80 p. : il.

Dissertação (mestrado) - - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 2002.
Bibliografia.

1. Bromeliales 2. Ecofisiologia vegetal 3. Inoculação 4. Fungos micorrízicos 5.
Plantas epífitas 6. Sistema radicular I. Título

CDD 635.93422

“Permitida a cópia total ou parcial deste documento, desde que citada a fonte – O autor”

"Cognitio rerum causa propositionis universalis quae est principium artis et scientiae"

Officina Artium et Rerum

"O conhecimento é o motivo da proposição universal que é o princípio da arte e da ciência"

Os Franciscanos

Ao meu filho Gabriel,
a inspiração e força para todos os momentos,
pela paciência esperando o término desse trabalho.

À minha mãe, Miriam (em memória)
sempre presente em minhas lembranças,
por seu amor e pelo incentivo nos estudos.

DEDICO

Ao meu pai, Reinaldo e minha irmã, Carmen pelo apoio e confiança.
Ao meu companheiro, Mário, pelo incentivo e dedicação.

OFEREÇO

AGRADECIMENTOS

Aos professores, pesquisadores e amigos,

Dr. Raymond Stanley Pacovsky, pelo incentivo na pesquisa, por acreditar no meu trabalho, pelas sugestões, críticas, parceria e grande ajuda em todo o trabalho.

Dr. Antonio Natal Gonçalves por aceitar orientar-me neste trabalho, pela confiança e apoio na execução do projeto desenvolvido e amizade.

Dra. Ana Maria Liner P. da Silva, Dr. Tasso Leo Krügner e Dr. João Alexio Scapare Filho por aceitarem participar da banca examinadora de qualificação, pelas críticas, sugestões e incentivo.

Dr. Gustavo Maia Souza pela orientação, “valiosas” sugestões e amizade.

Dra. Sandra Gomes da Costa pela identificação dos fungos micorrízicos arbusculares.

Dr. Fernando Grossi pela colaboração e orientação nos trabalhos de propagação *in vitro*.

Aos colegas Vanderley Stefanuto e Flávia Capaldi pelo apoio nas disciplinas cursadas e ajuda nos experimentos de laboratório, e Marília Cantarelli, pela pontualidade no “apoio técnico”.

Ao técnico do laboratório de Fisiologia das Árvores, “Beto”, pela ajuda nos experimentos de propagação *in vitro* e ao IPEF pela ajuda no financiamento das análises químicas e físicas dos experimentos.

Aos colegas da PG pelos dois anos de convivência e aos funcionários da Seção de Pós-graduação pela atenção e ajuda oferecida neste período.

Às bibliotecárias pelo apoio na revisão bibliográfica e aos funcionários do Departamento de Ciências Florestais pelo suporte no andamento do curso.

Ao Instituto Florestal pela autorização da execução do projeto.

A João Paulo Villani, Fabrício e todos os funcionários do Núcleo Santa Virgínia, Parque Nacional da Serra do Mar, pelo apoio e incentivo em todo o trabalho de campo.

À Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo – ESALQ/USP pela oportunidade para fazer este curso e pela estrutura de apoio técnico oferecida.

À “BIOLAND” pelo fornecimento do composto orgânico.

À CAPES pela bolsa de estudos.

A Marcelo Cavallari pela ajuda nas coletas de campo, na casa de vegetação, identificação das bromélias, e amizade.

Ao amigo prof. Manoel Corrêa Tablas pelas sugestões apresentadas.

Aos amigos, Diva Fosco Biotto, José Luiz Pessenda e Rosemary P. de Moraes e Silva, pela dedicação no cuidado da minha saúde e por possibilitar o término das disciplinas e do trabalho final de dissertação.

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE FIGURAS.....	ix
LISTAS DE TABELAS.....	xi
RESUMO.....	xiv
SUMMARY.....	xvi
1 INTRODUÇÃO.....	1
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	4
2.1 Características gerais das bromélias.....	4
2.2 Epifitismo e nutrição.....	5
2.3 Propagação vegetativa.....	6
2.4 Propagação por sementes.....	7
2.5 Substratos para propagação.....	8
2.5.1 Casca de <i>Pinus</i> e areia	9
2.5.2 Composto orgânico.....	9
2.6 Fungos micorrízicos	10
2.6.1 Estabelecimento da simbiose raiz-planta.....	12
2.6.2 Nutrição e fisiologia de plantas micorrizadas.....	13
2.6.3 Avaliação da interação fungo-planta	15
2.6.4 Ecologia e biodiversidade de fungos MA.....	15
2.6.5 Especificidade hospedeiro-fungo.....	17

2.6.6 Fungos endomicorrízicos em Bromeliaceae.....	17
a) Cultivo.....	17
b) Ambientes naturais.....	19
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	21
3.1 Biodiversidade.....	21
3.1.1 Áreas de estudo.....	21
3.1.2 Áreas de coleta.....	22
3.1.3 Coleta de solo no campo.....	23
3.1.4 Reprodução dos fungos MA em casa de vegetação.....	24
3.1.5 Amostragem de solo e raiz.....	26
3.1.6 Identificação dos fungos MA.....	27
3.1.7 Coleta e identificação das bromélias.....	27
3.2 Ecofisiologia.....	28
3.2.1 Delineamento Experimental.....	28
3.2.2 Material biológico.....	28
3.2.3 Área de coleta e germinação das sementes.....	29
3.2.4 Substrato.....	30
3.2.5 Inoculação.....	30
3.2.6 Casa de vegetação.....	30
3.2.7 Colheita e determinação do crescimento de plantas.....	31
3.2.8 Colonização por fungos MA.....	31
3.2.9 Análises de nutrientes e caracterização dos substratos.....	31
3.2.10 Métodos estatísticos.....	32
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	33
4.1 Biodiversidade.....	33
4.1.1 Levantamento das espécies de fungos MA.....	33
4.1.2 Morfologia e exploração de raízes epifíticas.....	39
4.1.3 Números de esporos.....	41
4.1.4 Colonização por fungos MA.....	44
4.2 Ecofisiologia.....	46

4.2.1 Produção de matéria seca.....	46
4.2.2 Índices de crescimento.....	50
4.2.3 Macronutrientes.....	52
4.2.4 Micronutrientes.....	56
4.2.5 Considerações Finais.....	58
4.2.6 Aspectos práticos.....	59
5 CONCLUSÕES.....	61
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	62

LISTA DE FIGURAS

	Página
1 Biodiversidade de fungos MA nos gêneros encontrados em bromélias epífitas e terrestres no Parque Estadual da Serra do Mar (NSV e NC).....	32
2 Abundância de esporos de fungos MA nos diversos gêneros encontrados em bromélias epífitas e terrestres do Parque Nacional da Serra do Mar (NSV e NC).....	38
3 Fungos MA colonizando raiz adventícia de <i>Vriesea</i> sp	40
4 Arbúsculos em associação com o xilema da raiz adventícia de <i>Vriesea</i> sp.....	40
5 Raiz de <i>Vriesea</i> sp e hifas explorando a casca da árvore.....	41
6 Colonização de raízes de bromélias epífitas e terrestres transplantadas para um substrato esterilizado, depois de 10 meses em casa de vegetação.....	44

- 7 A,B Correlação entre a colonização e a matéria vegetal seca total em *A. nudicaulis* inoculada com fungos MA nos experimentos 1 e 2. Equação significativa a $p < 0.05$ pelo teste de Tukey..... 49
- 8 A,B Correlação entre a colonização e a concentração de PI em *A. nudicaulis* inoculada com fungos MA nos experimentos 1 e 2. Equação significativa a $p < 0.05$ pelo teste de Tukey. 53

LISTA DE TABELAS

	Página
1 Espécies de fungos MA presentes e sua freqüência em uma população do solo do Parque Estadual de Campos do Jordão (mistura de fungos MA) usadas como inóculo no experimento 2 da casa de vegetação (Ecofisiologia).....	24
2 Características químicas dos substratos utilizados nos experimentos de casa de vegetação: <i>Exp. R</i> : reprodução (biodiversidade) de fungos MA; <i>Exp. 1</i> : Ecofisiologia (areia:composto orgânico, 1:1); <i>Exp. 2</i> : Ecofisiologia (casca <i>Pinus</i> :areia:composto orgânico, 2:1:1)	25
3 Características físicas dos substratos utilizados nos experimentos da casa de vegetação: <i>Exp. R</i> : reprodução (biodiversidade) de fungos MA; <i>Exp. 1</i> : Ecofisiologia (areia:composto orgânico, 1:1); <i>Exp. 2</i> : Ecofisiologia (casca <i>Pinus</i> :areia:composto orgânico,2:1:1).....	25
4 Espécies de fungos MA em raízes das bromélias epífitas e terrestres coletadas no Parque Estadual da Serra do Mar (NSV e NC).....	34

5	Bromélias identificadas e distribuição em categorias das espécies de fungos MA presentes em raízes de bromélias epífitas e terrestres coletadas no Parque Estadual da Serra do Mar (NSV e NC).....	36
6	Abundância de esporos de fungos MA em bromélias epífitas e terrestres coletadas no Parque Estadual da Serra do Mar (NSV e NC).....	37
7	Número de esporos de fungos MA em 100 g do solo de mata nativa (sem a presença de bromélias) do NSV, Parque Estadual da Serra do Mar.....	42
8	Número de esporos de fungos MA em 100 g do solo de mata nativa (com a presença de bromélias terrestres) do NSV, Parque Estadual da Serra do Mar e no substrato utilizado do cultivo de bromélias em casa de vegetação depois de 10 meses e colonização das raízes das mesmas bromélias por fungos MA.....	43
9	Produção média de biomassa e colonização radicular de <i>A. nudicaulis</i> inoculada com espécies de fungos MA ou sem inóculo (controle), nos experimentos 1 e 2 da casa de vegetação (Médias e desvios padrões de 8 repetições).....	46
10	Diferenças no crescimento (DC) de matéria vegetal seca e diferenças na concentração de P (DC P) de <i>A. nudicaulis</i> associada com espécies de fungos MA ou não (controle) dos experimentos 1 e 2.....	51

- 11 Concentração de macronutrientes (mg/g) na parte área em *A. nudicaulis* inoculada com fungos MA ou não (controle) dos experimentos 1 e 2. (Médias de amostras compostas)... 55
- 12 Concentração de micronutrientes ($\mu\text{g/g}$) na parte área de *A. nudicaulis* inoculada com fungos MA ou não (controle) dos experimentos 1 e 2. (Médias das amostras compostas)..... 57

BIODIVERSIDADE E ECOFISIOLOGIA DE FUNGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES EM ASSOCIAÇÃO COM BROMÉLIAS

Autora: BEATRIZ CRISTINA DE MATTEO

Orientador: Prof. Dr. ANTONIO NATAL GONÇALVES

RESUMO

Neste trabalho, foram comparadas a biodiversidade de fungos MA encontrada em bromélias terrestres e epífitas, e a resposta de plântulas derivadas de *Aechmea nudicaulis* (L.) Griseb., germinadas *in vitro*, com os efeitos de diferentes inóculos de fungos MA (ecofisiologia). O crescimento da planta, o conteúdo de nutrientes e a colonização por fungos MA foram verificados em dois diferentes substratos. A diversidade de fungos MA encontrada nas raízes de 5 bromélias epífitas e 3 terrestres foi de 47 táxons de fungos MA sendo 36 identificados ao nível de espécie (*Acaulospora* spp., 11; *Entrophospora* spp., 2; *Gigaspora* spp., 4; *Glomus* spp., 15; *Scutellospora* spp., 4) e 11 ao nível de gênero, com 2 espécies não identificadas para cada gênero, exceto *Entrophospora*, com 3 espécies. No mínimo, duas das espécies não identificadas são ainda não descritas. *Acaulospora* foi o gênero dominante entre as bromélias epífitas, enquanto *Glomus* foi o dominante nas bromélias terrestres. As bromélias aparentemente não apresentam especificidade quanto aos fungos MA permitindo a colonização de qualquer fungo MA em suas raízes. Foram observados, pela primeira vez, fungos MA dentro de raízes adventícias e hifa externa colonizando extensivamente a casca da árvore que dava suporte para as bromélias epífitas. A inoculação com fungos endomicorrízicos causou

tanto a redução (parasitismo) como o aumento (mutualismo) no crescimento, em relação ao controle, dependendo da espécie de fungo MA ou substrato usados. As diferenças de crescimento relativo ao controle, provavelmente, foram pelo balanço entre assimilação de P (positivo) ou perda de carboidratos (negativo), entre os dois parceiros na associação. Em casa de vegetação, a presença de *E. colombiana* ou a mistura de fungos MA, de um solo natural, em raízes de *A. nudicaulis* resultou em maior crescimento e acúmulo de P. A casca de *Pinus* no substrato propiciou o crescimento da planta micorrizada, uma vez que forneceu uma forma adicional de P e aumentou a drenagem e aeração do solo. Portanto, essas plantas colonizadas por fungos MA, apresentaram maiores taxas de crescimento na fase de aclimação.

BIODIVERSITY AND ECOPHYSIOLOGY OF ENDOMYCORRHIZAL FUNGI ASSOCIATED WITH BROMELIADS

Author: BEATRIZ CRISTINA DE MATTEO

Adviser: PROF. DR. ANTONIO NATAL GONÇALVES

SUMMARY

In this work, the biodiversity of AM fungi found associated with terrestrial and epiphytic bromeliads, and the response of *Aechmea nudicaulis* (L.) Griseb. germinated *in vitro* to inoculation with various AM fungi were compared (ecophysiology). Plant growth, nutrient content, and colonization by AM fungi were measured in two substrates. The diversity of AM fungi found in 5 epiphytic and 3 terrestrial bromeliads roots included 47 taxons of AM fungi including 36 identified species (*Acaulospora* spp., 11; *Entrophospora* spp., 2; *Gigaspora* spp., 4; *Glomus* spp, 15; *Scutellospora* spp. 4) and 11 non-identified species with two non-identified species in each genera, except for *Entrophospora*, with 3 species). At least two of these fungi are new species that have never been described before. *Acaulospora* was dominant with epiphytic bromeliads, while *Glomus* was dominant with terrestrial bromeliads. Bromeliads, unlike other plant species appear not to have a specific preference for AM fungal species, but will allow any AM fungus present to colonize their roots. During this study, AM fungi within adventitious roots and external hyphae colonizing extensively the bark of trees supporting epiphytic bromeliads were observed. Inoculation with endomycorrhizal fungi caused either a growth reduction (parasitism) or a growth enhancement (mutualism) relative to the control depending on the species of

AM fungus and the substrate used. The trend towards mutualism or parasitism relative to the control was likely due to the balance between improved P inflow or excessive carbohydrate loss between the two partners in the association. Presence of *E.colombiana* or a mixture of fungi from a natural soil in the roots of *A. nudicaulis* resulted in superior growth and concentrations of P. Pine bark in the substrate was stimulatory to mycorrhizal plant growth since it provided an additional form of P enhanced drainage and soil aeration. Therefore, these AM colonized plants showed higher growth rate in the acclimatization phase.

1 INTRODUÇÃO

As bromélias são muito importantes em florestas pela contribuição destas plantas nos ciclos de nutrientes, aumentando a biomassa vegetal (produção primária) e armazenagem de água criando microclimas essenciais na dinâmica dos ecossistemas naturais (Stadtmüller, 1987). São responsáveis também pela formação de microhabitats que contribuem para a manutenção da biodiversidade de outros grupos de animais e vegetais (Matteo, 1994). Além de sua importância na dinâmica ambiental, a família Bromeliaceae tem sido muito usada em floricultura e paisagismo por sua riqueza em exemplares de rara beleza e diversidade de cores.

Poucos estudos foram feitos sobre a nutrição e crescimento de bromélias em casa de vegetação. Segundo Benzing (1996), o desenvolvimento lento destas espécies parece ser uma adaptação essencial dessas plantas à sobrevivência em ambientes oligotróficos, representando uma economia significativa na utilização dos recursos nutricionais. O substrato ideal para espécies epífitas é outro problema para os floricultores, que optam pelo uso do xaxim [*Dicksonia sellowiana* (Presl.) Hook], de crescimento lento e que vem sendo extraído intensivamente no sul do país (Silva, 1994).

Algumas espécies são de difícil germinação, ou mesmo depois de germinadas seu crescimento é lento e as plântulas são muito vulneráveis às intempéries ambientais. Há uma necessidade de estudos sobre o cultivo de espécies de bromélias propagadas por sementes, inclusive das espécies em risco de extinção, pois são vítimas do extrativismo, assim como é necessário que se estudem as espécies menos resistentes às mudanças bruscas

ambientais trazidas pelo desmatamento e mudanças climáticas.

Os fungos micorrízicos arbusculares (MA) são de ocorrência generalizada na grande maioria das espécies vegetais e ecossistemas do planeta, constituindo uma regra e não uma exceção na natureza (Smith & Read, 1997). Assim, representam o estado natural da maioria das plantas cultivadas e não cultivadas, e as bromélias não fogem desta regra.

As plantas epífitas têm sido consideradas como hospedeiras que suportam menos micorrizas do que uma planta terrestre, exceto em alguns locais e microambientes que estão fixadas (Benzing, 1996), pois, dependendo do tamanho e idade da planta epífita é possível coletar até 100g de solo e liteira (Paoletti et al., 1991), o que poderia favorecer a multiplicação de esporos no substrato arbóreo.

Os fatores que controlam a colonização MA no campo são muito complexos e difíceis de relacionar (Allen, 1991). Muitos estudos têm sido realizados com diferentes espécies vegetais sobre os efeitos de fungos simbioses no crescimento, nutrição mineral e vigor de plantas (Allen, 1992), para a produção de plantas de tamanho aceitável usando menos recursos (fertilizantes e agrotóxicos), além da melhoria na qualidade do meio ambiente, com a racionalização do uso desses elementos (Dickson et al., 1999).

Os fungos MA têm sido empregados na produção de abacaxis [*Ananas comosus* (L.) Merrill], promovendo um aumento no crescimento e maior absorção de nutrientes, principalmente os de baixa mobilidade no solo como P, Zn e Cu. As plantas inoculadas com fungos MA são também, mais tolerantes ao ataque de agentes fitopatogênicos, como fungos e nematóides (Trufem et al., 1990), e às condições adversas (pH do solo baixo ou alto, presença de metais pesados) quando transplantadas para o campo (Guillemin et al., 1997). Diferenças nas associações entre um hospedeiro específico e um endófito micorrízico têm sido associadas a fatores genéticos, ambientais e fisiológicos. Para uma exploração e manejo mais adequados dos benefícios desta simbiose, são necessários mais estudos sobre os processos fisiológicos que ocorrem

entre plantas e fungos (Abbott & Gazey, 1994).

Em casa de vegetação, foram usados fungos MA para verificar sua capacidade de infecção em raízes de bromélias e possíveis benefícios no cultivo das mesmas. Através dos resultados obtidos em casa de vegetação, foram adicionados conhecimentos sobre o uso de fungos MA e do composto orgânico, como alternativa na produção de mudas. Isto estará contribuindo para programas de reintrodução de espécies em áreas degradadas e matas ciliares (Matteo, 1994), recomposição de trilhas educativas, bem como, fornecendo dados para produtores de mudas de bromélias, incentivando a diminuição do extrativismo destas plantas na natureza.

O objetivo geral do trabalho foi verificar o efeito das inoculações com fungos MA, em raízes de uma espécie de bromélia nativa, *Aechmea nudicaulis* (L.) Griseb, seu cultivo em um substrato alternativo para o desenvolvimento de plantas epífitas, além de verificar as espécies de fungos MA de ocorrência natural em algumas bromélias da Mata Atlântica.

São objetivos específicos da dissertação:

- a)** Fazer um levantamento preliminar das espécies de fungos MA que ocorrem em algumas bromélias do Parque Estadual Serra do Mar, no Estado de São Paulo;
- b)** Verificar taxas de colonização por fungos MA em raízes de *A. nudicaulis*;
- c)** Comparar o efeito de diferentes fungos MA no crescimento e nutrição de plântulas de *A. nudicaulis* propagadas por sementes *in vitro*;
- d)** Utilizar um composto orgânico no cultivo de uma espécie de bromélia epífita, *A. nudicaulis*;
- e)** Selecionar espécies de fungos MA para a produção de mudas adequadamente nutridas para a recomposição da flora bromelícola de áreas degradadas, matas ciliares e recomposição de trilhas educativas.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Características gerais das bromélias

A família Bromeliaceae possui 2.700 espécies e 54 gêneros e é dividida em 3 subfamílias: *Pitcairnioideae* Harms, *Tillandsioideae* Harms e *Bromelioideae* Harms (Leme, 1997). Sua distribuição é neotropical, exceto por uma espécie, *Pitcairnia feliciana* (Auguste Chevalier) Harms & Mildbraed, que ocorre na África (Leme & Marigo, 1993). As regiões mais abundantes em bromélias são México, Antilhas, Costa Rica, leste e sul do Brasil, os Andes da Colômbia, Peru e Chile (Mercier & Kerbauy, 1997). O Brasil conta com, aproximadamente 40% das espécies e tem 10 gêneros endêmicos. A maior diversidade de bromélias, no Brasil, é encontrada na Mata Atlântica com 6 gêneros endêmicos (Leme, 1997).

São encontradas tanto em áreas ao nível do mar, quanto em altitudes de 4.000 metros. Dependendo do ecossistema, as bromélias podem ser: *terrestres*, vivendo em vários tipos de solo e sobre acúmulos orgânicos; *rupícolas*, diretamente sobre as rochas nuas; *saxícolas*, entre as pedras; e *epífitas*, que constituem mais da metade das espécies conhecidas. Estas últimas vivem sobre os troncos e galhos de outros vegetais para alcançarem uma posição estratégica na floresta e receberem mais luminosidade, drenagem adequada, maior ventilação e um depósito maior de matéria orgânica (Richards, 1952; Benzing et al., 1978; Leme, 1984).

Todas as bromélias são plantas herbáceas e quase todas as suas espécies são perenifólias. No entanto, produzem flores só uma vez. Na maior parte dos casos, após o término da floração, a planta pode ficar até dois anos

produzindo brotos (Smith & Downs, 1974) que variam em número de acordo com a espécie (Leme & Marigo, 1993).

A classificação das subfamílias é feita baseada principalmente no tipo de fruto e semente. As Tillandsioideae e Pitcairnioideae possuem ovário súpero ou semi-súpero, os frutos são geralmente do tipo capsular deiscente com sementes apendiculadas, aladas ou plumosas, pequenas e leves, com dispersão pelo vento. No caso das Bromelioideae, o ovário é ínfero, o fruto é indeiscente na forma de bagas, com sementes nuas (Smith & Downs, 1974).

Aechmea nudicaulis, uma espécie usada neste trabalho, é encontrada na natureza como uma epífita ou como rupícola. Ocorre desde o nível do mar até 1200m de altitude (Smith & Downs, 1979). É uma bromélia que ocorre em toda a Mata Atlântica, com uma imensa capacidade de dispersão de sementes e resistência às variações climáticas (Leme & Marigo, 1993).

2.2 Epifitismo e nutrição

Nas bromélias, o epifitismo promove características adaptativas durante todo o seu ciclo de vida. As taxas baixas de crescimento, a estatura pequena, presença de tricomas foliares, o baixo potencial reprodutivo (Medina, 1990), a suculência foliar, o metabolismo CAM (Martin, 1994), são características que ajudam na economia do uso da água e dos minerais disponíveis (Benzing & Renfrow, 1974). Muitas espécies possuem suas folhas dispostas na forma de um tanque adaptado para o armazenamento de água, criando condições para manter diferentes espécies de animais e vegetais, os quais, muitas vezes, dependem destas plantas para sua existência ou para completar seus ciclos de vida (Mesquita & Matteo, 1992; Rocha et al., 1997).

As raízes das formas epífitas têm a função principal de sustentação, principalmente raízes adventícias, e para a obtenção de nutrientes e água são utilizados os tricomas foliares, e também algumas raízes finas que ficam explorando o substrato arbóreo (Benzing, 1996). Nas espécies terrestres, sua constituição é diversa agindo também como órgãos de absorção (Reitz, 1984).

O primeiro estresse imposto às plantas epífitas das Matas Pluviais é a manutenção de nutrientes minerais e umidade no substrato. As plantas epífitas têm como principais fontes de nutrientes a deposição atmosférica (chuva, poeira e deposição seca), a decomposição da camada mais externa da casca das árvores, a liteira e lixiviação interceptada pela folhagem da árvore hospedeira (Brighigna et al., 1992), excreção de animais de dossel, pedaços de plantas trazidos por formigas e térmitas do chão da floresta e fixadores de nitrogênio simbiotes e de vida livre (Nadkarni, 1986). Aproximadamente 75% do substrato arbóreo é constituído de matéria orgânica (Paoletti et. al., 1991).

O fluxo de nutrientes no dossel das matas não é constante quanto ao tempo e espaço (Benzing, 1996). A disponibilidade de P é variável dependendo da dinâmica do ambiente, como chuvas e lixiviação, por exemplo. Em tais ambientes há uma limitação de Cu e Zn pois estes elementos não são lixiviados das plantas como os outros (Marschner, 1995), e as quantidades depositadas da atmosfera podem ser limitadas para o crescimento e o acesso dependerá da localização da epífita na árvore (Benzing, 1983).

2.3 Propagação vegetativa

Na natureza, as bromélias se propagam por *rizomas* que se constituem numa metamorfose caulinar, adaptada à vida subterrânea; *estolões* que se desenvolvem sobre a superfície do solo, ou abaixo deste; ou *brotos*, que são projeções que se desenvolvem a partir de gemas geralmente situadas nas axilas foliares (Baracho, 1997). A produção de brotos ocorre, na maioria das espécies, logo após o período de floração. Brotos podem viver independentemente quando alcançarem um terço do tamanho da planta matriz (Mercier & Kerbauy, 1997).

A propagação vegetativa é uma estratégia comum encontrada na família. No entanto, há produção de poucos indivíduos por planta, fazendo com que sejam usadas outras formas de propagação nas práticas que pedem um maior número de indivíduos, inclusive para programas de reintrodução (Carneiro, 1997) ou preservação (Matteo, 1994) de espécies.

2.4 Propagação por sementes

A propagação por sementes é um processo sexual de multiplicação onde podem ser obtidas muitas plântulas. As sementes geralmente são pequenas e podem ter vários meses de viabilidade. No entanto, os melhores resultados de germinação são os que utilizam sementes recém coletadas de suas matrizes (Mercier & Kerbauy, 1997). Apesar de algumas dificuldades na propagação por sementes, como o de poucos frutos por inflorescência, o longo período necessário para o amadurecimento dos frutos e o número restrito de sementes disponíveis sazonalmente, a porcentagem de germinação pode ser até de 100% em algumas espécies (Mercier & Guerreiro Filho, 1990).

Na fase juvenil, a água é estocada nos hypocótilos e, nas plântulas, as folhas são recobertas por tricomas. A aridez é o maior problema para o crescimento dos estádios jovens. As plântulas desidratam mais rapidamente que os adultos e as baixas taxas de crescimento contribuem para que fiquem sujeitas a desidratação por maior tempo. O fotocontrole da germinação, como o de outras plantas, é realizado através da absorção de energia radiante pelos fitocromos. As sementes de Bromeliaceae cobrem todo o espectro de requisição de luz. Desta forma, a possibilidade de ocorrência de germinação em condições de baixa luminosidade ou na ausência de luz permite a ocupação de vários microhabitats existentes nas matas (Smith & Downs, 1974; Mercier & Guerreiro Filho, 1990).

A propagação *in vitro* ajuda na obtenção de plantas livres de patógenos e controláveis nutricionalmente (Hirimburegama & Wijesinghe, 1992), além de ser mais rápida, com maior produção de matéria vegetal e produção de brotos

(Zimmer et al., 1993). Em geral, os meios básicos de nutrientes são usados em micropropagação de bromélias (Knudson, 1946; Murashige & Skoog, 1962); As concentrações de compostos orgânicos, como vitaminas e carboidratos, variam com o estudo (Mercier & Kerbauy, 1992).

2.5 Substratos para propagação

Na natureza, as plantas epífitas aderem-se às cascas das árvores, onde há umidade do ar em dosagens ideais para o desenvolvimento das raízes. No cultivo em vaso, é necessário encontrar um substituto ideal para servir de substrato para cada espécie (Kämpf, 1995).

No cultivo de plantas em vasos, o substrato é importante para o bom desenvolvimento das raízes. Este deverá ter retenção de água e aeração adequadas (MacDonald, 1993). Um substrato usado para cultivo de bromélias em vasos é à base de partes iguais de areia grossa e musgo seco, ou ainda pó de xaxim (Roriz, 1998). Pode-se acrescentar meia porção de folhas secas e moídas. Em estudos feitos com *Vriesea carinata* Wawra, *Acanthostachis strobilacea* (Schultes f.) Klotzsch e *Billbergia venezuelana* Mez, a germinação e desenvolvimento de plântulas foi maior com o uso de substratos à base de turfa e areia (Tsybulya, 1989). Em estudos sobre produção de *Aechmea fasciata* (Lindley) Baker, os melhores resultados foram dos substratos formulados com casca de *Pinus*, ou casca de *Eucalyptus*, fibra de coco ou coxim, turfa e perlita (Kanashiro, 1999).

A influência do substrato nas taxas de crescimento de abacaxi produzido *in vitro* foi testada utilizando diferentes combinações e proporções de terra, turfa, areia e perlita (Folliot & Marchal, 1990). Os substratos a base de turfa foram os com melhores resultados, mas devem ser monitorados para não ressecarem (Wang et al., 1993). Os substratos compostos por terra e perlita deram resultados inferiores aos contendo turfa. No entanto, estes foram os mais confiáveis para evitar o ressecamento (Folliot & Marchal, 1990).

2.5.1 Casca de *Pinus* e areia

Os resíduos gerados como produtos secundários na área florestal e agrícola, têm sido cada vez mais utilizados na propagação de plantas (Muchovej & Pacovsky, 1997). A casca de *Pinus* é um material muito usado na composição dos substratos por ser muito confiável e pelos ótimos resultados de crescimento e enraizamento de plantas. Tem tanto a capacidade de retenção da água como a de permitir drenagem (Hartmann et al., 1991).

As cascas de *Pinus* são facilmente decomponíveis e devem sofrer compostagem de no mínimo 6 semanas. Durante sua decomposição, vários nutrientes são liberados. Sua capacidade catiônica varia de 30 a 57 meq/100g e o pH fica entre 3,5 a 5,0. São relativamente leves e baratas comparadas a outros componentes (Dirr & Heuse Jr., 1987).

A areia consiste de partículas pequenas de rocha (0.05 a 2.0 mm de diâmetro), formadas a partir do desgaste da mesma, e sua composição mineral dependerá do tipo de rocha. Em propagação, a areia é usada como meio de enraizamento e estabilidade, na mistura com vários materiais orgânicos pelo seu peso elevado. A areia não contém nutrientes minerais ou capacidade de troca de cátions. (Dirr & Heuse, 1987).

2.5.2 Composto orgânico

O composto orgânico é um substrato orgânico preparado a partir de restos vegetais, animais e de alguns tipos de resíduos industriais através de um processo denominado compostagem e contém vários nutrientes na forma orgânica (Kiehl, 1998; Ecosolo, 2001). Na compostagem, ocorre uma decomposição microbiana de oxidação e oxigenação de uma massa heterogênea, no estado sólido e úmido, chegando a um produto final rico em matéria orgânica estabilizada, livre de fitotoxinas e microrganismos patogênicos, muito usado na agricultura, áreas de reflorestamento (Hart et al., 1988) e floricultura como fertilizante e condicionador de solos, para melhorar o desenvolvimento das culturas (Guedes, 2000; Bioland, 2001).

O composto orgânico tem mostrado bons resultados em solos pobres, pela melhoria das propriedades físicas do solo, como a infiltração, retenção de água e, a aeração do solo (Glinsk & Stepniewski, 1985). Este é um resultado da melhor agregação das partículas provocada pela adição de matéria orgânica. Considerando as propriedades químicas, a adição de nutrientes, na forma de compostos orgânicos, geralmente de liberação lenta, permite o melhor aproveitamento pelas plantas. (Carvalho & Barral, 1981).

Substratos à base de composto orgânico têm sido usados no cultivo de várias espécies de plantas ornamentais como substrato alternativo (Lamanna et al., 1991; Fitzpatrick & Verkade, 1991). Os resultados têm sido satisfatórios, tanto na qualidade das plantas obtidas, como no custo do material utilizado (Bragg et al., 1993). A procedência do composto deve ser verificada para certificação de sua qualidade (Ingelmo et al., 1998).

Gadelha et al. (1988) utilizaram lixo urbano fermentado (8,8 a 22% por ha) na cultura do abacaxi [*Ananas comosus* (L.) Merr. cv. Smooth Cayenne] e obtiveram um aumento de 30,6% no peso e de 7,4% no diâmetro do fruto, em relação às parcelas que não receberam adubo orgânico. As proporções, nas misturas dos substratos em vasos e nos solos culturais, devem ser ajustadas, de acordo com os parâmetros físicos e químicos do substrato necessários para cada espécie (Fitzpatrick & Verkade, 1991; Lamanna et al., 1991)

2.6 Fungos micorrízicos

As micorrizas são associações simbióticas que ocorrem, na natureza, entre as raízes da maior parte das plantas terrestres e diversos fungos (Smith & Read, 1997). Muitos botânicos consideram que a migração das plantas aquáticas para os ambientes terrestres, que ocorreu há aproximadamente a 400 milhões de anos, foi possibilitada pelo auxílio dos fungos MA (Remy et al, 1994; Morton, 2001). De forma geral, ambos endo e ectomicorrizas ocorrem em 83% das plantas dicotiledôneas, em 79% das monocotiledôneas, e em todas as Gimnospermas (Marschner, 1995; Wilcox, 1996). Os fungos MA ocorrem na

maior parte das famílias (Newman & Reddell, 1987), isto é, mais de 80% de todas as plantas (Smith & Gianinazzi-Pearson, 1988). Esta porcentagem alta de espécies colonizadas por fungos MA sugerem a importância dos mesmos para as próprias plantas e para os ecossistemas naturais (Le Tacon et al., 1986).

De acordo com a anatomia da infecção (Barker et al., 1998) e a espécie de planta envolvida, existem dois grandes grupos de micorrizas. As ectomicorrizas que são caracterizadas pelos densos micélios localizados ao redor das raízes e pela invasão de hifas intercelulares no córtex das raízes; ocorrem, principalmente, nas raízes das plantas lenhosas (Smith & Read, 1997). As endomicorrizas são formadas pelos fungos que formam redes de hifas externas nos solos e crescem dentro das células do córtex (Wilcox, 1996), ocorrendo na maior parte das plantas. Também existem tipos específicos de endomicorrizas como as das Ericaceae (ericóides) e das Orchidaceae (orquidáceas). Mas o tipo mais amplo é o das micorrizas arbusculares, caracterizado pela formação de arbúsculos no interior das células do córtex da raiz (Smith & Smith, 1997). Dentro deste grupo de fungos, existem alguns gêneros que formam vesículas, que também são estruturas de armazenamento.

Os fungos MA são pertencentes à classe Zigomicetes, ordem Glomales, compostas das famílias Glomaceae, Acaulosporaceae e Gigasporaceae (Morton & Benny, 1990). A taxonomia é baseada nas características fenotípicas de seus esporos assexuais, como cor, tamanho, forma entre outras características morfológicas (Bonfante-Fasolo, 1984). A ordem Glomales é subdividida em duas subordens Glominae (gêneros *Glomus*, *Acaulospora*, *Entrophospora*) e Gigasporineae (gêneros *Gigaspora*, *Scutellospora*), e foram descritas até o momento 154 espécies de fungos MA (Morton, 2001).

2.6.1 Estabelecimento da simbiose raiz-planta

O estabelecimento e o funcionamento do sistema micorrízico são influenciados por fatores de natureza química (disponibilidade de nutrientes e pH), física (umidade, aeração, temperatura e luz), biológica (outros organismos do solo e patógenos de raízes) e outros fatores como pesticidas, manejo do solo (Bethlenfalvay et al., 1982c), cultura e fatores genéticos (Douds et al., 1998). Normalmente, as plantas propagadas em viveiros comerciais têm baixos níveis de colonização por fungos MA (Lovato et al., 1995).

Existem vários registros sobre a viabilidade do uso e efeitos no crescimento de plantas MA jovens em casa de vegetação (Crowley et al., 1981; Grandi & Trufem, 1991), ou em viveiros (Marx et al., 1978). A maior vantagem nesta associação refere-se à melhor adaptação das plantas quando da sua implantação em campo (Aziz et al., 1990; Sieverding, 1991). A sobrevivência das mudas, em locais onde não existam fungos MA no solo, depende muito de uma colonização adequada feita, previamente, em viveiro (Lovato et al., 1992).

Os benefícios da associação micorrízica são manifestados após o estabelecimento do fungo nas raízes e no solo ao seu redor (Koide & Schreiner, 1992; Sanders & Sheikh, 1983). As hifas aumentam a superfície de absorção de nutrientes que são transportados para as raízes (Gianinazzi-Pearson, 1996; Bolan, 1991). As pesquisas têm demonstrado a importância dessas associações no estabelecimento e desenvolvimento de plantas em solos de baixa fertilidade (Oliveira et al., 1999), em áreas degradadas (Santos et al., 2000) e em sistemas agrofloretais (Haselwandter & Bowen, 1996), promovendo o crescimento e a sobrevivência de plantas e a reabilitação dos solos (Graham, 1988). Plantas micropropagadas inoculadas por fungos MA são beneficiadas durante a aclimatação com o aumento das taxas de sobrevivência e de estabelecimento (Estrada-Luna et al., 2000), assim como pela rápida e boa formação do sistema radicular (Schellenbaum et al., 1991). Bananas micropropagadas e inoculadas com *Acaulospora scrobiculata*, *Glomus clarum* Nicol. & Schenck e *Gl. etunicatum* Becker & Gerd. foram avaliadas durante a

fase de aclimação. Após três meses, houve um aumento da altura, área foliar e peso da matéria vegetal seca (Yano-Melo et al., 1999).

Em condições de baixa umidade, as plantas colonizadas por fungos MA são mais tolerantes ao estresse hídrico do que as não colonizadas, recuperando-se mais rapidamente do murchamento e utilizando a água absorvida com maior eficiência (Lopes et al., 1983). Além disso, essas plantas têm uma maior tolerância a condições adversas do solo, como variações de pH e presença de metais pesados (Le Tacon et al., 1986; Guillemin et al., 1997). Essas simbioses também podem controlar o efeito dos micróbios patogênicos presentes no solo por alterações químicas, fisiológicas e morfológicas (Abbott & Robson, 1991) de suas plantas hospedeiras (Guillemin et al., 1994). Variedades de cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum* L.) que são atacadas por um grande número de patógenos, tiveram suas safras aumentadas depois da inoculação de fungos MA (Rawat & Mukerji, 1998). Plântulas micropropagadas de maçã (*Malus pumila* L.) inoculadas com *Gl. mosseae* (Nicol. & Gerd.) Gerd. & Trappe tiveram aumento do seu crescimento, conteúdo de nutrientes e defesa contra patógenos radiculares (Schubert & Lubraco, 2000).

O benefício da planta hospedeira nem sempre é uma resposta simples. Os fungos MA não contribuem da mesma forma para obtenção de nutrientes e crescimento da planta (Abbott & Robson, 1984). A planta pode reduzir ou não alterar seu tamanho (Koide & Schreiner, 1992), dependendo do inóculo utilizado (Chávez & Ferrera-Cerrato, 1990) e a fase da associação simbiótica (Bethlenfalvay et al., 1982b). O grau da infecção micorrízica pode não estar relacionado com o crescimento da planta (Allen, 2001).

2.6.2 Nutrição e fisiologia de plantas micorrizadas

Na maioria dos casos, o aumento no crescimento de plantas micorrizadas tem sido correlacionado com o aumento da assimilação de nutrientes imóveis no solo, especialmente P, Zn e Cu (Smith & Read, 1997). Foram sugeridos alguns mecanismos pelos quais o P é absorvido com maior

eficiência: a exploração de um maior volume de solo, o aumento na velocidade de transporte do P dentro das hifas micorrízicas (Smith & Gianinazzi-Pearson, 1988) e a solubilização do P do solo pela liberação de ácidos orgânicos ou enzimas fosfatase (Bolan, 1991).

Os fungos MA aumentaram o conteúdo de P em soja (*Glycine Max* L. Merr.) (Pacovsky et al., 1986) e em milho (*Zea mays* L.) (Pacovsky, 1989a). Em solos com baixos níveis de P, há um aumento na atividade da fosfatase em abacaxi (*A. comosus* L. Merr.) (Guillemín et al., 1995), cebola (*Alium cepa* L.) (Gianinazzi-Pearson, 1996), milho (Fries, 1995) e feijão (*Vigna unguiculata* L.) (Thiagarajan & Ahmad, 1994).

A infecção MA na raiz é reduzida, tanto no aumento do conteúdo de P no solo (Siqueira, 1994; Nogueira, 1997), quanto em baixa disponibilidade de P no solo, afetando, assim, o crescimento da planta (Koide & Li, 1990). A frequência de aplicação e o nível ou forma de P no solo, além de outros fatores como calagem, idade da planta, variações ambientais e clima, podem influenciar a colonização (Amijee et al., 1989; Abbott & Gazey, 1994).

Nas raízes micorrizadas, uma proporção substancial dos carboidratos das plantas é necessária para o crescimento e manutenção dos fungos MA (Harris et al., 1985). Cerca de 10% a 20% do C total assimilado pelas plantas são transferidos ao fungo (Jacobsen & Rosendahl, 1990). Assim, em compensação pelo dreno do C, geralmente há um aumento na atividade fotossintética após a colonização MA (Sylvia, 1999). O desenvolvimento de milho em solo contendo esporos de *Gl. fasciculatum* Gerd. & Trappe (Walker & Koske) foi maior com um incremento na atividade fotossintética e peso da matéria vegetal seca comparado com plantas sem fungos MA (Aguilera-Gómez et al., 1998).

2.6.3 Avaliação da interação fungo-planta

O primeiro local de desenvolvimento do fungo MA é a região cortical terminal das raízes que é também por onde os nutrientes são principalmente assimilados (Bonfante-Fasolo, 1984). A colonização por fungos MA é um processo dinâmico, sem danos ao sistema vascular da planta (Wilcox, 1996). A quantificação da intensidade da colonização de plantas é a avaliação mais utilizada nos experimentos com fungos MA (Bååth & Hayman, 1984; Monticelli et al., 2000), apesar de questionada sua validade como fator demonstrativo dos benefícios resultantes desta simbiose (Allen, 2001). Os benefícios da interação micorrízica podem ser quantificados através de medidas do crescimento e nutrição da planta hospedeira (Smith & Read, 1997), aumento da matéria vegetal e morfologia do sistema radicular (Schellenbaun et al., 1991) que são utilizados em cálculos e modelos matemáticos (Gange & Ayres, 1999), que, por sua vez, permitem uma avaliação dos benefícios desta simbiose (Allen, 2001).

Dependendo do propósito do estudo específico, é necessário enumerar estruturas morfológicas fúngicas presentes no sistema radicular (Giovanetti & Mosse, 1980). Para um maior entendimento do funcionamento desta simbiose, os processos fisiológicos (Pacovsky, 1989b) e bioquímicos (Fries et al., 1995; 1998) que ocorrem entre a planta e o fungo, assim como os diferentes fatores ambientais, devem ser muito bem estudados (Smith & Gianinazzi-Pearson, 1988).

2.6.4 Ecologia e biodiversidade de fungos MA

Os fungos MA estão presentes em quase todos os solos sob florestas, e podem estar ausentes em alguns solos desérticos (Bethlenfalvay et al., 1984; Allen, 1991) ou em pastagens, em áreas degradadas (Santos et al., 2000), onde as espécies vegetais predominantes são plantas pioneiras desprovidas destes tipos de fungos (Ruehle & Marx, 1979).

Nos Estados Unidos, foram feitas várias tentativas sem sucesso de recuperação de áreas degradadas com mudas sem micorriza (Marx et al., 1978). Depois da introdução de mudas MA, o reflorestamento aconteceu rapidamente (Allen & Allen, 1992). A compatibilidade micorrízica é de importância fundamental (Whittingham & Read, 1982), não somente para a sobrevivência dos indivíduos colonizados, mas como um fator que determina a composição de espécies de toda a comunidade (Francis et al., 1986).

As vantagens ecofisiológicas produzidas nas plantas MA estão relacionadas ao uso da água, pois há um maior desempenho destas mudas nos locais secos (Stutz & Morton, 1996), salinos, com luminosidade não adequada ou extremamente quentes (Bethlenfalvay & Pacovsky, 1983). Os fungos MA mostram grande variabilidade fisiológica, tanto em uma mesma espécie como entre espécies (Morton & Bentivenga, 1994). Algumas espécies são mais adaptadas ecologicamente a certos locais do que outras (Allen et al., 1993). A colonização é reduzida durante períodos secos e é estimulada durante a época chuvosa (Trufem & Malatinszky, 1995).

A colonização das raízes por fungos MA, sob condições naturais no campo variam amplamente, mas a maioria das famílias freqüentemente tem uma colonização de 20 a 70% (Allen, 1991). Algumas espécies têm sistemas radiculares deficientes (citrus, café, uva, pinheiro) e têm uma alta dependência de fungos MA (Mosse et al., 1981) sob condições naturais (baixa fertilidade). O solo sob estas plantas se apresentará com um alto número de esporos pela alta colonização radicular e esporulação com hospedeiros altamente dependentes (Harley & Smith, 1983). Outras espécies de plantas (como Cruciferae e Brassicaceae) têm sistemas radiculares altamente eficientes e são capazes de prevenir a infecção por fungos MA (Gianinazzi-Pearson & Gianinazzi, 1983). Na área de ocorrência destas plantas, o número de esporos é bem baixo pois, não há colonização e nem propagação de fungos MA (Koide & Schreiner, 1992).

Como é bem documentado na agricultura (Gianinazzi et al., 1990), o nível de P no substrato é um determinante primário da colonização fúngica (Amijee et al., 1989). Sob condições altas de P, as plantas que normalmente mostram uma alta dependência por fungos micorrízicos, podem mostrar uma colonização de 2 ou 15% e, com fertilização contínua e numa monocultura, os fungos MA podem ser eliminados de muitos solos (Wilcox, 1996).

2.6.5 Especificidade hospedeiro-fungo

Na natureza, há preferências de hospedeiros por um ou mais tipos de fungo MA, também ocorrendo o contrário (Abbott & Robson, 1991). Embora esta seleção seja lenta, e em alguns casos, indireta, há um aumento geral dos esporos pelos fungos MA que são mais eficientes com uma determinada espécie de planta (Schwab et al., 1991). Um fungo pode estar restrito a um hospedeiro que pode aceitar muitos outros fungos, por outro lado, uma única espécie de fungo pode ter muitos hospedeiros alternativos (Mosse et al., 1981). Estes fatores podem selecionar uma espécie de fungo MA, diminuindo a competição por locais de infecção na superfície da raiz (Allen, 1992).

2.6.6 Fungos endomicorrízicos em Bromeliaceae

a) Cultivo

Os estudos sobre a aplicação de inóculos MA em cultivos por sementes ou *in vitro* (Noval et al., 1995; Matos & Silva, 1996) de bromélias foram realizados, apenas, em abacaxi (Guillemin et al., 1991; 1992; 1997; Siqueira, 1994; Jaizme-Vega & Azcon, 1995; Siqueira et al., 1996). O uso dos fungos MA é uma biotecnologia interessante na produção de abacaxis micropropagados. A inoculação de plântulas propagadas *in vitro* é importante, principalmente na fase de aclimatação, quando levadas para casa de vegetação ou campo (Chávez & Ferrera-Cerrato, 1990; Monticelli et al., 2000). No entanto, não há referências na literatura sobre as respostas de bromélias de ambientes naturais a estes fungos.

Para a obtenção de benefício máximo das inoculações micorrízicas, as plantas deverão ser inoculadas com os fungos MA que sejam adequados ao hospedeiro (Bethlenfalvay et al., 1982a). Estudos mostraram que o abacaxi é muito dependente de fungos MA para a obtenção de P (Fox et al., 1990). A inoculação com *Gl. fasciculatum* aumentou a taxa de sobrevivência, crescimento e nutrição em plântulas de *A. comosus* (Jaizme-Vega & Azcon, 1991; 1995). As características gerais de crescimento vegetativo e absorção de nutrientes no abacaxizeiro não foram influenciadas pela inoculação de *Gl. etunicatum* (Siqueira, 1994). O efeito dos fungos *Gl. clarum*, *G. margarita* Becker & Hall e *Acaulospora* sp, no desenvolvimento de plantas micropropagadas durante a fase de aclimação (Matos & Silva, 1996) foi testado, mas não houve diferenças entre os tratamentos. No entanto, quando foram transplantadas para o campo, foi notável a diferença no crescimento das plantas MA que haviam sido inoculadas com os diferentes fungos.

Variedades comerciais de abacaxi micropropagadas foram testadas tanto no efeito do crescimento quanto no desenvolvimento da colonização de fungos MA. O crescimento das plantas MA foi superior ao das não micorrizadas. No entanto, o desenvolvimento da colonização foi inverso ao crescimento destas plantas (Guillemin et al., 1992) mostrando que altos níveis de colonização podem diminuir o crescimento do hospedeiro. O crescimento e desenvolvimento de abacaxi inoculado com *Gl. clarum*; foram maiores do que outras associações, e estas plantas tiveram maior porcentagem de colonização durante a fase de aclimação (Noval et al, 1995). O efeito de fungos MA inoculados em abacaxi foi de maior crescimento e teor de minerais nos brotos, além de maior tolerância a patógenos. No entanto, o crescimento das raízes colonizadas foi negativo, sugerindo que houve uma maior eficiência das raízes nas plantas MA (Guillemin et al., 1997).

b) Ambientes naturais

São relativamente raros os estudos sobre a presença de fungos MA com bromélias epífitas (Benzing, 1990; Allen et al., 1993; Rabatin et al., 1993; Santos et al., 2000) ou áreas tropicais (Trufem & Viriato, 1990). Em alguns inventários, as Bromeliaceae epífitas são as plantas que quase não contêm infecção micorrízica em suas raízes (Benzing, 1996). Pittendrigh (1948) relatou a ocorrência de associações micorrízicas em *Bromelia humilis* Jacq., *B. karatas* L., *B. chrysantha* Jacq. e *A. comosus* em raízes interfoliares. No entanto, as três últimas apresentam um grande número de raízes que penetram no solo, sugerindo que não seriam dependentes deste sistema de raízes interfoliares (Pittendrigh, 1948).

Trufem (1990) não encontrou esporos nas amostras de solo da rizosfera de *Quesnelia arvensis* (Vell.) Mez, bromélia de ocorrência na Ilha do Cardoso, SP, Brasil. No entanto, na mesma área de coleta, foram verificadas 35 espécies de fungo MA nas amostras de solo da rizosfera de outras espécies de plantas. Duas espécies de fungos MA, *A. foveata* Trappe & Janos e *A. scrobiculata* Trappe, foram encontradas na rizosferas da bromélia hospedeira, *Nidularium rubens* Mez, na Reserva Biológica do Alto da Serra de Paranapiacaba, São Paulo (Trufem & Viriato, 1990; Trufem & Malatinszky, 1995). No cerradão brasileiro foi isolada *S. scutata* Walker & Diederichs na rizosfera de uma espécie de abacaxi silvestre (Walker & Diederichs, 1989).

Um estudo no rio Palenque, norte do Equador, revelou a presença de fungos MA em raízes de epífitas. No entanto, as taxas de colonização nas raízes mais finas eram inferiores a 50% e, nas famílias Araceae, Bromeliaceae, e Marcgraviaceae a presença de fungos MA foi mínima (Benzing, 1990). Allen et al. (1993) observaram raízes de bromélias epífitas nativas de uma floresta tropical do México. Três espécies de *Tillandsia*, o gênero mais "atmosférico" de bromélias que raramente produzem raízes finas, não apresentaram colonização MA, embora todas as outras espécies vegetais terrestres examinadas apresentavam-se bastante colonização. Entretanto, eles não descartaram a

hipótese da ocorrência de simbiose entre as epífitas e outros fungos (Allen et al., 1993).

Rabatin et al. (1993) verificaram a presença de fungos MA em bromélias epífitas (*Guzmania* sp., *V. platynema* Gaud. e *A. lasserii* L.B. Smith) de três localidades diferentes quanto a altitude e em regime de umidade, na Venezuela. Os fungos MA encontrados nos locais mais úmidos foram *Gigaspora* e *Scutellospora* spp. e, *Gl. tenue* foi o mais abundante nos locais mais secos e deficientes em P. No entanto, a composição de fungos MA encontrada nos substratos das plantas epífitas foi diferente das amostras coletadas no solo, logo abaixo das mesmas, sugerindo que houve uma dispersão da espécie do fungo MA associada com as bromélias, por vetores animais (Rabatin et al., 1993).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Biodiversidade

3.1.1 Áreas de estudo

As bromélias epífitas e terrestres, e os solos associados foram coletados em duas diferentes Unidades de Conservação do Estado de São Paulo: 1) Parque Estadual de Campos do Jordão (PECJ), e 2) Parque Estadual da Serra do Mar (PESM) – Núcleo Santa Virgínia (NSV) e Núcleo Caraguatatuba (NC). Dentro de cada Parque e Núcleos, foram selecionados locais para coleta, baseado na composição de bromélias epífitas e terrestres (Brower & Zar, 1984).

1) Parque Estadual de Campos do Jordão (PECJ):

Município de Campos do Jordão, localizado no Vale do Paraíba - São Paulo, engloba uma área de 8.385,89 ha, em plena Serra da Mantiqueira, entre as coordenadas geográficas 22°37' a 22°45' Lat. S e 45°23' a 45°31' Long. W. Situado em altitudes que variam de 1.030 m a 2.007 m, apresenta clima subtropical de altitude, mesotérmico e úmido, sem estiagem, e solos dos tipos latossolo vermelho-amarelo, podzólico vermelho-amarelo, latossólico e litossolos (EMBRAPA, 1999). Apresenta Mata de Araucária-Podocarpus; Floresta latifoliada tropical úmida de encosta, que faz parte das florestas costeiras do Brasil; e os campos do Brasil meridional (Andrade et al., 1992).

2) *Parque Estadual da Serra do Mar (PESM)*:

a) Núcleo Santa Virgínia (NSV) é parte integrante do Parque Estadual da Serra do Mar com uma área aproximada de 4.894,20 ha, nos municípios de São Luiz do Paraitinga (4.086,20 ha), Ubatuba (420 ha) e Cunha (338 ha). Sua sede localiza-se nas coordenadas 23°24' a 23°17' de Lat. S e 45° 03' a 45° 11' Long. W. Seu relevo é fortemente escarpado com vales encaixados e vertentes retilíneas com altitudes que variam entre 860 e 1.500 metros. Sua vegetação é caracterizada por Floresta Ombrófila Densa Montana e manchas descontínuas de floresta em vias de regeneração. O núcleo está inserido na bacia hidrográfica do rio Paraibuna que ao juntar-se com o rio Paraitinga, forma o rio Paraíba do Sul e, ainda, em pequena porção, na bacia do rio Itamambuca que drena em direção ao litoral. O clima é meio tropical úmido e sub-úmido. (Brasil, 1998).

b) Núcleo Caraguatatuba (NC) possui uma área de 13.769,69 ha. Está localizado nas coordenadas geográficas 22°32' a 23°42' Lat. S e 45°20' a 45°44' Long. W, Serra do Mar, Litoral Norte. Os ecossistemas encontrados no Parque são de Mata Atlântica (Floresta Tropical Pluvial) e *Pinus* (Instituto Florestal, 2001).

3.1.2 Áreas de coleta

As coletas do PESH foram divididas em 5 áreas:

a) NSV: **Área 1**: Cachoeira da Andorinha, no Rio Paraibuna (NSV); **Área 2**: Confluência no Rio Paraibuna e Rio Ipiranga; **Área 3**: Cachoeira Salto Grande; **Área 4**: Cachoeira do Saltinho.

b) NC: **Área 5**: Riacho de Manteiga.

A composição florística de todas as áreas é de Mata Ombrófila Densa, com abundância de bromélias epífitas e terrestres com, no mínimo, 7 espécies de bromélias por área.

3.1.3 Coleta de solo no campo

No PESM, NSV e NC, foram selecionadas as espécies de bromélias representadas por um número maior de indivíduos, e que também estavam bem separadas das plantas adjacentes. As epífitas estavam localizadas ao menos a 1 m acima do solo e, a maioria das plantas coletadas estavam localizadas nas árvores em alturas cerca de 2 a 3 m acima do solo. Geralmente, as bromélias epífitas selecionadas estavam fixadas em substrato orgânico, parcialmente decomposto ou próximas a locais contendo tais substratos, e as plantas estavam enraizadas nestes meios. As bromélias terrestres foram coletadas nos mesmos locais, freqüentemente abaixo das mesmas árvores onde foram coletadas as plantas epífitas.

Foram deixadas as raízes de cada planta atadas nas respectivas coroas, onde foram separadas cuidadosamente do solo e acondicionadas em sacos plásticos rotulados. Cada planta recebeu um número com a referência do local, dia e hora de coleta, e uma identificação preliminar do gênero da planta. Estes sacos foram organizados e transportados em caixas de papelão para evitar danos nas plantas.

No PESM (NSV e NC) e no PECJ, as amostras de solo (25 e 100g) de floresta nativa, dos locais sem a presença de bromélias terrestres, foram coletadas a uma profundidade de 25 cm (Lemos & Santos, 1996). Estes foram colocados em sacos separados, e deixados à temperatura ambiente até chegarem no laboratório onde foram estocados em câmara fria a 4 °C, até o momento das análises. O solo do PECJ foi previamente analisado e os esporos identificados (Tabela 1), pelo Dr. Raymond Stanley Pacovsky, Departamento de Solos e Nutrição de Plantas, ESALQ/USP e pela Dra. Sandra Gomes da Costa, Universidade Estadual de Maringá, Paraná. Uma amostra de solo com uma mistura de fungos MA foi fornecida para a utilização na segunda etapa de experimentos (Ecofisiologia, ver 3.2.5), além de uma lista contendo as espécies mais abundantes encontradas nas amostras de solo do PECJ.

Tabela 1. Espécies de fungos MA presentes e sua frequência em uma população do solo do Parque Estadual de Campos do Jordão (mistura de fungos MA) usadas como inóculo no experimento 2 da casa de vegetação (Ecofisiologia).

ESPÉCIE FUNGO MA	ABUNDÂNCIA (%)	ESPOROS / 100 g *
1. <i>Acaulospora laevis</i> Gerd. & Trappe	18	108 ± 31
2. <i>Glomus etunicatum</i> Walker & Trappe	29	170 ± 40
3. <i>Gigaspora margarita</i> Becker & Hall	15	85 ± 28
4. <i>Glomus macrocarpum</i> Tul. & Tul.	8	49 ± 14
5. <i>Glomus pansihalos</i> Berch & Koske	13	72 ± 25
6. <i>Scutellospora pellucida</i> (Nicol. & Schenck) Walker & Sanders	11	63 ± 27
Não identificados	6	37 ± 12

*Médias e desvios padrões (3 repetições).

3.1.4 Reprodução dos fungos MA em casa de vegetação

Experimento de Reprodução (Exp. R): Em casa de vegetação do Departamento de Solos e Nutrição de Plantas da ESALQ, USP, as raízes das plantas foram lavadas para retirada dos últimos fragmentos de solo e possíveis esporos associados. As bromélias foram transplantadas em vasos contendo solo (Tabelas 2 e 3) autoclavado (120°C, 3 hr), de forma que as raízes ficassem todas recobertas e houvesse a reprodução dos fungos MA, possibilitando sua identificação (Stutz & Morton, 1996). O substrato utilizado foi proveniente de uma amostra de Neossolo quartzarênico (EMBRAPA, 1999), série Paredão Vermelho (Camargo et al., 1987), areia e composto orgânico (1:2:1). O período entre a coleta e o transplante nunca excedeu 3 dias, e as plantas permaneceram por 10 meses em casa de vegetação. A temperatura da casa de vegetação (dia/noite), variou entre 31/18°C, a umidade relativa do ar, foi de 75/95% e, durante o dia, a radiação fotossinteticamente ativa (PAR) foi entre 350 a 1400 $\mu\text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$.

Tabela 2. Características químicas dos substratos utilizados nos experimentos de casa de vegetação: *Exp. R*: reprodução (biodiversidade) de fungos MA; *Exp. 1*: Ecofisiologia (areia:composto orgânico, 1:1); *Exp. 2*: Ecofisiologia (casca *Pinus*:areia:composto orgânico, 2:1:1)

Substrato	pH*	M.O.*	<u>N</u>	<u>P</u>	<u>S</u>	<u>K</u>	<u>Ca</u>	<u>Mg</u>	<u>Al</u>	C/N*
	CaCl ₂	g/dm ³	mg / dm ³			mmol _c / dm ³				
Exp. R	5,1	14	8	4,0	10,8	0,4	5	3,0	10	14/1
Exp. 1	6,9	86	21	3,0	2,0	0,9	14	3,5	7	23/1
Exp. 2	6,8	107	14	3,3	4,0	1,0	13	5,1	3	43/1
micronutrientes (mg/kg)										
Substrato	Na	B	Fe	Mn	Zn	Cu				
Exp. R	420	1,2	580	68,5	5,7	3,4				
Exp. 1	456	6,0	9630	170	35	15				
Exp. 2	397	7,3	12.900	190	32	25				

* pH em CaCl₂ 0,01 M; M.O. = matéria orgânica; C/N = relação C/N (C total e N total).

Tabela 3. Características físicas dos substratos utilizados nos experimentos da casa de vegetação: *Exp. R*: reprodução (Biodiversidade) de fungos MA; *Exp. 1*: Ecofisiologia (areia:composto orgânico, 1:1); *Exp. 2*: Ecofisiologia (casca *Pinus* :areia:composto orgânico, 2:1:1)

Substrato	Densi.*	Umi.*	<u>A r e i a (%)</u> *						Silte*	<u>Argila (%)</u> *		Poros.
			MG	G	M	F	MF	Total		%	Total	
Exp. R	1,70	1,41	14	21	23	16	5	69	12	19	11	0,52
Exp. 1	1,49	2,16	8	14	34	28	2	88	4	10	4	0,44
Exp. 2	0,99	2,73	10	17	31	21	2	81	7	12	6	0,70

*Densi. = densidade; Umi. = umidade total; MG = areia muito grossa (2 a 1 mm); G = grossa (1 a 0,5 mm); M = média (0,5 a 0,25 mm); F = fina (0,25 a 0,10 mm); MF = muito fina (0,10 a 0,05 mm); Total = total areia = 2,0 a 0,05 mm; Silte = 50 µm a 2,0 µm; argila total = cerca 2,0 µm; argila H₂O < 2,0 µm; Poros. = porosidade calculada em 1 cm³ total.

Após 4 meses de cultivo na casa de vegetação, do Departamento de Solos e Nutrição de Plantas da ESALQ, USP, foram coletadas amostras de raízes de 20 plantas (12 epífitas e 8 terrestres), as quais foram avaliadas, quanto à presença ou ausência de colonização nas raízes por fungos MA. Foram selecionadas as bromélias que estavam colonizadas, todas as terrestres (100%) e 5 epífitas (41%). As plantas escolhidas foram cultivadas por mais 6 meses na mesma casa de vegetação, para haver a esporulação dos fungos MA e assim, determinar a identidade dos esporos MA multiplicados e a porcentagem de colonização das raízes das bromélias por estruturas fúngicas, como arbúsculos, vesículas e hifas (Giovannetti & Mosse, 1980).

3.1.5 Amostragem de solo e raiz

As plantas selecionadas (5 epífitas e 3 terrestres) foram colhidas e 200 g de substrato do vaso foram coletados. Fragmentos das raízes foram separados da mesma porção de substrato, coloridos (Koske & Gemma, 1989) e quantificados para determinar a porcentagem de colonização de fungos MA (Kormanik & McGraw, 1984).

Os esporos de amostras de solo (25g) coletadas em floresta nativa (Lemos & Santos, 1996), sem a presença de bromélias terrestres ou o solo dos vasos da casa de vegetação (100g) foram separados por peneiramento úmido (Gerdemann & Nicolson, 1963) e centrifugação em sacarose (Jenkins, 1964). A quantificação dos esporos foi feita sob estereomicroscópio, em placas-de-petri caneladas. Foram analisadas três das amostras de solo (25g) de cada área. A densidade de esporos presentes nas amostras de campo foi expressada em duas categorias, segundo seu diâmetro, esporos $>150\mu\text{m}$ e $>53\mu\text{m}$. O número total de esporos encontrado foi calculado por 100g de solo seco. No caso do solo dos vasos da casa de vegetação (100g), foi usada somente uma peneira ($>53\mu\text{m}$), não havendo necessidade de expressar os resultados em categorias.

A montagem em lâminas foi feita sob estereomicroscópio e com auxílio de pipeta pasteur. Os esporos foram separados em grupos, a partir de

semelhanças morfológicas, e preparados em lâminas semi-permanentes, onde foram incluídos em resina de álcool polivinílico e glicerol (Morton et al., 1993).

3.1.6 Identificação dos fungos MA

A classificação dos esporos dos fungos MA foi feita baseada no tamanho, cor e morfologia (Morton et al., 1993). A identificação das espécies foi realizada com o auxílio do manual de Schenck & Pérez (1988), chaves de identificação Trufem (1988), descrições fornecidas pelo banco de dados do INVAM e trabalhos relacionados, em colaboração com o Dr. Raymond Stanley Pacovsky, Departamento de Solos e Nutrição de Plantas da ESALQ, USP e Dra. Sandra Gomes da Costa, Universidade Estadual de Maringá, Paraná. As espécies encontradas em cada bromélia foram separadas por categorias >10% (abundante), *cerca* 5% (presente) e <1% (raro) de acordo com a abundância de esporos encontrada (Sudgen & Robins, 1979; Santos & Vinha, 1982).

3.1.7 Coleta e identificação das bromélias

A coleção do material botânico foi feita por exsicatas das plantas com flores e a coleta de flores em solução alcoólica 70% com algumas gotas de glicerina. No caso das espécies sem flores, foram retiradas mudas adultas para espera de floração em casa de vegetação. Algumas exsicatas foram produzidas a partir da coleção de plantas vivas coletadas no PESM (NSV e NC) e cultivadas no viveiro do Departamento de Ciências Florestais da ESALQ, USP. Todas as plantas com flores foram fotografadas para ajudar na identificação e registro.

As identificações das bromélias foram feitas pela autora dessa dissertação, Beatriz Cristina de Matteo, com o auxílio de chaves de identificação (Smith & Downs, 1974; 1977; 1979), monografias, visitas a Herbários, trabalhos publicados com novas descrições e revisões taxonômicas. As exsicatas das plantas ficarão depositadas nos herbários do Departamento de Botânica da ESALQ, USP e do Instituto Florestal de São Paulo.

3.2 Ecofisiologia

3.2.1 Delineamento Experimental: Os experimentos sobre o efeito de diferentes fungos MA no crescimento de *A. nudicaulis* montados em casa de vegetação, foram feitos em duas etapas.

1) *Experimento 1:* (areia:composto orgânico) um ensaio inteiramente casualizado, com 6 tratamentos (controle, 5 espécies fungos MA puros), com 8 repetições para cada tratamento (48 plântulas). Foram utilizadas plântulas provenientes de *A. nudicaulis*, em um substrato (areia fina:composto orgânico, 1:1, Tabelas 2,3), que foram analisados depois de seis meses (dezembro a junho).

2) *Experimento 2:* (casca de *Pinus*:areia:composto orgânico) um ensaio inteiramente casualizado, com 6 tratamentos (controle, 4 espécies de fungos MA puros e 1 mistura de fungos MA), com 7 repetições para cada tratamento (42 plântulas). Foram utilizadas plântulas propagadas por sementes *in vitro* provenientes de *A. nudicaulis*, em um substrato (casca de *Pinus*:areia fina:composto orgânico, 2:1:1, Tabelas 2,3), que foram analisados depois de 6 meses (maio a novembro).

3.2.2 Material biológico

Foram utilizadas plântulas de *A. nudicaulis* L. Griseb cultivadas por sementes *in vitro* em meio de cultura Murashige e Skoog (1962), no Laboratório de Fisiologia das Árvores, do Departamento de Ciências Florestais da ESALQ, USP. Foram usados no experimento 1 os fungos MA: *G. margarita*, *Gl. intraradices*, *Gl. etunicatum*, *S. pellucida* e *E. colombiana*. Foram usados no experimento 2 os fungos MA: *E. colombiana*, *S. heterogama*, *A. scrobiculata* e *Gl. clarum* (descritores das espécies na Tabela 4) e uma mistura dos fungos MA do PECJ (Tabela 1). Os esporos de fungos MA puros foram previamente identificados, isolados, purificados e multiplicados no Departamento de Solos e Nutrição de Plantas da ESALQ, USP.

3.2.3 Área de coleta e germinação das sementes

Área de coleta: As sementes de *A. nudicaulis* foram coletadas na Floresta de Caixeta (*Tabebuia cassinoides* Lam. - Bignoniaceae), Floresta Latifoliada Higrófila, na Floresta Pluvial Tropical Atlântica, na região do Vale do Ribeira, Iguape, SP, com abundância de epífitas nas copas das árvores (Marquesini, 1994). Os frutos de *A. nudicaulis* foram coletados de matrizes crescendo naturalmente sobre as árvores do Caixetal, pelo Projeto Caixeta do Departamento de Ciências Florestais da ESALQ, USP.

Germinação: As sementes foram lavadas em água contendo algumas gotas de detergente (Tween 80) para remoção da mucilagem. Em seguida foram transferidas para solução de hipoclorito de sódio (1% Cl ativo) a 10% por 20 minutos. Após a desinfestação, as sementes foram secas à sombra e acondicionadas em recipientes contendo sílica gel e estocadas a 6°C (Menescal, 1994) até a instalação dos experimentos.

Para a germinação em meio de cultura, as sementes permaneceram por 10 minutos em solução de HCl (25%), 5 minutos em solução etílica (70%), em seguida 15 minutos em solução de hipoclorito de sódio (30%), com 2 gotas de Tween 80 para cada 100 mL de solução e, finalmente, lavadas por três vezes em água destilada autoclavada.

Após a desinfestação, as sementes foram transferidas para os frascos contendo 40 mL de meio de cultura de Murashige e Skoog (1962) (meio MS) composto por 50% da concentração dos macronutrientes. Permaneceram em sala de crescimento a $93 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ de radiação fotossinteticamente ativa (PAR), e temperatura média de $25 \pm 3^\circ\text{C}$, sob fotoperíodo de 16/8 horas (luz/escuro), sendo o período de iluminação das 2:00 às 18:00 h. O período de germinação e crescimento das plântulas até a instalação do primeiro experimento, foi de 15 semanas.

3.2.4 Substrato

O método de compostagem utilizado pela empresa fornecedora (“Bioland”) foi o “Sistema americano de compostagem de Pilhas Estáticas com aeração forçada” e constitui-se na transformação de uma mistura equilibrada de materiais (Fitzpatrick & Verkade, 1991), contendo altas concentrações de N, Na e Ca como os lodos e resíduos de indústrias de alimentos, com outros de altas concentrações de C, como cavacos de madeira, bagaço de cana, casca e podas de árvores. O controle de qualidade do composto orgânico da “Bioland” é feito mensalmente pela ESALQ – USP.

3.2.5 Inoculação

Nos experimentos 1 e 2, os diferentes substratos (Tabelas 2 e 3) foram previamente esterilizados em autoclave (120°C, 3 hr) para matar os esporos endomicorrízicos nativos (Bethlenfalvay et al., 1982b). O volume por vaso foi de 1.250 cm³. O inóculo foi adicionado a cada substrato 25 cm³ (30 g) de solo, contendo, aproximadamente, 200 esporos de uma espécie de fungo MA pura. No experimento 2, em adição, foi usado um inóculo com uma mistura de fungos MA (Tabela 1) do solo de mata nativa do PECJ com, aproximadamente, 150 esporos em 30g.

3.2.6 Casa de vegetação

No experimento 1, os vasos foram mantidos em casa de vegetação no Departamento de Solos e Nutrição de Plantas da ESALQ, USP e no experimento 2, em casa de vegetação no Departamento de Ciências Florestais da ESALQ, USP. A cada dois meses, foi adicionado, em cada vaso, 50 ml de solução nutritiva de Hoagland & Arnon (1950), com omissão de P. As condições ambientais da casa de vegetação são as mesmas citadas anteriormente (item 3.1.4).

3.2.7 Colheita e determinação do crescimento de plantas

As plântulas foram separadas cuidadosamente do substrato e lavadas. Os brotos foram separados das raízes nas coroas, pesados separadamente e determinados os valores de peso da matéria vegetal fresca. Depois foram mantidos em estufa em 60°C até atingirem o peso constante (cerca de 48 horas), para determinações do peso da matéria vegetal seca. As raízes foram utilizadas para análises de colonização por fungos (Phillips & Hayman, 1970).

As diferenças em crescimento (DC) e as diferenças em assimilação de P (DC P) das plantas foram calculadas (1) segundo Gange e Ayres (1999) para determinar um possível benefício no uso do inóculo.

$$DC = \frac{(MYC - CON)}{CON} 100 \% \quad (1)$$

DC = diferenças em crescimento;

MYC= planta com micorriza;

CON= controle, planta sem micorriza

3.2.8 Colonização por fungos MA

As amostras de raízes passaram por clareamento e coloração pela técnica proposta por Koske & Gemma (1989). A avaliação da porcentagem de comprimento de raízes colonizadas por fungos MA foi feita pelo método de interseção de quadrantes (Giovanneti & Mosse, 1980). A avaliação foi efetuada observando a presença ou ausência de estruturas fúngicas características (hifas, vesículas, e/ou arbúsculos) (Giovanneti & Mosse, 1980).

3.2.9 Análises de nutrientes e caracterização dos substratos

Os teores de nutrientes (Sarruge & Haag, 1974) das plântulas e as características químicas (Malavolta et al. 1989) e físicas (Raj & Quaggio, 1983; Barber, 1984) das amostras dos substratos utilizados nos experimentos 1 e 2,

foram analisados no Departamento de Solos e Nutrição de Plantas da ESALQ, USP (Tabelas 2 e 3). Em adição, foi estimada a porosidade (Miyazaki, 1993) do substrato.

3.2.10 Métodos estatísticos:

Foi utilizada a análise de variância (ANOVA) total e o teste Tukey ($p < 0.05$) para características das plantas do campo, colonização, número de esporos e biodiversidade (Pimentel-Gomes, 2000). Para as características das plantas dos experimentos de ecofisiologia, incluindo colonização, foi usado o teste de amplitude total de Duncan ($p < 0.05$). Também foi utilizado o teste das Diferenças Mínimas Significantes DMS, ($p < 0,05$) para os nutrientes (Steel & Torrie, 1980). Foram feitas análises de regressão linear para avaliar as relações entre colonização, peso seco total, concentração de P.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Biodiversidade

4.1.1 Levantamento das espécies de fungos MA

A maior parte das raízes das bromélias apresentaram pelo menos 10 espécies de fungos MA (Figura 1), com alguns esporos não identificados. Os levantamentos preliminares dos fungos em algumas bromélias do PESM (NSV e NC) revelaram que todos os gêneros de fungos MA foram encontrados, tanto em raízes de bromélias epífitas, como nas terrestres. *Glomus* foi o gênero mais encontrado, enquanto *Entrophospora* foi o gênero menos comumente encontrado.

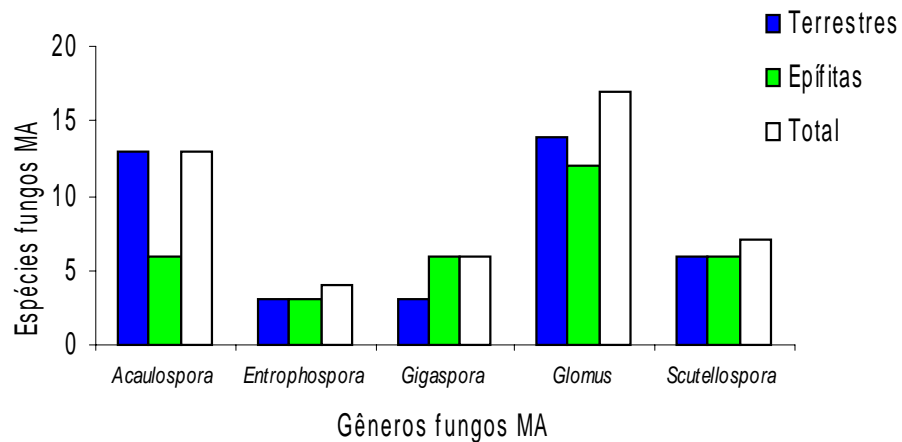


Figura 1 - Biodiversidade de fungos MA nos gêneros encontrados em bromélias epífitas e terrestres no Parque Estadual da Serra do Mar (NSV e NC).

Nas raízes das bromélias, foram identificados 47 táxons (Tabela 4), 36 ao nível de espécie e 11 ao nível de gênero, à saber *Acaulospora* (11), *Entrophospora* (2), *Glomus* (15), *Gigaspora* (4), *Scutellospora* (4), cada gênero com 2 espécies não identificadas, exceto em *Entrophospora*, com 3 espécies.

Tabela 4. Espécies de fungos MA em raízes das bromélias epífitas e terrestres coletadas no Parque Estadual da Serra do Mar (NSV e NC).

CÓDIGO	ESPÉCIE DE FUNGO MA	Bromélia Epífita	Bromélia Terrestre
1	<i>Acaulospora appendiculata</i> Spain, Sieverding & Schenck	X	
2	<i>Acaulospora foveata</i> Trappe & Janos	X	X
3	<i>Acaulospora gerdemannii</i> Rose, Daniels & Trappe	X	
4	<i>Acaulospora laevis</i> Gerd. & Trappe	X	X
5	<i>Acaulospora longula</i> Spain & Schenck	X	
6	<i>Acaulospora mellea</i> Spain & Schenck	X	X
7	<i>Acaulospora morrowiae</i> Spain & Schenck	X	X
8	<i>Acaulospora myriocarpa</i> Spain, Sieverding & Schenck	X	X
9	<i>Acaulospora scrobiculata</i> Trappe	X	X
10	<i>Acaulospora spinosa</i> Walker & Trappe	X	X
11	<i>Acaulospora trappei</i> Ames & Linderman	X	
12	<i>Acaulospora</i> sp.1	X	X
13	<i>Acaulospora</i> sp.2	X	X
14	<i>Entrophospora colombiana</i> Spain & Schenck	X	X
15	<i>Entrophospora infrequens</i> (Hall) Ames & Schneider	X	X
16	<i>Entrophospora</i> sp.1		X
17	<i>Entrophospora</i> sp.2	X	
18	<i>Gigaspora decipiens</i> Hall & Abbott	X	X
19	<i>Gigaspora gigantea</i> (Nicol. & Gerd.) Gerd. & Trappe	X	X
20	<i>Gigaspora margarita</i> Becker & Hall	X	
21	<i>Gigaspora rosea</i> Nicol. & Schenck	X	X
22	<i>Gigaspora</i> sp.1	X	
23	<i>Gigaspora</i> sp.2	X	

Tabela 4. Espécies de fungos MA em raízes das bromélias epífitas e terrestres coletadas no Parque Estadual da Serra do Mar (NSV e NC)

CÓDIGO	ESPÉCIES DE FUNGO MA	Bromélia Epífitas	Bromélia Terrestre
24	<i>Glomus aggregatum</i> Schenck & Smith	X	
25	<i>Glomus albidum</i> Walker & Rhodes	X	X
26	<i>Glomus claroideum</i> Schenck & Smith	X	X
27	<i>Glomus clarum</i> Nicol. & Schenck	X	X
28	<i>Glomus diaphanum</i> Morton & Walker	X	X
29	<i>Glomus etunicatum</i> Becker & Gerd.	X	X
30	<i>Glomus fasciculatum</i> Gerd. & Trappe (Walker & Koske)	X	X
31	<i>Glomus geosporum</i> (Nicol. & Gerd.) Walker	X	
32	<i>Glomus intraradices</i> Schenck & Smith	X	
33	<i>Glomus macrocarpum</i> Tul. & Tul.		X
34	<i>Glomus manihotis</i> Howeler, Sieverding & Schenck	X	X
35	<i>Glomus microcarpum</i> Tul. & Tul.	X	X
36	<i>Glomus occultum</i> (Walker) Morton & Redecker		X
37	<i>Glomus sinuosum</i> (Gerd. & Bakshi) Almeida & Schenck	X	
38	<i>Glomus tortuosum</i> Schenck & Smith		X
39	<i>Glomus</i> sp.1	X	X
40	<i>Glomus</i> sp.2	X	
41	<i>Scutellospora gilmorei</i> (Trappe & Herd.) Walker & Sanders	X	X
42	<i>Scutellospora heterogama</i> (Nicol. & Gerd.) Walker & Sanders	X	
43	<i>Scutellospora pellucida</i> (Nicol. & Schenck) Walker & Sanders	X	X
44	<i>Scutellospora verrugosa</i> (Koske & Walker) Walker & Sanders	X	X
45	<i>Scutellospora</i> sp.1	X	X
46	<i>Scutellospora</i> sp.2	X	X
47	<i>Scutellospora</i> sp.3		X

As espécies de fungos MA mais encontradas foram *Acaulospora* sp.1, *E. colombiana*, *S. gilmorei* e *Scutellospora* sp.1, para as bromélias epífitas e *G. gigantea*, *G. rosea*, *Gl. etunicatum*, *Gl. macrocarpum*, *Gl. occultum* e *Glomus* sp.1 para bromélias terrestres (Tabela 5).

Tabela 5. Bromélias identificadas e distribuição em categorias das espécies de fungos MA presentes em raízes de bromélias epífitas e terrestres coletadas no Parque Estadual da Serra do Mar (NSV e NC).

ESPÉCIE BROMÉLIA	HÁBITO*	ÁREA*	ABUNDANTE* > 10%	PRESENTE C. 5 %	RARO < 1%
<i>Vriesea carinata</i> var <i>mangaratibensis</i>	E	3	9, 10, 12, 14, 43, 45*	4, 7, 13, 37, 46	19, 22, 25, 29, 30, 34, 35
<i>Billbergia</i> sp.	T	1	4, 18, 21, 28, 29, 33, 36	7, 12, 25, 39, 41	6, 14, 15, 30, 34, 23, 45
<i>Billbergia</i> sp.	T	1	19, 21, 25, 36, 38, 39	4, 8, 16, 33, 41, 45, 46	12, 15, 44, 47
<i>Vriesea carinata</i> var <i>mangaratibensis</i>	E	4	1, 10, 12, 19, 44, 45	2, 4, 6, 14, 28	21, 22, 25, 27, 31, 39, 42, 46
<i>Billbergia</i> sp.	T	2	19, 27, 29, 33, 39	2, 4, 8, 12, 38, 43, 44, 45	13, 15, 25, 26, 29, 34, 46
<i>Vriesea carinata</i> var <i>mangaratibensis</i>	E	2	2, 12, 14, 41, 43	13, 15, 18, 19, 23, 27, 31, 39, 44	20, 22, 30, 32, 40
<i>Vriesea</i> sp.	E	3	1, 5, 11, 15, 16, 41, 42	3, 12, 19, 29, 39	8, 17, 32, 40
<i>Canistropsis</i> <i>billbergiodes</i> f. <i>billbergioides</i>	E	5	3, 14, 15, 21, 41, 45	20, 24, 25, 46	18, 19, 26, 30, 31, 39

*Os códigos das espécies de fungos estão definidos na Tabela 4. Os códigos das áreas e as categorias de frequência estão explicados em Material e Métodos. Hábito: E = epífita, T = terrestre.

Alguns gêneros associados com as raízes das bromélias apresentaram alto índice de ocorrência (Tabela 6), tal como *Acaulospora* para a bromélia epífita *V. carinata* var *mangaratibensis* Leme & Costa e, *Glomus* para a bromélia terrestre *Billbergia* sp. Numa mesma área (área 2), *Scutellospora* foi o gênero de maior ocorrência para a bromélia epífita *V. carinata* var *mangaratibensis* e *Glomus* para a bromélia terrestre *Billbergia* sp. As epífitas *V.*

carinata var *mangaratibensis* (área 2) e *Canistropsis billbergioides* (área 5), estavam fixadas em bifurcações na árvore com maior quantidade de substrato do que as outras epífitas coletadas. A menor abundância de esporos de *Acaulospora* encontrada nestas duas bromélias, comparada às outras epífitas, parece seguir o padrão encontrado para as *Billbergia* terrestres, exceto para a *Billbergia* sp. (área 1) da segunda coluna (Tabela 6), que estava com seu estolão cheio de raízes acima do solo.

Tabela 6. Abundância de esporos de fungos MA em bromélias epífitas e terrestres coletadas no Parque Estadual da Serra do Mar (NSV e NC).

EPÍFITAS						
Gêneros fungos MA	<i>Vriesea carinata</i> Área 3*	<i>Vriesea carinata</i> Área 4	<i>Vriesea carinata</i> Área 2	<i>Vriesea</i> sp. Área 3	<i>Canistropsis billbergioides</i> Área 5	Médias e desvios padrões
<i>Acaulospora</i>	50*	45	20	40	15	34 ± 15
<i>Entrophospora</i>	10	5	15	20	20	14 ± 6
<i>Gigaspora</i>	5	15	20	5	25	15 ± 9
<i>Glomus</i>	5	10	20	15	15	12 ± 6
<i>Scutellospora</i>	30	25	25	20	25	25 ± 5
TERRESTRES						
Gêneros fungos MA	<i>Billbergia</i> sp. Área 1*	<i>Billbergia</i> sp.* Área 1	<i>Billbergia</i> sp. Área 2	Médias e Desvios Padrões		
<i>Acaulospora</i>	20*	45	20	28 ± 14		
<i>Entrophospora</i>	1	5	1	2,3 ± 1,8		
<i>Gigaspora</i>	20	15	10	15 ± 5		
<i>Glomus</i>	50	10	50	37 ± 22		
<i>Scutellospora</i>	9	25	19	18 ± 8		

*% de esporos. Os códigos das áreas estão explicados em Material e Métodos.

Em geral, os gêneros de fungos MA de maior abundância (Figura 2) para as espécies de bromélias epífitas foram *Acaulospora*, e para as bromélias terrestres foram *Glomus*. O gênero *Acaulospora*, apesar de mostrar uma maior

diversidade de espécies (Figura 1) nas bromélias terrestres, mostrou maior abundância de esporos nas bromélias epífitas (Tabela 6). A alta ocorrência de *Acaulospora* em espécies epífitas é comparável a *Glomus* nas espécies terrestres indicando sua alta adaptação e capacidade de esporulação nestes ambientes tão especiais deste ecossistema.

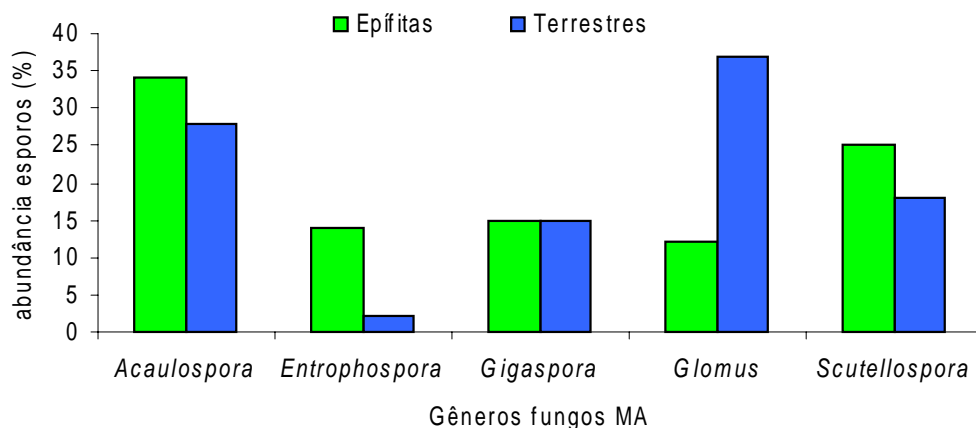


Figura 2 - Abundância de esporos de fungos MA nos diversos gêneros encontrados em bromélias epífitas e terrestres do Parque Nacional da Serra do Mar (NSV e NC).

Trufem (1988) encontrou 54 táxons de fungos MA na Ilha do Cardoso, Mata Atlântica, São Paulo. Em ecossistema de mata, Trufem (1990) encontrou na mesma Ilha, 35 espécies de fungos MA. No caso de ecossistemas perturbados de Mata Atlântica, Gomes e Trufem (1998) encontraram 21 táxons de fungos MA na Ilha dos Eucaliptos, Represa do Guarapiranga, São Paulo, SP. Trufem e Viriato (1990) isolaram 16 táxons na Reserva Biológica do Alto da Serra de Paranapiacaba, São Paulo, e Trufem e Malatinsky (1995) encontraram 23 táxons na Reserva Biológica do Alto da Serra de Paranapiacaba, São Paulo. Dentre os táxons, *A. foveata* e *Gl. macrocarpum*, têm sido considerados de comum ocorrência no Estado de São Paulo, como em plantas ornamentais (Trufem et al., 1990).

Há uma grande diferença nas populações de fungos MA de locais diferentes, mesmo apresentando clima e solo semelhantes. Isso indica que no

campo, a colonização micorrízica será determinada mais pelas populações fúngicas estabelecidas previamente e pela densidade de esporos presente do que por fatores relacionados com o clima e o solo (Morton & Bentivenga, 1994). A compreensão das características edáficas que limitam a colonização fúngica no campo irão depender de estudos mais específicos feitos nas comunidades de fungos MA, de mudanças estacionais nessas comunidades, do estado fisiológico da planta hospedeira, floração e clima (Smith & Smith, 1997). É necessário enfatizar que a dinâmica da comunidade depende da propagação dos esporos endomicorrízicos, e esse processo pode ser afetado pelo hospedeiro, substrato e o clima (Abbott & Robson, 1991).

Assim, essa complexa interação de fatores é responsável pela micoflora AM nos ambientes terrestres e epifíticos. Os modelos de distribuição que variam de acordo com as condições climáticas e edáficas são o princípio da ecologia. As formas de uso da terra, no caso de monoculturas intensivas, têm mostrado efeitos dramáticos na redução da biodiversidade fúngica (Allen, 1996).

4.1.2 Morfologia e exploração de raízes epifíticas

As bromélias têm raízes do tipo adventícias, utilizadas para segurar o galho ou o tronco de sua árvore suporte, e um número de raízes finas que podem assimilar água e nutrientes (Nadkarni, 1986). Foram encontradas muitas raízes adventícias na maioria das bromélias epífitas observadas. Na maioria dos casos essas raízes não apresentam colonização por fungos MA, que é o padrão típico em outras espécies de plantas (Smith & Smith, 1997). No entanto, em algumas raízes adventícias foi observada colonização por fungos MA (Figura 3,4). A ocorrência de raízes adventícias, tanto de plantas epífitas como terrestres, colonizadas por fungos MA não tem sido registrada na literatura.

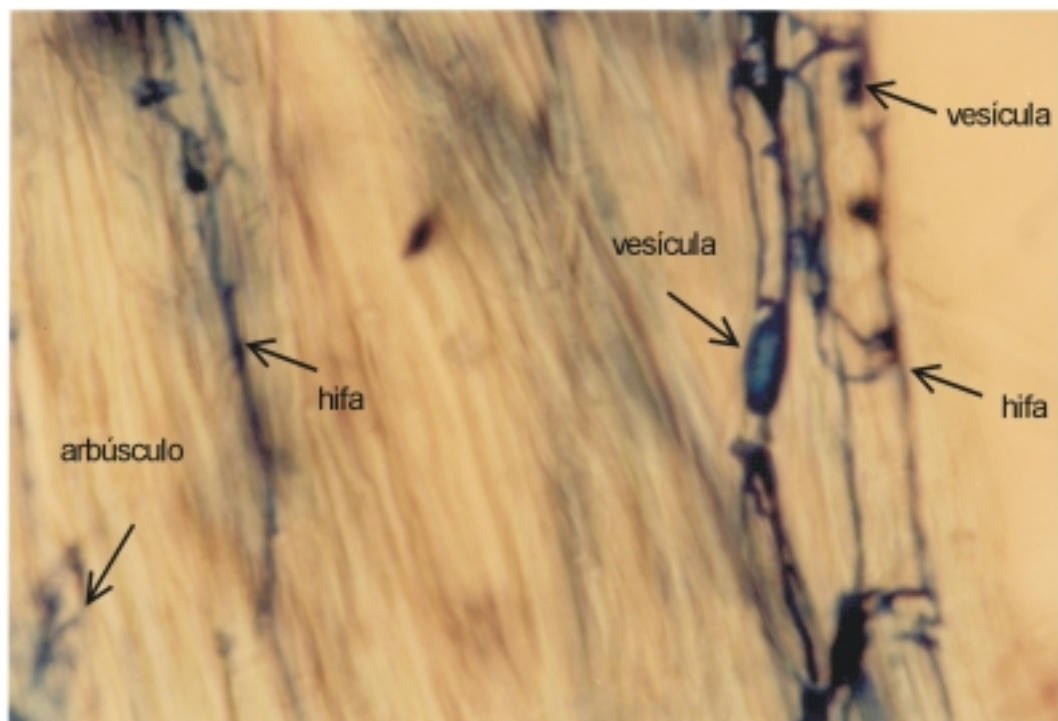


Figura 3 – Fungos MA colonizando raiz adventícia de *Vriesea* sp.



Figura 4 – Arbúsculos em associação com o xilema da raiz adventícia de *Vriesea* sp.

Da mesma forma, quando as bromélias epífitas foram coletadas, porções da casca do tronco das árvores hospedeiras foram arrancadas com as raízes e essas apresentam hifas de fungos MA penetrando a camada superficial do tronco adjacente à raiz da bromélia colonizada (Figura 5). Esta exploração do tronco da árvore por um fungo MA é também desconhecida nos registros publicados na literatura.

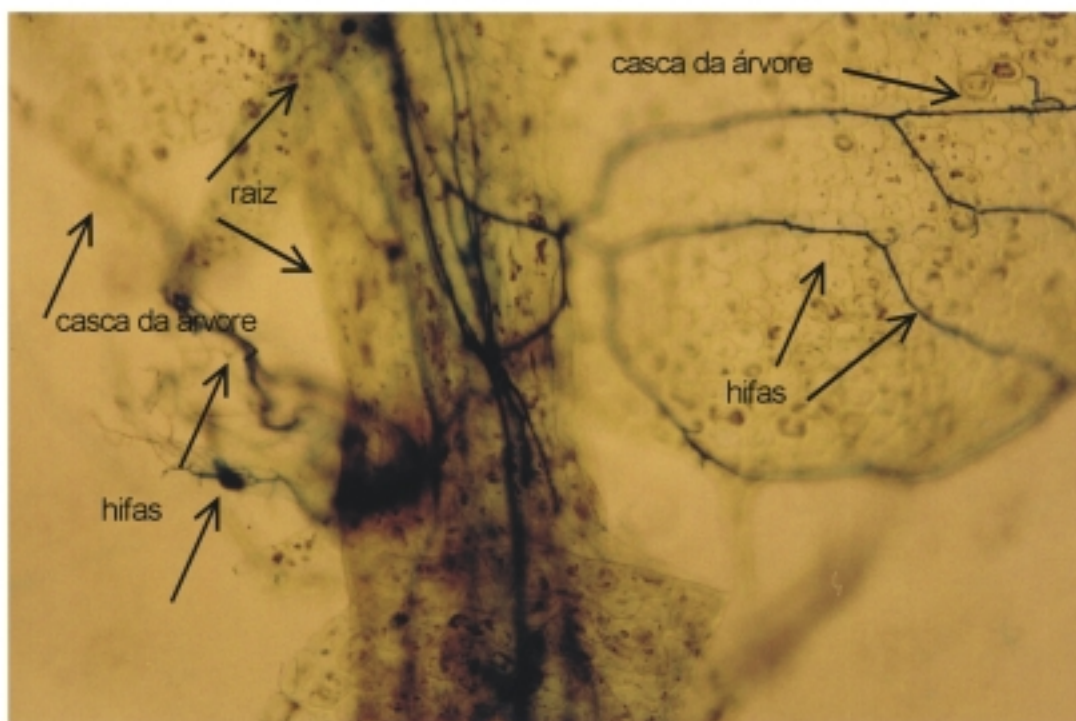


Figura 5 – Raiz de *Vriesea* sp. e hifa explorando a casca da árvore.

4.1.3 Número de esporos

Em áreas de mata nativa do NSV, sem a presença de bromélias terrestres, os números totais de esporos encontrados em 100 g de solo (Tabela 7) são extremamente altos quando comparados com outro ecossistema de mata na Ilha do Cardoso, Mata Atlântica, em média, 50,04 esporos/100g (Trufem, 1990). Trufem (1988) encontrou em dunas da Ilha do Cardoso, uma densidade de esporos no solo de 58,77 esporos/100g de solo e para a restinga, 192,67 esporos/100g de solo. Em outros ecossistemas de mata, Read et al.

(1976) verificaram valores entre 11 a 384 esporos/100g de solo e Santos & Vinha (1982) encontraram valores variando de 11 a 161 esporos/100g de solo.

Read et al., (1976), Whittingham & Read (1982) e Francis et al., (1986) sugerem que, em mata, onde as raízes geralmente se desenvolvem como trama muito emaranhada, pode ser mais eficiente a colonização de raízes por interconecções de hifas, com o conseqüente fluxo de nutrientes.

Os esporos com diâmetro $>150 \mu\text{m}$ são principalmente dos gêneros *Acaulospora*, *Scutellospora* e *Entrophospora*. Os esporos $>53 \mu\text{m}$ foram predominantes com muitos esporos de *Glomus*. Normalmente, o gênero *Glomus* é encontrado em plantas terrestres com alta freqüência (Trufem, 1990), mas no caso das bromélias epífitas, foi encontrada uma maior diversidade de espécies de *Glomus* (Figura 1), apesar de uma menor abundância de esporos representativos deste gênero (Figura 2).

Tabela 7. Número de esporos de fungos MA em 100 g do solo de mata nativa (sem a presença de bromélias) do NSV, Parque Estadual da Serra do Mar.

AMOSTRAS *	Esporos diâmetro $> 150 \mu\text{m}$	Esporos diâmetro $> 53 \mu\text{m}$	Esporos total*
Área 1	625 \pm 287	628 \pm 115	1253 \pm 351
Área 3	598 \pm 124	1376 \pm 493	1933 \pm 416
Área 4	276 \pm 93	1305 \pm 359	1582 \pm 387

*Médias e desvios padrões (3 repetições).

*Obs.: as amostras da Área 2 não foram processadas por problemas ocorridos no laboratório.

O número de esporos de fungos MA encontrado no substrato de bromélias que cresceram em casa de vegetação, depois de 10 meses, foi bem inferior ao encontrado no campo (Tabela 8). Porém foi muito satisfatório para a identificação das espécies de fungos MA que estavam nas raízes das bromélias coletadas no campo. Possivelmente passaram 2 ciclos de esporulação. Mas,

para uma segunda fase de experimento é necessário uma contagem mensal de esporos MA.

Em geral, as bromélias epífitas suportaram muitos esporos quando comparado com as terrestres mostrando ser uma ótima hospedeira destes fungos na Mata Atlântica. Da mesma forma estes hospedeiros parecem não excluir alguns gêneros ou espécies de fungos MA. Como notado anteriormente, a maior parte das espécies vegetais mostram uma preferência por um fungo MA específico e certas associações são mais comuns.

Tabela 8. Número de esporos de fungos MA em 100 g do solo de mata nativa (com a presença de bromélias terrestres) do Parque Estadual da Serra do Mar e no substrato utilizado no cultivo das bromélias em casa de vegetação depois de 10 meses e colonização das raízes das mesmas bromélias por fungos MA.

ESPÉCIE BROMÉLIA	HÁBITO	ÁREA	SOLO MATA NATIVA ESPOROS*	SUBSTRATO CV ESPOROS*	COLONIZAÇÃO %*
<i>V. carinata</i>	E	3	1018 ± 168*	216 ± 36*	59 ± 12*
<i>Billbergia</i> sp.	T	1	1289 ± 204	1525 ± 25	62 ± 18
<i>Billbergia</i> sp.	T	1	846 ± 137	65 ± 16	32 ± 13
<i>V. carinata</i>	E	4	1035 ± 182	181 ± 28	73 ± 10
<i>Billbergia</i> sp.	T	2	1190 ± 226	102 ± 25	27 ± 9
<i>V. carinata</i>	E	2	1354 ± 208	90 ± 29	78 ± 16
<i>Vriesea</i> sp.	E	3	1133 ± 270	144 ± 23	49 ± 8
<i>C.billbergiodes</i>	E	5	861 ± 119	69 ± 18	67 ± 11

*Médias e desvios padrões (3 repetições); esporos/100g de solo; mata nativa com a presença de bromélias; CV. = casa de vegetação.

As bromélias foram boas hospedeiras para a multiplicação dos esporos em casa de vegetação, apesar do menor número de esporos encontrado em relação ao solo de mata nativa, pois não são espécies anuais, como outras

plantas hospedeiras usadas normalmente em culturas de fungos MA, sendo uma planta de cultivo mais permanente e de fácil manutenção em casa de vegetação.

4.1.4 Colonização por fungos MA

Os níveis de colonização (Tabela 8) foram, em geral, elevados considerando espécies epífitas (Figura 6). Os números mais baixos de 27 e 32% para terrestres (Tabela 8), provavelmente são de plantas com um sistema radicular mais eficiente. As *V. carinata* têm alta colonização mostrando grande compatibilidade com fungos MA e no campo foi a epífita com menor quantidade de substrato, o que pode sugerir também a aceitação desta espécie por associações micorrízicas.

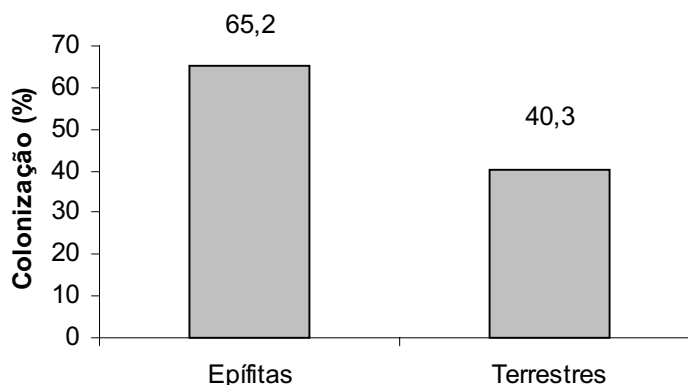


Figura 6 – Colonização de raízes de bromélias epífitas e terrestres transplantadas para um substrato esterilizado, depois de 10 meses em casa de vegetação.

O fato de que as bromélias tenham permitido várias espécies de fungos MA colonizarem suas raízes indicou que este hospedeiro não tem uma grande preferência por um tipo isolado de fungo. Isso não é o que ocorre normalmente na maioria das plantas terrestres, onde há uma maior seleção de espécies de fungos MA pelo hospedeiro (Allen, 1991). Há uma seleção da eficiência

reprodutiva do fungo. Depois de vários ciclos de reprodução, uma espécie será dominante numa população de fungos endomicorrízicos no solo.

As interações entre fungos MA e um hospedeiro em ambientes terrestres e epifíticos são muito complexas e seus modelos de distribuição e taxas de reprodução podem variar dependendo das condições ambientais climáticas e edáficas (Smith & Gianinazzi-Pearson, 1988), além das mudanças nas comunidades de fungos MA e plantas que variam com as estações do ano e estado fisiológico de ambos (Sierverding, 1991; Abbott & Gazey, 1994).

4.2 Ecofisiologia

4.2.1 Produção de matéria seca

Em geral, os fungos MA utilizados no experimento 1 reduziram o crescimento das plantas, exceto *E. colombiana*, quando comparados com o controle 1. No experimento 2 os fungos MA foram mais eficientes quanto ao incremento de biomassa em relação ao controle, exceto *G. clarum* que apresentou um resultado inferior ao controle (Tabela 9).

Tabela 9. Produção média de biomassa e colonização radicular de *A. nudicaulis* inoculada com espécies de fungos MA ou sem inóculo (controle) nos experimentos 1 e 2 da casa de vegetação (Médias e desvios padrões de 8 repetições)

Tratamento	MS PA* (g)	MS Raiz (g)	MS Total (g)	Colonização (%)
Experimento 1 - Substrato: Areia/ Composto orgânico				
Controle 1	0,33 ± 0,09 b*	0,12 ± 0,04 b	0,45 ± 0,13 b	0,00 ± 0 d
<i>G. margarita</i>	0,15 ± 0,08 c	0,06 ± 0,03 c	0,22 ± 0,11 c	15,00 ± 5,5 c
<i>Gl.intraradices</i>	0,12 ± 0,07 c	0,07 ± 0,03 c	0,19 ± 0,12 c	22,00 ± 10,1 bc
<i>Gl.etunicatum</i>	0,13 ± 0,08 c	0,08 ± 0,04 c	0,21 ± 0,14 c	13,50 ± 6,3 c
<i>S. pellucida</i>	0,24 ± 0,13 b	0,15 ± 0,07 b	0,39 ± 0,20 b	29,88 ± 12,7 b
<i>E. colombiana</i>	0,43 ± 0,16 a	0,33 ± 0,15 a	0,76 ± 0,27 a	44,75 ± 11,8 a
Experimento 2 - Substrato: Casca/ Areia/ Composto orgânico				
Controle 2	0,22 ± 0,11 b*	0,20 ± 0,09 bc	0,42 ± 0,26 b	0 ± 0 c
<i>E.colombiana</i>	0,62 ± 0,30 a	0,32 ± 0,15 a	0,94 ± 0,47 a	43,29 ± 7,6 a
<i>S.heterogama</i>	0,52 ± 0,23 a	0,19 ± 0,11 bc	0,72 ± 0,25 a	22,86 ± 5,8 b
<i>A.scrobiculata</i>	0,30 ± 0,14 b	0,14 ± 0,09 c	0,45 ± 0,22 b	26,29 ± 4,3 b
<i>Gl. clarum</i>	0,06 ± 0,03 c	0,11 ± 0,06 c	0,17 ± 0,10 c	28,43 ± 6,6 b
Mistura fungos MA	0,74 ± 0,30 a	0,28 ± 0,14 ab	1,02 ± 0,49 a	48,14 ± 8,8 a

*MS = matéria seca; PA = parte aérea ; teste de Duncan ($p < 0,05$). Valores com a mesma letra não diferem entre si.

Nos experimentos 1 e 2, foram apresentadas tanto associações mutualísticas (com *E. colombiana*), como associações parasíticas (com *Glomus* spp.) (Tabela 9). Mas mesmo assim, essas plantas colonizadas por fungos MA apresentaram maior sobrevivência no final dos experimentos.

No experimento 1, a associação de *E. colombiana* com *A. nudicaulis* resultou em aumento de peso da matéria seca em relação ao controle e 44,75% de colonização radicular (Tabela 9). No entanto, a mesma associação repetida no experimento 2 resultou em um maior incremento no peso e quase mesmo nível de colonização que no experimento 1 (Tabela 9). O substrato do experimento 1 foi melhor do que o substrato do experimento 2 para o desenvolvimento de *E. colombiana*. Para *A. nudicaulis*, o substrato do experimento 2 foi mais apropriado quanto ao acúmulo de P nos tecidos vegetais (Tabela 10). Embora o teor de P dos substratos dos experimentos 1 e 2 não tenham apresentado muitas diferenças (Tabela 2), a concentração de P em *A. nudicaulis* inoculada com *E. colombiana* no experimento 2 foi mais do que o dobro da concentração de P apresentada no experimento 1 com o mesmo inóculo.

A introdução de casca de *Pinus* no substrato (50%), resultou em menor densidade e maior porosidade (Tabela 3), além do aumento da umidade (mais matéria orgânica) e boa drenagem (alta densidade de macroporos) com subsequente boa aeração no substrato (Glinski & Stepniewski, 1985). Este ambiente favorecerá a respiração da raiz e dos fungos com maior troca gasosa (Reeve & Carter, 1991).

As espécies de fungos do gênero *Glomus* são consideradas geralmente agressivas e desenvolvem níveis relativamente maiores de hifas do que outras espécies de fungos MA (Bethlenfalvay et al., 1983). Sob essas condições o dreno de C nessas plantas será maior do que em outras plantas colonizadas por espécies de outros gêneros de fungos MA.

Em micorrizas, há uma troca de nutrientes entre os fungos MA e as plantas (Gange & Ayres, 1999), com a transferência de açúcares por parte

destas, que em troca, recebem dos fungos, os organofosfatos. Isso representa um equilíbrio entre o macrosimbote e o microsimbote (Allen, 1996). Em alguns casos o dreno do C não está compensado com o influxo de P (Bethlenfalvay et al., 1982a) e os altos níveis de colonização em relação ao incremento de peso seco da matéria vegetal podem prejudicar o hospedeiro (Guillemin et al., 1992). Sob estas condições há parasitismo. Em outros casos, a assimilação do P é maior do que a perda de C e temos uma simbiose mutualística.

No experimento 1, a alta densidade do substrato relativa ao substrato no experimento 2 e baixa porosidade (Tabela 3) indicam que o solo não apresenta boa drenagem (Iwata et al., 1988) e conseqüentemente pouca aeração (Glinski & Stepniewski, 1985). Essas condições edáficas serão desfavoráveis tanto para o crescimento adequado da raiz como do fungo MA (Pacovsky et al., 1985). No substrato do experimento 1, há uma retenção maior de água (Tabela 2) facilitando o ataque de microrganismos patogênicos que poderá prejudicar o desenvolvimento das raízes (Miyazaki, 1993).

Isso sugeriu que casca de *Pinus*, introduzida no experimento 2, representa uma matriz muito positiva para a infiltração e exploração do fungo, pela melhor aeração e estrutura do substrato, favorecendo as atividades biológicas.

No experimento 1, a colonização foi positivamente correlacionada com o peso da matéria vegetal seca e os resultados das análises (Figura 7 A) mostraram que os fungos MA influenciaram significativamente na produção de matéria vegetal seca de *A. nudicaulis* ($r = 0,95$). Os níveis de colonização estão menos relacionados ($r = 0,72$) no experimento 2 (Figura 7 B) apesar dos efeitos positivos no crescimento da planta em relação ao controle (Tabela 9).

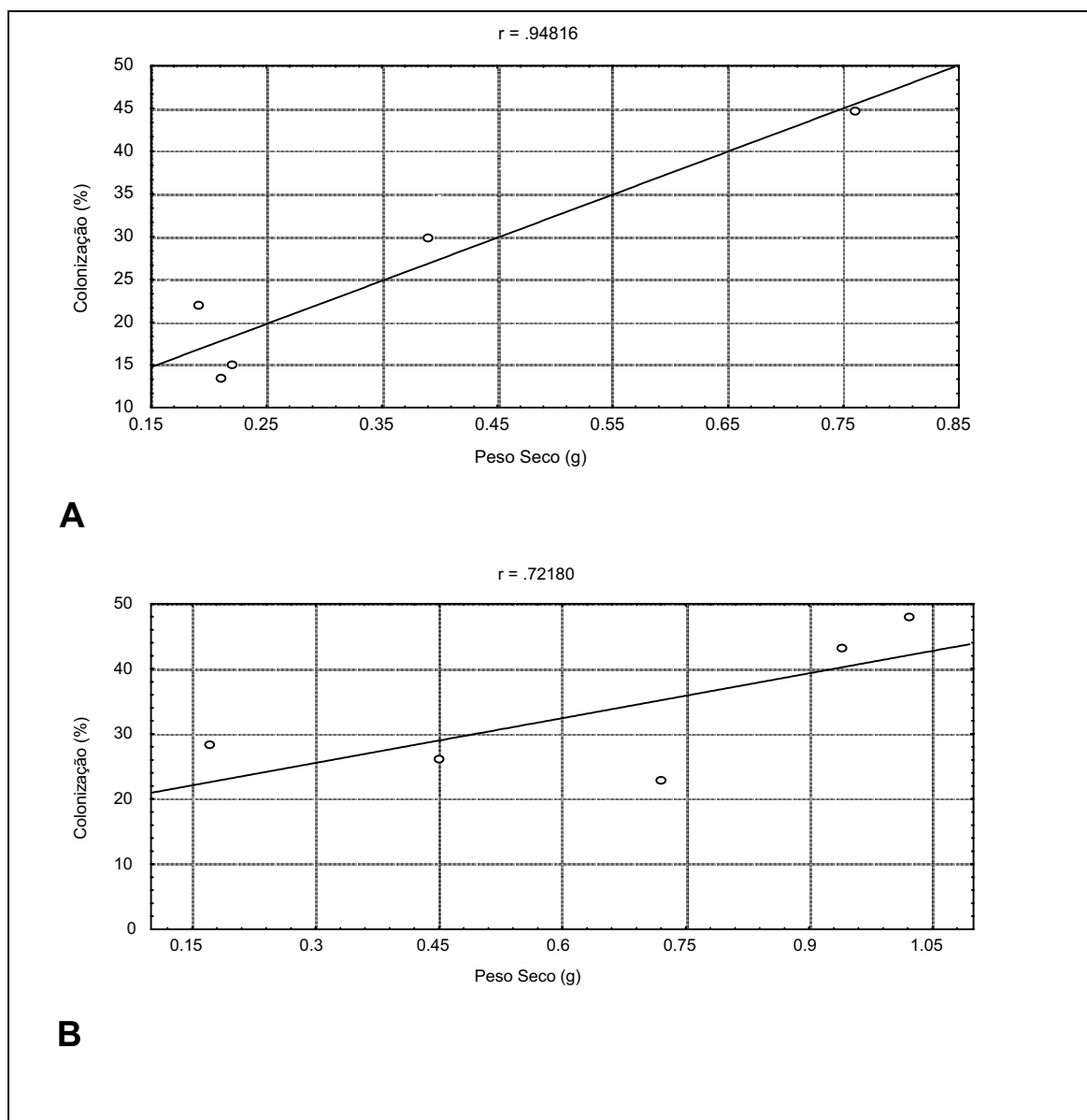


Figura 7 A,B - Correlação entre a colonização e a matéria vegetal seca total em *A. nudicaulis* inoculada com fungos MA nos experimentos 1 e 2. Equação significativa a $p < 0.05$ pelo teste de Tukey.

Considerando os experimento 2, o melhor inóculo foi a mistura de fungos MA, enfatizando o princípio que um consórcio de organismos é mais efetivo do que um organismo puro (Allen, 1992). Não foi determinado qual fungo da mistura de fungos MA teve reprodução e colonização mais eficientes

no hospedeiro. Mas, de acordo com os resultados obtidos nos experimentos, mesmo tendo sido determinado este fungo, a recomendação seria a do uso de uma mistura de fungos MA de ambientes naturais para qualquer bromélia. Numa mistura de fungos MA, há uma chance maior de uma seleção natural (Schwab et al., 1991) das espécies mais adequadas e adaptadas às diferentes situações encontradas ao longo do ano, tanto numa casa de vegetação como no restabelecimento de bromélias em áreas degradadas, e os fungos mais resistentes e competitivos terão uma maior taxa de reprodução e estabelecimento.

4.2.2 Índices de crescimento

No experimento 1, os índices de crescimento mostraram valores negativos (associações parasíticas) e positivos (associações mutualísticas). Normalmente, associações simbióticas têm uma alta assimilação de P (Harley & Smith, 1983), mas no caso da associação com *E. colombiana*, a planta cresceu muito mais sem um aumento da concentração do P (Tabela 10). Isso indicou um maior fluxo do P que foi utilizado imediatamente para o crescimento do hospedeiro (Fries et al., 1998). A associação com *Gl. intraradices* teve 18.8% mais P, mas ainda não mostrou alto crescimento da bromélia, indicando que o dreno de C e desequilíbrio metabólico foi alto (Gange & Ayres, 1999). A associação com *Gl. etunicatum* não acumulou P, mas mostrou parasitismo indicando um dreno no C elevado sem nenhum benefício para a planta (Redman et al., 2001).

No experimento 2, todas as plantas mostraram uma DC P positivo e a grande maioria também tinha um DC total positivo (Tabela 10). A única exceção foi a associação com *Gl. clarum* que acumulou 15% mais P mas mostrou menos 59% de crescimento total. Esse valor baixo no peso seco da planta com um acúmulo de P sugere que a inibição do crescimento nas plantas colonizadas por *G. clarum* será transitória (Bethlenfalvay et al., 1982a). Uma vez cessado o crescimento do fungo o hospedeiro terá reservas suficientes de

P para prosseguir num crescimento rápido (Saito, 2000). O aumento de P e capacidade de absorção de água das plantas micorrizadas irá garantir a sobrevivência do hospedeiro sob estresse por mudanças desfavoráveis no ambiente (Bolan, 1991).

Tabela 10. Diferenças no crescimento (DC) de matéria vegetal seca e diferenças na concentração de P (DC P) de *A. nudicaulis* associada com espécies de fungos MA ou não (controle) dos experimentos 1 e 2.

Tratamento	DC PA * (%)	DC Raiz (%)	DC Total (%)	DC P* (%)
Experimento 1 – Substrato: Areia/Composto				
<i>G. margarita</i>	- 54	- 50	- 51	+ 6,3
<i>Gl.intraradices</i>	- 64	- 42	- 58	+ 18,8
<i>Gl.etunicatum</i>	- 61	- 33	- 53	0
<i>S. pellucida</i>	- 27	+ 25	- 13	- 18,8
<i>E. colombiana</i>	+30	+ 175	+ 69	0
Experimento 2 – Substrato: Casca/Areia/Composto				
<i>E.colombiana</i>	+ 182	+ 60	+ 124	+ 25,9
<i>S.heterogama</i>	+ 136	- 5	+ 71	+ 11,1
<i>A.scrobiculata</i>	+ 36	- 30	+ 7	+ 7,4
<i>Gl. clarum</i>	- 73	- 45	- 59	+ 14,8
Mistura FMA*	+ 236	+ 40	+143	+ 63,0

*DC = diferenças no crescimento; PA = parte aérea; DC P= diferenças na concentração de P; Mistura FMA = mistura fungos MA.

As depressões de crescimento não têm sido explicadas de forma adequada na literatura, embora o mecanismo que é mais comumente discutido envolva a competição por C entre hospedeiro e endófito (Harris et al., 1985; Redman et al., 2001). Em solos com alta disponibilidade de P, não ocorre um aumento da nutrição mineral pelo fungo MA, mas o hospedeiro continua a fornecer C para o crescimento do fungo e respiração (Jacobsen & Rosendahl, 1990). O custo do C não é maior que 10 a 15% do total dos carboidratos

produzidos na fotossíntese (Harris et al., 1985) e variam durante o desenvolvimento da planta hospedeira (Bethlenfalvay et al., 1982b).

4.2.3 Macronutrientes

Considerando todas as concentrações dos macronutrientes analisados, apenas a concentração de P e Na mostraram diferenças notáveis (Tabela 11). No experimento 1, a associação com *Gl. intraradices* teve a maior taxa de P e a menor taxa de crescimento que os outros tratamentos. No entanto, a associação com *S. pellucida* teve a concentração de P mais baixa e uma taxa de crescimento superior aos *Glomus* spp. e à *G. margarita*. O acúmulo de P em *Gl. intraradices* não foi favorável para o crescimento do hospedeiro pois, mesmo o acúmulo de P tendo sido alto, o dreno de carbono foi ainda maior, mostrando também um alto nível de colonização radicular (Tabela 9). No experimento 2, a associação com a mistura de fungos MA teve uma concentração de P mais alta, enquanto o controle teve a concentração mais baixa.

A correlação negativa ($r = 0.30$) entre a colonização e a concentração de P (Figura 8A) em plantas inoculadas com fungos MA sugere que a tendência ao parasitismo foi muito maior nas associações com os fungos MA do experimento 1 que no experimento 2 (Figura 8 B). Em geral, os fungos MA do experimento 2 tiveram uma relação positiva com o aumento da concentração de P, isto é, favoreceram o acúmulo de P no tecido vegetal. O substrato do experimento 1 apresentou menor aeração prejudicando a atividade microbiana e reduzindo a absorção de P (Pacovsky et al., 1985).

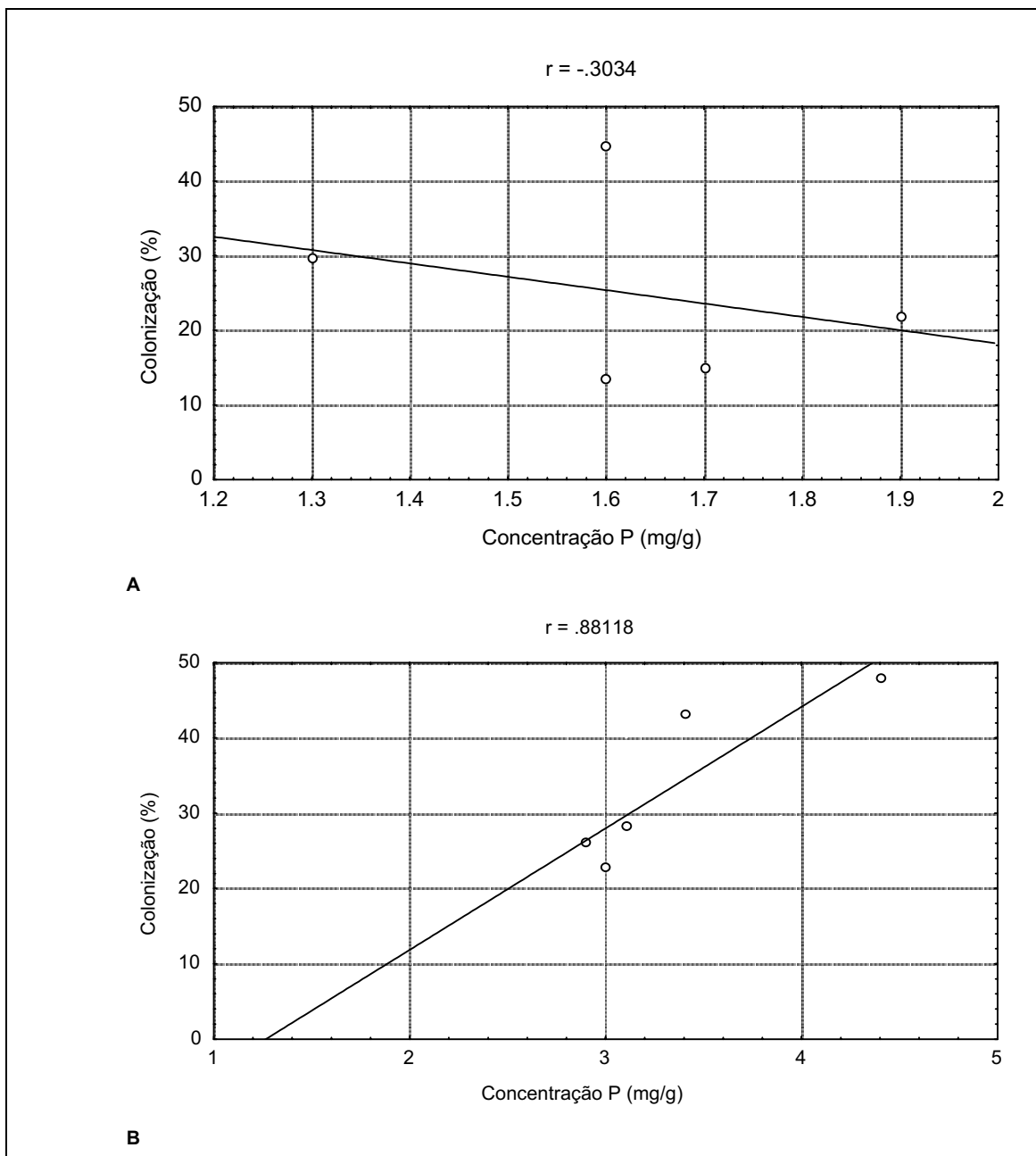


Figura 8 A,B - Correlação entre a colonização e a concentração de P em *A. nudicaulis* inoculada com fungos MA nos experimentos 1 e 2. Equação significativa a $p < 0.05$ pelo teste de Tukey.

As análises físicas dos dois substratos utilizados nos diferentes experimentos mostram que no experimento 1, o suprimento limitado de O_2

reduziu a respiração radicular e conseqüentemente a absorção de P (Miyazaki, 1993). No entanto, o substrato do experimento 2, com maior porosidade e menor densidade, isto é, com maior aeração (Glinski & Stepniewski, 1985) apresentou os maiores valores de acúmulo de P nas associações de *A. nudicaulis* com os diversos fungos MA inclusive no controle, quando comparado ao controle do experimento 1.

Esses resultados mostram que existe um balanço delicado entre a disponibilidade de P, o desenvolvimento do endófito e a resposta do hospedeiro (Santos et al., 2000). Em adição, há uma compatibilidade entre a estrutura do solo, nível de fertilidade e espécies de fungo MA (Bethlenfalvay et al., 1982c). Cada fungo MA promoverá efeitos diferentes quanto a transferência de P, dependendo das condições ambientais do hospedeiro (Bethlenfalvay et al., 1982a) e níveis de fertilidade de P (Schwab et al., 1991). Esses fatores enfatizam que um consórcio de fungos MA pode ser mais eficiente quanto às respostas no hospedeiro do que um simples fungo MA isolado, como mostrado no experimento 2.

A concentração do Na nas folhas das bromélias é relativamente alta comparada com outras plantas não halófitas (Malavolta, 1980). Aparentemente, o acúmulo do Na em bromélias não é nocivo. Estas plantas são resistentes à toxidez do Na. As bromélias colonizadas por *G. margarita* acumularam mais sódio do que o controle, enquanto outras plantas MA apresentaram níveis de Na que não diferiram estatisticamente do controle. Römheld e Marschner (1991) notaram que as plantas colonizadas por fungos MA também são mais tolerantes aos solos contendo altas concentrações de Na e um maior acúmulo de Na em suas raízes e folhas.

A grande concentração de Na, nas plantas, indica que o substrato tinha um alto conteúdo de Na (Tabela 2), o que pode ser explicado pela forma de processamento do composto onde é usado cloreto de sódio em grandes quantidades. O processo de compostagem não retira esse Na e o produto final o tem em altas concentrações.

Tabela 11. Concentração de macronutrientes (mg/g) na parte aérea de *A. nudicaulis* inoculada com fungos MA ou não (controle) dos experimentos 1 e 2. (Médias de amostras compostas)

Tratamento	N	P	K	Ca	Mg	Na	S
Experimento 1 - Substrato: Areia/Composto (mg/g)							
Controle 1	16,7 a*	1,6 ab	20,7 a	8,3 a	14,0 a	8,27 b	1,6 a
<i>G. margarita</i>	18,3 a	1,7 ab	22,5 a	6,7 a	15,1 a	12,0 a	1,5 a
<i>Gl. intraradices</i>	20,3 a	1,9 a	20,8 a	10,1 a	15,7 a	8,38 b	1,7 a
<i>Gl. etunicatum</i>	18,2 a	1,6 ab	23,3 a	9,6 a	15,3 a	10,1 ab	1,5 a
<i>S. pellucida</i>	18,0 a	1,3 b	22,9 a	8,7 a	15,2 a	8,74 ab	1,4 a
<i>E. colombiana</i>	17,1 a	1,6 ab	18,4 a	8,3 a	14,8 a	8,48 b	1,4 a
DMS	11	0,5	7,3	4,9	4,3	2,25	0,5
Experimento 2 - Substrato: Casca <i>Pinus</i>/Areia/Composto (mg/g)							
Controle 2	12,6 a*	2,7 c	26,7 a	10,4 a	12,9 a	7,82 a	1,3 a
<i>E. colombiana</i>	11,6 a	3,4 b	25,0 a	9,9 a	12,7 a	5,98 a	1,4 a
<i>S. heterogama</i>	11,6 a	3,0 bc	24,1 a	10,2 a	13,2 a	5,98 a	1,6 a
<i>A. scrobiculata</i>	12,4 a	2,9 bc	24,6 a	9,2 a	13,3 a	6,90 a	1,6 a
<i>Gl. clarum</i>	13,7 a	3,1 bc	27,1 a	10,7 a	14,1 a	7,82 a	2,0 a
Mistura FMA*	11,3 a	4,4 a	28,9 a	9,5 a	13,0 a	6,90 a	1,5 a
DMS	6,2	0,8	9,5	3,4	5,1	2,07	0,7

* Mistura FMA = mistura fungos MA; teste das Diferenças Mínimas Significantes (DMS, $p < 0,05$). Valores com a mesma letra não diferem entre si.

Normalmente a presença de fungos MA não altera os nutrientes difusos de forma livre no solo (Harley & Smith, 1983) que podem ser interceptados e assimilados por suas hifas. A maioria dos nutrientes presentes no solo, K, Ca, Mg, Na e S, não têm dificuldade de movimentação (Schwab et al., 1991). Os elementos imóveis, tais como P, Cu e Zn são assimilados mais facilmente nas simbioses AM (Bolan, 1991).

4.2.4 Micronutrientes

No experimento 1, as associações de *A. nudicaulis* com fungos MA apresentaram uma concentração de Cu mais reduzida do que o controle, sugerindo que as raízes colonizadas controlaram a assimilação de Cu (Harris et al., 1985). A associação com *Gl. intraradices* acumulou mais Fe do que os outros tratamentos mostrando uma afinidade deste fungo por Fe (Fries et al., 1998). No experimento 2, em geral, o acúmulo de Cu não diferiu muito do controle, apenas *E. colombiana* acumulou menos Cu que o controle, mas o acúmulo de Fe foi extremamente alto nos diversos tratamentos, inclusive no controle, quando comparado ao controle do experimento 1 (Tabela 12). No experimento 2, a associação com *A. scrobiculata* teve alta concentração de B enquanto *A. nudicaulis* colonizada com uma mistura de fungos MA teve o menor valor de acúmulo de B, indicando que houveram diferenças entre as espécies de fungos quanto à afinidade, absorção e transferência deste nutriente para o hospedeiro. Quando consideramos Fe, a associação com a baixa taxa de crescimento (com *Gl. clarum*) teve uma concentração de Fe mais elevada. No experimento 2, as associações com *S. pellucida* ou *E. colombiana* tiveram a taxa de crescimento mais alta e a baixa concentração de Fe.

No experimento 1, a absorção e distribuição de micronutrientes, particularmente Cu, apresentou diferenças significativas nas plantas AM quando comparadas com o controle (Tabela 12). O crescimento adequado de uma planta requer um suprimento de micronutrientes nas fases iniciais de seu desenvolvimento (Römheld & Marschner, 1991), quando os fungos AM estão mais ativos (Pacovsky, 1989a). Isso enfatiza a importância da atuação da micorriza arbuscular no aumento da eficiência e no momento adequado da assimilação mineral.

Tabela 12. Concentração de micronutrientes ($\mu\text{g/g}$) na parte aérea de *A. nudicaulis* inoculada com fungos MA ou não inoculadas (controle) dos experimentos 1 e 2. (Médias das amostras compostas).

Tratamento	B	Cu	Fe	Mn	Zn
Experimento 1 - Substrato: Areia/Composto ($\mu\text{g/g}$)					
Controle 1	27 a*	40 a	202 b	40 a	18 a
<i>G. margarita</i>	29 a	14 b	238 b	47 a	18 a
<i>Gl. intraradices</i>	44 a	9 b	419 a	38 a	17 a
<i>Gl. etunicatum</i>	37 a	9 b	255 b	34 a	18 a
<i>S. pellucida</i>	30 a	8 b	198 b	29 a	17 a
<i>E. colombiana</i>	35 a	12 b	231 b	49 a	20 a
DMS	30	23	157	25	14
Experimento 2 - Substrato: Casca/Areia/Composto ($\mu\text{g/g}$)					
Controle 2	124 ab*	7 a	2647 ab	116 a	24 a
<i>E. colombiana</i>	110 ab	6 a	1680 b	106 a	20 a
<i>S. heterogama</i>	114 ab	9 a	2476 ab	138 a	21 a
<i>A. scrobiculata</i>	161 a	9 a	1576 b	116 a	20 a
<i>Gl. clarum</i>	128 ab	11 a	3034 a	131 a	25 a
Mistura fungos*	86 b	9 a	1779 b	132 a	20 a
DMS	64	8	1228	57	19

*teste das Diferenças Mínimas Significantes (DMS, $p < 0,05$). Valores com a mesma letra não diferem entre si; Mistura fungos = mistura fungos MA.

Muitos trabalhos mencionam a tolerância de certas plantas a metais aos pesados (Zn, Cu, Mn, Ni, Co), mas poucos autores consideraram o papel das micorrizas na absorção seletiva de íons ou exclusão de micronutrientes sob concentrações tóxicas (Oliveira et al., 1999). O Cu em excesso no solo é tóxico tanto para a planta hospedeira como para o endófito fúngico MA (Bussler, 1981).

A maioria dos autores têm publicado estudos onde plantas colonizadas por fungos MA podem absorver micronutrientes de forma mais eficiente quando a disponibilidade desses nutrientes no solo é baixa, mas as micorrizas evitarão acúmulos desses metais pesados quando as concentrações do solo estiverem altas (Smith & Read, 1997).

A importância dessa tolerância deve ser considerada no restabelecimento de plantas em áreas degradadas onde o solo é tipicamente ácido, carente em matéria orgânica reduzindo as possibilidades de formar quelado com metais e sem atividade microbiana, eliminada pela degradação, que freqüentemente reduz a disponibilidade de íons de metais (Nadkarni, 1986).

4.2.5 Considerações Finais

Foi demonstrado nos resultados sobre a efetividade dos diferentes fungos MA, que as respostas das plantas podem variar muito dependendo do inóculo utilizado (Abbott & Robson, 1981), composição do substrato (Hirnburegama & Wijesingue, 1992), além de variações nas condições de campo e tempo de inoculação. Na associação mutualística MA, onde a planta hospedeira e o endófito fúngico convivem numa relação balanceada, o crescimento parasítico ocorrerá somente quando esse equilíbrio é perturbado (Bethlenfalvay et al., 1982a). A maioria dos trabalhos concordam, que as condições ambientais, principais responsáveis pela manutenção desse balanço favorável na simbiose endomicorrízica (Redman et al., 2001), são disponibilidade de P e o nível de fotossíntese da planta e distribuição de C (Harris et al., 1985).

Para *A. nudicaulis*, foi demonstrado neste trabalho que, mesmo com um inóculo não adequado, com um menor crescimento da planta, foi maior a sobrevivência de plantas (Guillemin et al., 1997) após seu desenvolvimento inicial *in vitro* (Schubert & Lubraco, 2000).

Nossos resultados indicam que, a associação mutualística com um fungo MA puro, *E. colombiana*, no experimento 2, foi a de maior sucesso tanto em crescimento como em acúmulo de P. É interessante notar que no levantamento de campo, *E. colombiana* teve uma frequência baixa nas espécies de bromélias, comparado com as outras. Isso confirma a idéia de que na natureza há uma competição por sobrevivência e não por eficiência (Allen & Allen, 1992), como ocorre numa casa de vegetação em condições favoráveis e controladas. No entanto, quando os resultados de *E. colombiana* são comparados aos obtidos na associação com a mistura de fungos MA, no experimento 2, é notável o aumento de biomassa e da concentração de P em *A. nudicaulis*.

Portanto, esses resultados sugerem que o uso de um inóculo de fungos puros é menos adequado que uma mistura de inóculos para o restabelecimento de plantas no campo.

4.2.6 Aspectos práticos

Normalmente, as bromélias têm preferência por solos que são bem drenados (Martin, 1994), e esses solos são também favoráveis para o desenvolvimento de fungos MA (Smith & Read, 1997). Enquanto os substratos ricos em matéria orgânica, tais como os solos da Mata Atlântica que reduzem a necessidade de fungos MA, a presença desses microrganismos ainda favorece a exploração de um volume maior de solo (Abbott & Robson, 1991), que deve ser uma estratégia para manutenção de nutrientes, talvez carentes no solo e no substrato arbóreo em outras estações do ano.

Os substratos utilizados neste trabalho são comuns aos empregados na floricultura (Bragg et al., 1993). A propagação de bromélias em casa de vegetação para uma possível reposição em áreas degradadas (Matteo, 1994) deve ter como objetivo a seleção de um substrato apropriado quanto à liberação adequada de P para suportar o desenvolvimento de fungos MA (Pacovsky et al., 1985).

Há uma necessidade de desenvolver práticas de estabelecimento e manutenção de micorrizas arbusculares em ambientes degradados onde sua presença poderá garantir a sobrevivência do hospedeiro (Lovato et al., 1995). É necessário o desenvolvimento de uma mistura de inóculo que poderá ser introduzido em um substrato de composição fixada que contem doses e formas de fertilizantes adequadas para o desenvolvimento do fungo (Abbott & Gazey, 1994). O tipo de aclimação e período de transplante devem ser otimizados também. O restabelecimento de bromélias associadas aos fungos MA no campo, em ambos ambientes terrestres e epifíticos é uma área para futuros estudos.

5 CONCLUSÕES

BIODIVERSIDADE

1. O solo do Núcleo Santa Virgínia, Parque Estadual da Serra do Mar possui uma diversidade de fungos MA maior do que em outros inventários realizados na Mata Atlântica.
2. As bromélias epífitas e terrestres são hospedeiras adequadas de fungos MA.

ECOFISIOLOGIA

1. No experimento 2, o melhor inóculo utilizado no cultivo de *A. nudicaulis* foi um consórcio de fungos MA.
2. Os fungos MA aumentaram a eficiência na assimilação mineral, principalmente P, das bromélias no experimento 2.
3. A casca de *Pinus* foi o substrato mais adequado no cultivo de bromélias micorrizadas;
4. O uso do composto orgânico é indicado como mistura em substrato de cultivo de *A. nudicaulis*.
5. As bromélias micorrizadas apresentaram maior crescimento na fase de aclimação em casa de vegetação.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABBOTT, L.K.; GAZEY, C. An ecological view of the formation of VA mycorrhizas. **Plant and Soil**, v.159, p.69-78, 1994.
- ABBOTT, L.K.; ROBSON, A.D. Infectivity and effectiveness of vesicular arbuscular mycorrhizal fungi: effect of inoculum type. **Australian Journal of Agricultural Research**, v.32, p.631-639, 1981.
- ABBOTT, L.K.; ROBSON, A.D. The effect of mycorrhizae on plant growth. In: POWELL, C.L.; BAGYARAR, P.J. (Ed.). **VA mycorrhiza**. Boca Raton: CRC Press, 1984. p.113-130.
- ABBOTT, L.K.; ROBSON, A.D. Factors affecting the occurrence of vesicular arbuscular mycorrhizas. **Agriculture, Ecosystems, Environment**, v.35, p.121-150, 1991.
- AGUILERA-GÓMEZ, L.I.; RAMÍREZ-MORELES, P.; FRÍAS-HERNÁNDEZ, J.T.; CHAPA-ELIZONDO, A.; OLALDE-PORTUGAL, V. Influence of *Glomus fasciculatum* on physiology and growth of three kinds of maize. **Phyton**, v.62, n.112, p.101-107, 1998.
- ALLEN, M.F. **The ecology of mycorrhizae**. Cambridge: Cambridge University Press, 1991. 184 p.
- ALLEN, M.F. **Mycorrhizal functioning**: an integrative plant-fungal process. Routledge: Chapman & Hall, 1992. 729 p.
- ALLEN, M.F. The ecology of arbuscular mycorrhizas: a look back into 20th century and a peek into the 21st. **Mycological Research**, v.100, n.7, p.769-782, 1996.

- ALLEN, M.F. Modeling arbuscular mycorrhizal infection: is % infection an appropriate variable? **Mycorrhiza**, v.10, p.255-258, 2001.
- ALLEN, M.F.; ALLEN, E.B. Development of mycorrhizal patches in a successional arid ecosystem. In: READ, D.J.; LEWIS, D.H.; FITTER, A.H.; ALEXANDER, I.J. (Ed.) **Mycorrhizas in ecosystems**. Cambridge: CAB International, 1992. p. 164-170.
- ALLEN, M.F.; RINCON, E.; ALLEN, E.B.; HUANTE, P.; DUNN, J.J. Observations of canopy bromeliad roots compared with plants rooted in soils of a seasonal tropical forest, Chamela, Jalisco, Mexico. **Mycorrhiza**, v.4, n.1, p.27-28, 1993.
- AMIJEE, F.; TINKER, P.B.; STRIBLEY, D.P. The development of endomycorrhizal root systems. VII. A detailed study of effects of soil phosphorus on colonization. **New Phytologist**, v.111, p.435-446, 1989.
- ANDRADE, W.J.; ZANCHETTA, D.; ROBIM, M.J. Proposta de um sistema de trilhas para o Parque Estadual de Campos do Jordão. In: CONGRESSO NACIONAL SOBRE ESSÊNCIAS NATIVAS, 2. , Campos do Jordão, 1982. **Anais**. São Paulo: Instituto Florestal, 1992. p.964-970.
- AZIZ, T.; YUEN, J.E.; HABTE, M. Response of pineapple to mycorrhizal inoculation and fosetyl-Al treatment. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v. 21, p.19-20, 1990.
- BÅÅTH, E.; HAYMAN, D.S. Effect of soil volume and plant density on mycorrhizal infection and growth response. **Plant and Soil**, v.77, p.373-376, 1984.
- BARACHO, G.S. Propagação vegetativa em Bromeliaceae. **Bromélia**, v.4,n.2, p.23-28, 1997.
- BARBER, S.A. **Soil nutrient bioavailability**. New York: John Wiley, 1984. 378p.
- BARKER, S.; TAGU, D.; DELP, G. Regulation of root and fungal morphogenesis in mycorrhizal symbioses. **Plant Physiology**, v.116, p.1201-1207, 1998.

- BENZING, D.H. Vascular epiphytes: a survey with special reference to their interactions with other organisms. In: SUTTON, S.L.; WHITMORE, T.C.; CHADWICK, A.C. (Ed.), **Tropical rain forest: ecology and management**. Oxford: Blackwell Scientific, 1983. v.2, p.11-24.
- BENZING, D.H. **Vascular epiphytes: general biology and related biota**. Cambridge: Cambridge University Press, 1990. 354 p.
- BENZING, D.H. Aerial roots and their environments. In: WEISEL, Y.; ESHEL, A.; KAFKAFI, U. (Ed.) **Plant roots: the hidden half**. New York: Marcel Dekker, 1996. p.875-894.
- BENZING, D.H.; RENFROW, A. The mineral nutrition of Bromeliaceae. **Botanical Gazette**, v.135, n.4, p.281-288, 1974.
- BENZING, D.H.; SEEMAN, J.; RENFROW, A. The foliar epidermis in Tillandsioideae (Bromeliaceae) and its role in habitat selection. **American Journal of Botany**, v.65, p.359-365, 1978.
- BETHLENFALVAY, G.J.; PACOVSKY, R.S. Light effects in mycorrhizal soybeans. **Plant Physiology**, v.73, p.969-972, 1983.
- BETHLENFALVAY, G.J.; BROWN, M.S.; PACOVSKY, R.S. Parasitic and mutualistic associations between a mycorrhizal fungus and soybean: Development of the host plant. **Phytopathology**, v.72, p.889-893, 1982a.
- BETHLENFALVAY, G.J.; DAKESSIAN, S.; PACOVSKY, R.S. Mycorrhizae in a southern California desert: ecological implications. **Canadian Journal of Botany**, v.62, p.519-524, 1984.
- BETHLENFALVAY, G.J.; PACOVSKY, R.S.; BROWN, M.S. Parasitic and mutualistic associations between a mycorrhizal fungus and soybean: development of the endophyte. **Phytopathology**, v.72, p.894-897, 1982b.
- BETHLENFALVAY, G.J.; PACOVSKY, R.S.; BROWN, M.S.; FULLER, G. Mycotrophic growth and mutualistic development of host plant and fungal endophyte in an endomycorrhizal symbiosis. **Plant and Soil**, v.68, p.43-54, 1982c.
- BIOLAND. <http://www.bioland.com.br> (05 out.2001)

- 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.
- BONFANTE-FASOLO, P. Anatomy and morphology of VA mycorrhizae. In: POWELL, C.L.; BAGYARAR, P.J. (Ed.). **VA mycorrhiza**. Boca Raton: CRC Press, 1984, p.5-53.
- BRAGG, N.C.; WALKER, J.A.R.; STENTIFORD, E. The use of composted refuse and sewage as substrate additives for container grown plants. **Acta Horticulturae**, v.342, p.155-165, 1993.
- BRASIL. Leis, decretos, etc. Resolução SMA, n. 28, de 27 de março de 1998. **Diário Oficial**, 28.mar.1998. Seção I, p. 1-40. Dispõe sobre os planos de manejo das Unidades de Conservação.
- BRIGHIGNA, L.; MONAINI, P.; FAVILLI, F.; TREJO, A.C. Role of nitrogen-fixing bacterial microflora in the epiphytism of *Tillandsia* (Bromeliaceae). **American Journal of Botany**, v.79, n.7, p.723-727, 1992.
- BROWER, J.E.; ZAR, J.H. **Field and laboratory methods for general ecology**. 2 ed. New York: W.C. Brown, 1984. 226 p.
- BUSSLER, W. Physiological functions and utilization of copper. In: LONERAGEN, J.F. (Ed.) **Copper in plants**. Sydney: Academic Press, 1981. p.213-234.
- CAMARGO, M.N.; KLAMT, E.; KAUFMAN, J.H. Sistema Brasileiro de classificação de solos. **Boletim Informativo da Sociedade Brasileira de Ciências do Solo**, v.12, n.1, p.11-33, 1987.
- CARNEIRO, L.A. Controle da morfogênese *in vitro* de três espécies de bromélias endêmicas do sudeste brasileiro. Piracicaba, 1997. 87 p. Thesis (Doutorado) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo.
- CARVALHO, P. C. T.; BARRAL, M.F. Aplicação de lodo de esgoto como fertilizante. **Fertilizantes**, v.3, n.2, p. 3-5, 1981.

- CHÁVEZ, MC.G.; FERRERA-CERRATO, R. Effect of vesicular-arbuscular mycorrhizae on tissue culture-derived plantlets of strawberry. **HortScience**, v.25, n.8, p.903-905, 1990.
- CROWLEY, D.E.; MARONEK, D.M.; HENDRIX, J.W. Fertility mycorrhizal interactions on container-grown *Pinus echinata*. **Horticultural Science**, v.16, p.430-435, 1981.
- DICKSON, S.; SMITH, S.E.; SMITH, F.A. Characterization of two arbuscular mycorrhizal fungi in symbiosis with *Allium porrum*: colonization, plant growth and phosphate uptake. **New Phytologist**, v.144, p.163-172, 1999.
- DIRR, M.A.; HEUSE JR., C.W. **The reference manual of woody plant propagation**. Athens: Varsity Press, 1987. 239p.
- DOUDS, D.D.; GALVEZ, L.; BÉCARD, G.; KAPULNIK, Y. Regulation of arbuscular mycorrhizal development by plant host and fungus species in alfalfa. **New Phytologist**, v.138, p.27-35, 1998.
- ECOSOLO. <http://www.ecosolo.com.br> (11 out.2001)
- Embrapa. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. Brasília: EMBRAPA. 1999. 412p.
- ESTRADA-LUNA, A.A.; DAVIES Jr., F.T.; EGILLA, J.N. Mycorrhizal fungi enhancement of growth and gas exchange of micropropagated guava plantlets (*Psidium guajava* L.) during *ex vitro* acclimatization and plant establishment. **Mycorrhiza**, v.10, p.1-8, 2000.
- FITZPATRICK, G.E.; VERKADE, S.D. Substrate influence on compost efficacy as a nursery growing medium. **Proceedings of the Florida State for Horticultural Society**, v.104, p. 308-310, 1991.
- FOX, R.L.; BOSSHART, R.P.; SOMPONGSE, D.; LIN, M.L. Phosphorus requirements for sustainable agriculture in Asia and Oceania. In: SYMPOSIUM PROCEEDINGS, Manila, 1989. **Proceedings**. Manila: International Rice Research Institute (IRRI), 1990. p.409-425.

- FOLLIOU, M.; MARCHAL, J. Influence du support de culture sur la vitesse de croissance des vitroplants d'*Ananas* em phase d'acclimatation. **Fruits**, v.45, n.4, p.367-376, 1990.
- FRANCIS, R.; FINLAY, R.D.; READ, D.J. Vesicular-arbuscular mycorrhiza in natural vegetation systems. IV. Transfer of nutrients in inter - and intra – specific combinations of host plants. **New Phytologist**, v.102, p.103-111, 1986.
- FRIES, L.L.M. Physiological alterations in mycorrhizal plants as affected by phenolic compounds. Michigan, 1995. 135 p. Thesis (Doctor) – Michigan State University.
- FRIES, L.L.M.; PACOVSKY, R.S.; SAFIR, G.R. Influence of phosphorus and formononetin on isozyme expression in the *Zea mays* – *Glomus intraradices* symbiosis. **Physiologia Plantarum**, v.103, p.172-180, 1998.
- GADELHA, R.S. de S.; VIEIRA, A.; GOES, A. de; LIBECK, L.T.; COSTA, R.A. Utilização de lixo fermentado, na cultura do abacaxi. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 23, n.5, p.477-479, 1988.
- GANGE, A..C. ; AYRES, R.L. On the relation between arbuscular mycorrhizal colonization and plant 'benefit'. **Oikos**, v.87, n.3, p. 615-621, 1999.
- GERDEMANN, J.W.; NICOLSON, T.H. Spores of mycorrhizal *Endogone* species, extracted from soil by wet-sieving and decanting. **Transactions of British Mycological Society**, v.46, p.235-244, 1963.
- GIANINAZZI, S.; TROUVELOT, A. GIANINAZZI-PEARSON, V. Role and use of mycorrhizas in horticultural crop production. In: INTERNATIONAL HORTICULTURAL CONGRESS, 23. Florence, 1990. **Plenary Lectures**. Florence: Internacional Society of Horticultural Science, 1990. p.25-30.
- GIANINAZZI-PEARSON, V. Plant cell responses to arbuscular mycorrhizal fungi: getting to the root of the symbiosis. **Plant Cell**, v.8, p.1871-1883, 1996.
- GIANINAZZI-PEARSON, V.; GIANINAZZI, S. The physiology of vesicular-arbuscular mycorrhizal roots. **Plant and Soil**, v.71, p.197-209, 1983.

- GIOVANNETTI, M.; MOSSE, B. An evaluation of techniques for measuring vesicular-arbuscular mycorrhizal infection in roots. **New Phytologist**, v.84, p.484-500, 1980.
- GLINSKI, J.; STEPNIEWSKI, W. **Soil aeration and its role for plants**. Boca Raton: CRC Press, 1985. 229 p.
- GOMES, S.P.; TRUFEM, S.F.B. Fungos micorrízicos arbusculares (Glomales, Zygomycota) na ilha dos Eucaliptos, Represa do Guarapiranga, São Paulo, SP. **Acta Botanica Brasilica**, v.12, n.3, p.349-532, 1998.
- GRAHAM, J.H. Interactions of mycorrhizal fungi with soilborne plant pathogens and other organisms: an introduction. **New Phytologist**, v.78, n.3, p.183-189, 1988.
- GRANDI, R.A.P.; TRUFEM, S.F.B. Fungos micorrízicos vesículo-arbusculares em Marantaceae cultivadas no Instituto de Botânica, São Paulo, SP. **Revista Brasileira de Botânica**, v.14, p.89-95, 1991.
- GUEDES, M.C. Efeito do lodo de esgoto (biossólido) sobre a nutrição, ciclagem de nutrientes e crescimento de sub-bosque, em plantação de eucalipto. Piracicaba, SP, 2000, 74 p. Dissertação (Mestrado) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo.
- GUILLEMIN, J.P.; GIANINAZZI, S.; GIANINAZZI-PEARSON, V. L'endomycorhization de vitroplants d'*Ananas comosus*: mise en évidence d'un effet mycorhizien. **Fruits, Ananas**, número especial, p.355-359, 1991.
- GUILLEMIN, J.P.; GIANINAZZI, S.; GIANINAZZI-PEARSON, V. Endomycorrhiza biotechnology and micropropagated pineapple (*Ananas comosus* (L.) Merr.). **Acta Horticulturae**, n.425, p.267-275, 1997.
- GUILLEMIN, J.P.; GIANINAZZI, S.; TROUVELOT, A. Screening of arbuscular endomycorrhizal fungi for establishment of micropropagated pineapple plants. **Agronomie**, v.12, n.10, p.831-836, 1992.

- GUILLEMIN, J.P.; GIANINAZZI, S.; GIANINAZZI-PEARSON, V.; MARCHAL, J. Control by arbuscular endomycorrhizae of *Pratylenchus brachyurus* in pineapple microplants. **Agricultural Science in Finland**, v.3, n.3, p.253-262, 1994.
- GUILLEMIN, J.P.; OROZCO, M.O.; GIANINAZZI-PEARSON, V.; GIANINAZZI, S. Influence of phosphate fertilization on fungal alkaline-phosphatase and succinate-dehydrogenase activities in arbuscular mycorrhiza of soybean and pineapple. **Agriculture Ecosystems & Environment**, v.553, n.1, p.63-69, 1995.
- HARLEY, J.L.; SMITH, S.E. **Mycorrhizal symbioses**. London: Academic Press, 1983. 791p.
- HARRIS, D.; PACOVSKY, R.S.; PAUL, E.A. Carbon economy of soybean-*Rhizobium-Glomus* associations. **New Phytologist**, v.101, p.427-440, 1985.
- HART, J.B.; NGUYEN, P.V.; URIE, D.H.; BROCKWAY, D.G. Silvicultural use of wastewater sludge. **Journal of Forestry**, v.86, n.8, p.17-24, 1988.
- HARTMANN, H.T.; KESTER, D.E.; DAVIES, F.T. **Plant propagation: principles and practices**. New Jersey: Prentice Hall, 1991. p.15-53.
- HASELWANDTER, K.; BOWEN, G.D. Mycorrhizal relations in trees for agroforestry and land rehabilitation. **Forest Ecology and Management**, v.81, p.1-17, 1996.
- HIRIMBUREGAMA, K.; WIJESINGUE, L.P.J. *In vitro* growth of *Ananas comosus* L. Merr. (Pineapple) shoot apices on different media. **Acta Horticulturae**, n.319, p.203-208, 1992.
- HOAGLAND, D.R.; ARNON, D.I. The water culture methods of growing plants without soil. **Circular of the California Agricultural Experimental Station**, n. 347, p.1-32, 1950.
- INGELMO, F.; CANET, R.; IBAÑEZ, M.A.; POMARES, F.; GARCÍA, J. Use of MSW compost, dried sewage sludge and other wastes as partial substitutes for peat and soil. **Bioresource Technology**, v.63, p.123-129, 1998.
- INSTITUTO FLORESTAL. <http://www.iflorestsp.br/unidades.htm> (15 nov. 2001).

- IWATA, S.; TABUCHI, T.; WARKENTIN, B.P. **Soil-water interactions**. New York: Marcel Dekker, 1988. 341p.
- JACOBSEN, I.; ROSENDAHL, L. Carbon flux into soil and external hyphae from roots of mycorrhizal cucumber plants. **New Phytologist**, v.115, n.1, p.77-83, 1990.
- JAIZME-VEGA, M.C.; AZCÓN, R. Effect of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi on pineapple [*Ananas comosus* (L.) Merr.] in the Canary Islands. **Fruits**, v.46, n.1, p. 47-50, 1991.
- JAIZME-VEGA, M.C.; AZCÓN, R. Responses of some tropical and subtropical cultures to endomycorrhizal fungi. **Mycorrhiza**, v.5, n.3, p.213-217, 1995.
- JENKINS, W.R. A rapid centrifugal-flotation technique for separating nematodes from soils. **Plant Disease Reporter**, v.48, p.692, 1964.
- KÄMPF, A.N. Argila expandida: um bom substrato para bromélias em vaso. **Bromélia**, v.2, n.3, p.10-14, 1995.
- KANASHIRO, S. Efeitos de diferentes substratos na produção da espécie *Aechmea fasciata* (Lindley) Baker em vasos. Piracicaba, 1999. 79 p. Dissertação (Mestrado) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo.
- KIEHL, E.J. **Manual de Compostagem**. Maturação e qualidade do composto. Piracicaba: E.J. Kiehl, 1998. 171 p.
- KNUDSON, L. A new solution for germination of orchid seed. **American Orchids Society Bulletin**, v. 15, p.214-217, 1946.
- KOIDE, R.T.; LI, M. On host regulation of the vesicular-arbuscular mycorrhizal symbiosis. **New Phytologist**, v.114, p.59-64, 1990.
- KOIDE, R.T.; SCHREINER, R.P. Regulation of the vesicular-arbuscular mycorrhizal symbiosis. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, v.43, p.557-581, 1992.

- KORMANIK , P.P.; McGRAW, A.-C. Quantification of vesicular-arbuscular mycorrhizae in plant roots. In: SCHENK, N.C. (Ed.) **Methods and principles of mycorrhizal research**. St. Paul: The American Phytopathological Society, 1984. p. 37-45.
- KOSKE, R.E.; GEMMA, J.N. A modified procedure for staining roots to detect VA mycorrhizas. **Mycology Research**, v. 92, n.4, p.486-505, 1989.
- LAMANNA, D.; CASTELNUOVO, M.; D'ANGELO, G. Compost-based media as alternative to peat on ten pot ornamentals. **Acta Horticulturae**, n.294, p.125-129, 1991.
- LEME, E.M.C. Bromélias. **Ciência Hoje**, v.3, n.14, p.66-72, 1984.
- LEME, E.M.C. **Canistrum**: bromélias da Mata Atlântica. Rio de Janeiro: Salamandra Consultoria Editorial, 1997. 107 p.
- LEME, E.M.C.; MARIGO, L.C. **Bromélias na natureza**. Rio de Janeiro: Marigo Comunicação Visual, 1993. 183 p.
- LE MOS, R.C. de; SANTOS, R.D. dos. **Manual de descrição e coleta de solo no campo**. 3. ed. Campinas: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 1996. 83p.
- LE TACON, F.; GARBAYE, J.; CARR, G. The use of mycorrhizas in Temperate and tropical forests. In: IUFRO WOURLD CONGRESS, 18. Ljubljana, 1986. **Proceedings**. Ljubljana: IUFRO, 1986. v.1/2, p.513-524.
- LOPES, E.S.; SIQUEIRA, J.O.; ZAMBOLIM, L. Caracterização das Micorrizas vesicular-arbusculares (MVA) e seus efeitos no crescimento das plantas. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.7, n.1, p.1-19, 1983.
- LOVATO, P.; GUILLEMIN, J.P.; GIANINAZZI, S. Application of commercial Arbuscular endomycorrhizal fungal inoculants to the establishment of micropropagated grapevine rootstock and pineapple plants. **Agronomie**, v.12, p.873-880, 1992.

- LOVATO, P.E.; SCHUEPP, H.; TROUVELOT, A.; GIANINAZZI, S. Application of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) in orchards and ornamental plants. In: VARMA, A.; HOCK, B. (Ed.) **Mycorrhizas**: structure, function, molecular biology and biotechnology. Heidelberg: Springer. 1995. p. 443-467.
- MACDONALD, B. **Practical woody plant propagation for nursery growers**. Oregon: Timber Press, 1993. v.1, 669 p.
- MALAVOLTA, E.; VITTI, G.C.; de OLIVEIRA, S.A. **Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações**. Piracicaba: Associação Brasileira para Pesquisa da Potassa e do Fosfato, 1989. 201 p.
- MARQUESINI, M.P.S. **Relatório do projeto “Manejo de populações naturais de caixeta – *Tabebuia cassinoides* (LAM) DC**. Piracicaba: NUPAUB, ESALQ, 1994. 48 p. (Relatório de Projeto)
- MARSCHNER, H. **Mineral nutrition of higher plants**. 2.ed. San Diego: Academic Press, 1995. 674p.
- MARTIN, G.E. Physiological ecology of the Bromeliaceae. **The Botanical Review**, v.60, n.1, p.1-82, 1994.
- MARX, D.H.; MORRIS, W.G.; MEXAL, J.G. Growth and ectomycorrhizal development of Loblolly Pine seedlings in fumigated and non-fumigated nursery soil infested with different fungal symbionts. **Forest Science**, v.24, p.193-203, 1978.
- MATOS, R.M.B.; da SILVA, E.M.R. Effect of inoculation by arbuscular mycorrhizal fungi on the growth of micropropagated pineapple plants. **Fruits**, v.45, n.2, p.115-119, 1996.
- MATTEO, B.C., Preservação da biodiversidade: restabelecimento de espécies vegetais da família Bromeliaceae em áreas degradadas na Amazônia Central. In: SIMPÓSIO SUL-AMERICANO, 1.; SIMPÓSIO NACIONAL SOBRE RECUPERAÇÃO DE ÁREAS DEGRADADAS, 2., Curitiba, 1994. **Anais**. Curitiba: Fundação de Pesquisas Florestais do Paraná, 1994. p.666.
- MEDINA, E. Eco-fisiologia y evolucion de las Bromeliaceae. **Boletín de la Academia Nacional de Ciencias. Córdoba**, t. 59, p.71-100, 1990.

- MENESCAL, R. Reprodução de bromélias por sementes. **Revista da Sociedade Brasileira de Bromélias**, v.1, n.4, p.8-10, 1994.
- MERCIER, H.; GUERREIRO FILHO, O. Propagação sexuada de algumas bromélias nativas da Mata Atlântica: efeito de luz e temperatura na germinação. **Hoehnea**, v.17, n.2, p.19-26, 1990.
- MERCIER, H.; KERBAUY, G.B. *In vitro* multiplication of *Vriesea fosteriana*. **Plant Cell Tissue and Organ Culture**, v.30, n.3, p.247-249, 1992.
- MERCIER, H.; KERBAUY, G.B. Micropropagation of ornamental bromeliads (Bromeliaceae). In: BAJA, Y.P.S. (Ed.) **Biotechnology in agriculture and forestry. Hightech and micropropagation**. Berlin: Springer-Verlag, 1997. p. 43-57.
- MESQUITA, H.G.; MATTEO, B.C. A náide de *Leptagrion beebeanum* Calvert, 1948 (Odonata: Pseudagrioninae). In: CONGRESSO LATINO AMERICANO DE ZOOLOGIA, 12.; CONGRESSO BRASILEIRO DE ZOOLOGIA, 19. Belém, 1992. **Resumos**. Belém: William Leslie, 1992. p.79.
- MIYAZAKI, T. **Water flow in soils**. New York: Marcel Dekker, 1993. 296p.
- MONTICELLI, S.; PUPPI, G.; DAMIANO, C. Effects on *in vivo* mycorrhization on micropropagated fruit tree rootstocks. **Applied Soil Ecology**, v.15, p.105-111, 2000.
- MORTON, J.B. **Evolution of fungi in Glomales** http://invam.caf.wvu.edu/Myc_Info/Taxonomy/concepts/concepts.htm (30 out. 2001)
- MORTON, J.B.; BENNY, G.L. Revised classification of arbuscular mycorrhizal fungi (Zygomycetes); New order, Glomales, two new suborders, Glominae and Gigasporinae, and two new families, Acaulosporaceae and Gigasporaceae, with an emendation of Glomaceae. **Mycotaxon**, v.37, p.471-491, 1990.
- MORTON, J.B.; BENTIVENGA, S.P. Levels of diversity in endomycorrhizal fungi (Glomales, Zygomycetes) and their role in defining taxonomic and non-taxonomic groups. **Plant and Soil**, v.159, p.47-59, 1994.

- 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**, v.48, p.491-528, 1993.
- MOSSE, B.; STRIBLEY, D.P.; LeTACON, F. Ecology of mycohizae and mycorrhizal fungi. In : ALEXANDER, M. (Ed.) **Advances in microbial ecology**. New York: Plenum Press, 1981. v.5, p.137-210.
- MUCHOVEJ, R.M.C.; PACOVSKY, R.S. Future directions of by-products and wastes in agriculture. In: RECHCIGL, J.E.; MACKINNON, H.C. (Ed.) **Agricultural uses of by-products and wastes**. Washington: American Chemical Society, 1997. p. 1-19.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, v.15, p.473-497, 1962.
- NADKARNI, N.M. The nutritional effects on host trees with special reference to alteration of precipitation chemistry. **Selbyana**, v.9, p. 44-51, 1986.
- NEWMAN, E.I.; REDDELL, P. The distribution of mycorrhizas among families of vascular plants. **New Phytologist**, v.106, p.745-751, 1987.
- NOGUEIRA, M.A. Colonização radicular e produção de micélio externo por duas espécies de fungos micorrízicos arbusculares em soja submetida a doses de fósforo. Piracicaba, 1997. 92p. Dissertação (Mestrado) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo.
- NOVAL. B. de la; FERNÁNDEZ; F.; HERRERA, R. Efecto del uso de micorriza arbuscular y combinaciones de substrato sobre el crecimiento y desarrollo de vitroplantas de piña. **Cultivos Tropicales**, v.16, n.1, p.19-22, 1995.
- OLIVEIRA, L.A. de; GUITTON, T.L.; MOREIRA, F.W. Relações entre as colonizações por fungos micorrízicos arbusculares e teores de nutrientes foliares em oito espécies florestais da Amazonia. **Acta Amazonica**, v.29, n.2, p.183-193, 1999.

- PACOVSKY, R.S. Metabolic differences in *Zea-Glomus-Azospirillum* symbioses. **Soil Biology and Biochemistry** v.21, p.953-960, 1989 a.
- PACOVSKY, R.S. Carbohydrate, protein and amino acid status of *Glycine-Glomus-Bradyrhizobium* symbioses. **Physiologia Plantarum**, v.75, p. 346-354, 1989b.
- PACOVSKY, R.S.; FULLER, G.; PAUL, E.A. Influence of soil on the interactions between endomycorrhizae and azospirillum on sorghum. **Soil Biology and Biochemistry**, v.17, n.4, p.525-5531, 1985.
- PACOVSKY, R.S.; FULLER, G.; STAFFORD, A.E. Nutrient and growth interactions in soybeans colonized with *Glomus fasciculatum* and *Rhizobium japonicum*. **Plant and Soil**, v.92, p.37-45, 1986.
- PAOLETTI, M.G.; TAYLOR, R.A.J.; STINNER, B.R.; STINNER, D.H.; BENZING, D.H. Diversity of soil fauna in the canopy and forest floor of a Venezuelan cloud forest. **Journal of Tropical Ecology**, v.7, p.373-383, 1991.
- PHILLIPS, J.M.; HAYMAN, D.S. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for assesment of infection. **Transactions of the British Mycological Society**, v.55, n.1, p.158-161, 1970.
- PIMENTEL-GOMES, F. **Curso de estatística experimental**. Piracicaba: Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 2000. 477p.
- PITTENDRIGH, C.S. The bromeliad-*Anopheles*-malaria complex in Trinidad. 1. The bromeliad flora. **Evolution**, v.2, p.58-89, 1948.
- RABATIN, S.C.; STINNER, B.R.; PAOLETTI, M.G. Vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi, particularly *Glomus tenue*, in Venezuelan bromeliad epiphytes. **Mycorrhiza**, v.4, n.1, p.17-20, 1993.
- RAIJ, B. van; QUAGGIO, J.A. **Métodos de análise de solo para fins de fertilidade**. Campinas: Instituto Agronômico, 1983. 31 p. (Boletim Técnico, 81).
- RAWAT, R.; MUKERJI, K.G. Vesicular arbuscular mycorrhizal association in sugarcane. **Phytomorphogy**, v.48, n.3, p.309-316, 1998.

- READ, D.J.; KOUICHEKI, H.K.; HODGSON, J. Vesicular-arbuscular mycorrhiza in natural vegetation systems. I. The occurrence of infection. **New Phytologist**, v.77, p.641-643, 1976.
- REDMAN, R.S.; DUNIGAN, D.D.; RODRIGUES, R. Fungal symbiosis from mutualism to parasitism: who controls the outcome, host or invader? **New Phytologist**, v.151, n.3, p.705-716, 2001.
- REEVE, M.J.; CARTER, A.D. Water release characteristics. In: SMITH, K.A.; MULLINS, C.E. (Ed.) **Soil analysis: physical methods**. New York: Marcel Dekker, 1991. p.111-160.
- REITZ, R. **Bromeliáceas e a malária – Bromélia Endêmica**. Itajaí: Herbário Barbosa Rodrigues, 1984. 808 p.
- REMY, W.; TAYLOR, N.S.; HAAS, H.; KERP, H. Four hundred million year old vesicular arbuscular mycorrhizae. **Proceedings of the Natural Academy of Science**, v.91, p.11841-11843, 1994.
- RICHARDS, P.W. **The tropical rain forest**. Cambridge: University Press, Cambridge, 1952. 450 p.
- ROCHA, C.F.D.; SLUYS, M.V.; ORNELLAS, A.B.; de SIQUEIRA, A.E.; CONDE, C.F.V.; BITTENCOURT, E.B.; OLIVEIRA, M.G.N.; BARROS, M.C.; MAGALHÃES, S.A.P. O efeito do fogo em populações naturais de *Vriesea neoglutinosa* em uma restinga relictas no Espírito Santo. **Bromélia**, v.3. n.1, p.16-26, 1997.
- RÖMHELD, V.; MARSCHNER, H. Function of micronutrients in plants. In: MORTVEDT, J.J.; COX, F.R.; SHUMAN, L.M.; WELCH, R.M. (Ed.) **Micronutrients in agriculture**. Madison: Soil Science Society of America, 1991. p.297-328.
- RORIZ, A. (Ed.). **Bromélias**. **Revista Natureza**, São Paulo: Editora Europa, 1988. 65 p.
- RUEHLE, J.L.; MARX, D.H. Fiber, food, fuel and fungal symbionts. **Science**, v.206, p.419-422, 1979.

- SAITO, M. Symbiotic exchange of nutrients in arbuscular mycorrhizas: transport and transfer of phosphorus. In: KAPULNIK, Y.; DOUDS, D.D. (Ed.) **Arbuscular mycorrhizas: physiology and function**. Dordrecht: Kluwer Academic, 2000. p.85-106.
- SANDERS, F.E.; SHEIKH, N.A. The development of vesicular-arbuscular mycorrhizal infection in plant root systems. **Plant and Soil**, v.71, p.223-246, 1983.
- SANTOS, A.L.; DE-SOUZA, F.A.; BERBARA, R.L.L.; GUERRA, J.G.M. Estabelecimento e capacidade infectiva de *Gigaspora margarita* e *Glomus Clarum* em solo sob erosão. **Acta Botanica Brasilica**, v.14, n.2, p.127-242, 2000.
- SANTOS, B.A.; SILVA, G.A.; MAIA, L.C.; ALVES, M.V. Mycorrhizae in Monocotyledonae of Northeast Brazil: Subclasses Alismatidae, Arecidae and Zingiberidae. **Mycorrhiza**, v.10, n.3, p.151-153, 2000.
- SANTOS, O.M.; VINHA, S.G. Ocorrência de micorrizas em árvores nativas do Sul da Bahia. 1. Estação Ecológica do Pau-brasil. **Revista Theobroma**, v.12, n.4, p.261-165, 1982.
- SARRUGE, J.R.; HAAG, H.P. **Análises químicas em plantas**. Piracicaba: ESALQ, 1974. 56 p.
- SCHELLENBAUM, L.; BERTA, G.; RAVOLANIRINA, F.; TISSERANT, B.; GIANINAZZI, S.; FITTER, A.H. Influence of endomycorrhizal infection on root morphology in a micropropagated woody plant species (*Vitis vinifera* L.). **Annals of Botany**, v.68, p.135-141, 1991.
- SCHENCK, N.C.; PÉREZ, Y. **Manual for the identification of VA mycorrhizal fungi**. 2. ed. Gainesville: University of Florida, IFAS, 1988. 241 p.
- SCHUBERT, A.; LUBRACO, G. Mycorrhizal inoculation enhances growth and nutrient uptake of micropropagated apple rootstocks during weaning in commercial substrates of high nutrient availability. **Applied Soil Ecology**, v.15, p.113-118, 2000.

- SCHWAB, S.M.; MENGE, J.A.; TINKER, P.B. Regulation of nutrient transfer between host and fungus in vesicular-arbuscular mycorrhizas. **New Phytologist**, v.117, p.387-398, 1991.
- SIEVERDING, E. **Vesicular-arbuscular mycorrhiza management in tropical agrosystems**. Eschborn, Technical Cooperation, Federal Republic of Germany, 1991. 371 p.
- SILVA, J.C. Saibro peneirado, uma nova opção de substrato. **Bromélia**, v.1, n.1, p. 30-31, 1994.
- SIQUEIRA, D.L. Crescimento e absorção de nutrientes pelo abaxizeiro *Ananas comosus* (L.) Merrill, em função de fósforo e de fungo micorrízico vesicular-arbuscular. Viçosa, 1994. 101p. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Viçosa.
- SIQUEIRA, D.L.; ZAMBOLIM, L.; CARDOSO, A.A. Crescimento vegetativo do abacaxizeiro, associado a fungos micorrízicos, com diferentes doses de fósforo. **Revista Ceres**, v.43, n.248, p.409-425, 1996.
- SMITH, F.A.; SMITH, S.E. Structural diversity in (vesicular) –arbuscular mycorrhizal fungi. **New Phytologist**, v.137, p.373-388, 1997.
- SMITH, L.B.; DOWNS, R.J. Pitcairnioidea (Bromeliaceae). **Flora Neotropica Monograph**, v. 14, n.1, p. 1-658, 1974.
- SMITH, L.B.; DOWNS, R.J. Tillandsioideae (Bromeliaceae). **Flora Neotropica Monograph**, v.14, n.2, p.663-1492, 1977.
- SMITH, L.B.; DOWNS, R.J. Bromelioideae (Bromeliaceae). **Flora Neotropica Monograph**, v.14. n.3, p. 1493-2142, 1979.
- SMITH, S.E.; GIANINAZZI-PEARSON, V. Physiological interactions between symbionts in vesicular-arbuscular mycorrhizal plants. **Annual Review of Plant Physiology and Molecular Biology**, v.39, p.221-244, 1988.
- SMITH, S.E.; READ, D.J. **Mycorrhizal symbiosis**. 2.ed. London: Academic Press, 1997.
- STADMÜLLER, T. **Los bosques nublados en el trópico húmedo**. San Jose: Catie, 1987. 85 p.

- STEEL, R.G.D.; TORRIE, J.H. **Principles and procedures of Statistics: a biometrical approach**. New York: McGraw-Hill, 1980. p.191.
- STUTZ, J.C.; MORTON, J.B. Successive pot cultures reveal high species richness of arbuscular endomycorrhizal fungi in arid ecosystems. **Canadian Journal of Botany**, v.74, p.1883-1889, 1996.
- SUGDEN, A.M.; ROBINS, R.J. Aspects of the ecology of vascular epiphytes in Colombian cloud forests. 1. The distribution of the epiphytic flora. **Biotropica**, v.11, p.173-188, 1979.
- SYLVIA, D.M. **Mycorrhizal symbiosis**. <http://www.ifas.ufl.edu/~dmsa/mycorrhiza.htm> (04 Jan. 1999)
- THIAGARAJAN, T.R.; AHMAD, M.H. Phosphatase activity and cytokinin content in cowpeas (*Vigna unguiculata*) inoculated with a vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus. **Biological Fertility of Soils**, v.17, p.51-56, 1994.
- TRUFEM, S.F.B. Fungos micorrízicos vesículo-arbusculares da Ilha do Cardoso, SP, Brasil. São Paulo, 1988. 358 p. Tese (Doutorado) - Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo.
- TRUFEM, S.F.B. Aspectos ecológicos de fungos micorrízicos vesículo-arbusculares da Mata Tropical Úmida da Ilha do Cardoso, SP, Brasil. **Acta Botanica Brasílica**, v.4, n.2, p.31-45, 1990.
- TRUFEM, S.F.B.; MALATINSKY, S.M.M. Fungos micorrízicos arbusculares de Melastomataceae e outras plantas nativas resistentes e sensíveis à poluição na Reserva Biológica do Alto da Serra de Paranapiacaba, SP, Brasil. **Hoehnea**, v.22, n.1/2, p.77-89, 1995.
- TRUFEM, S.F.B.; VIRIATO, A. Fungos micorrízicos vesículo-arbusculares da Reserva Biológica do Alto da Serra de Paranapiacaba, São Paulo, Brasil. **Revista Brasileira de Botânica**, v.13, p.49-54, 1990.
- TRUFEM, S.F.B.; GRANDI, R.A.P.; SILVEIRA, R.B.A. Fungos micorrízicos vesículo-arbusculares em plantas ornamentais do Jardim Botânico de São Paulo, SP. **Hoehnea**, v.17, n.1, p.85-89, 1990.

- TSYBULYA, N.V. Studies on the conditions for germinating seeds of bromeliads (Bromeliaceae). *Izvestiya Sibirskogo Otdeleniya Akademii Nauk SSSR, Biologicheskikh – Nauk*, n.2, p.71-74, 1989.
- WALKER, C.; DIEDERICHS, C. *Scutellospora scutata* sp. nov., a newly described endomycorrhizal fungus from Brazil. *Mycotaxon*, v.35, n.2, p.357-361, 1989.
- WANG, H.; PARENT, S.; GOSELIN, A.; DESJARDINS, Y. Vesicular-arbuscular mycorrhizal peat-based substrates enhance symbiosis establishment and growth of three micropropagated species. *Journal of American Society for Horticultural Science*, v.118, n.6, p.896-901, 1993.
- WHITTINGHAM, J.; READ, D.I. Vesicular-arbuscular mycorrhiza in natural vegetation systems. III. Nutrient transfer between plants with mycorrhizal interconnections. *New Phytologist*, v.90. p.277-283, 1982.
- WILCOX, H.E. Mycorrhizae. In: WAISEL, Y.; ESHEL, A.; KAFKAFI, U. *Plants roots*. New York: Marcel Dekker, 1996. 1002p.
- YANO-MELO, A.M.; SAGGIN JR., O.J.; ; LIMA-FILHO, J.M.; MELO, N.F.; MAIA, L.C. Effect of arbuscular mycorrhizal fungi on the acclimatization of micropropagated banana plantlets. *Mycorrhiza*, v.9, p.119-123, 1999.
- ZIMMER, K.; BESSLER, B.; VETT, D. Vegetative propagation of atmospheric tillandsias. II. *In vitro* propagation. *Gartenwissenschaft*, v.58, n.4, p.164-169, 1993.