

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE BOTÂNICA
PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA VEGETAL**

Eliane Maria Moratelli

**Disponibilidade de água e de luz no desenvolvimento e colonização
micorrízica de
Tabebuia avellanae Lorentz ex Griseb. (Bignoniaceae)**

Profa Dra Maria Terezinha Silveira Paulilo
BOT/CCB/UFSC - Orientadora

Profa Dra Marisa Santos
BOT/CCB/ UFSC - Co-Orientadora

Prof. Dr. Paulo Emílio Lovato
ENR/CCA/ UFSC - Co-Orientador

FLORIANÓPOLIS - SC, 2006

**Disponibilidade de água e de luz no desenvolvimento e colonização
micorrízica de
Tabebuia avellanedae Lorentz ex Griseb. (Bignoniaceae)**

ELIANE MARIA MORATELLI

Dissertação de mestrado apresentada como requisito parcial das exigências para obtenção do título de Mestre em Biologia Vegetal, do Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal, da Universidade Federal de Santa Catarina.

Profa Dra Maria Terezinha Silveira Paulilo
BOT/CCB/UFSC - Orientadora

Profa Dra Marisa Santos
BOT/CCB/ UFSC - Co-Orientadora

Prof. Dr. Paulo Emílio Lovato
ENR/CCA/ UFSC - Co-Orientador

FLORIANÓPOLIS – SC, 2006

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por ter tido forças para a conclusão deste trabalho!

Expresso aqui minha gratidão à professora Dra Maria Terezinha Paulilo pela orientação, paciência, bom humor e ensinamentos que sempre dedicou para a realização deste trabalho.

Ao professor Dr. Paulo Emílio Lovato pela orientação, praticidade, ensinamentos e pela liberdade no uso e disponibilização de equipamentos em seu Laboratório.

À professora Dra Marisa Santos pela orientação, atenção, incentivo e praticidade em resolver os problemas.

À minha família, pais, irmãos e sobrinhos pelo apoio e momentos de alegrias que mesmo à distância foram sempre fundamentais.

Aos colegas do Laboratório de Ecologia do Solo, Murilo Dalla Costa e a Fabiane Pereira pela amizade, orientação e auxílio direto na realização de testes experimentais e procedimentos para a visualização de micorrizas, bem como a paciência e disposição do Murilo nos ensinamentos estatísticos.

À amiga Marilda pela ajuda incansável na parte braçal na desmontagem do experimento e medições fisiológica das plantas.

Ao professor Dr. Luiz Carlos Pittol Martini do Laboratório de Geoprocessamento, pela confiança no empréstimo do planímetro, em época de greve.

Aos colegas, também do Laboratório de Ecologia do Solo, Marcelo, Blumenau (Marcos), André, Daniel e Maiara, pela amizade e descontração durante a realização dos experimentos.

Às colegas do Laboratório de Fisiologia Vegetal, Flávia, Talia, Taiza, Eunice, Daniela e Carla pela amizade, troca de conhecimentos e pelos momentos de alegrias.

Ao Amarildo pelo auxílio na confecção de todo o material experimental e por sua família maravilhosa.

À secretária Vera pela amizade e disposição em resolver os problemas.

Ao Programa de Pós-graduação em Biologia Vegetal da Universidade Federal de Santa Catarina, pela oportunidade de realização deste trabalho.

Em especial, ao meu marido Jaime Luiz, pelo seu carinho, compreensão e apoio durante todos os momentos destas atividades.

SUMÁRIO

RESUMO	6
ABSTRACT	7
1. INTRODUÇÃO	08
1.1. A Mata Atlântica.....	08
1.2. Regeneração de espécies em florestas tropicais.....	09
1.3. Influência da variação na intensidade de luz na morfologia e fisiologia das plantas	11
1.4. Influência da variação da disponibilidade de água na morfologia e fisiologia das plantas	12
1.5. Plasticidade das espécies vegetais em relação à disponibilidade de luz e água.....	13
1.6. Micorrizas e sua influência no crescimento de plantas.....	14
1.7. Influência da disponibilidade de luz e água na colonização micorrízica.....	17
1.8. <i>Tabebuia avellanae</i> dae Lorentz ex Griseb.....	18
2. OBJETIVOS	20
2.1. Objetivo Geral	20
2.2. Objetivos Específicos.....	20
3. MATERIAIS E MÉTODOS	21
3.1. Obtenção de plantas.....	21
3.2. Inoculação do substrato com fungos micorrízicos arbusculares.....	22
3.3. Condições experimentais para crescimento de plantas em diferentes intensidades de luz.....	23
3.4. Condições de crescimento de plantas em diferentes regimes de hidratação.....	25
3.5. Cálculo do teor de água do solo em capacidade de campo e em baixa disponibilidade de água.....	26
3.6. Medições e determinações.....	28

3.6.1. Área foliar, massa seca e altura das plantas.....	28
3.6.2. Cálculo da taxa de crescimento relativo e razão de área foliar.....	28
3.6.3. Determinação do teor de prolina.....	29
3.6.4. Determinação da densidade estomática.....	30
3.7. Determinação de colonização micorrízica.....	30
3.7.1. Clarificação e coloração de raízes.....	30
3.7.2. Quantificação da colonização micorrízica.....	31
3.8. Análise estatística dos dados.....	32
4. RESULTADOS.....	33
1. Influência da luz e da colonização por FMA no crescimento de plantas.....	33
2. Influência da disponibilidade de água e colonização por FMA no crescimento de plantas.....	37
3. Influência da intensidade de luz e estresse hídrico na colonização micorrízica.....	41
4. Morfologia das micorrizas.....	43
5. DISCUSSÃO.....	45
1. Plasticidade de plantas à variação na intensidade de luz.....	45
2. Plasticidade de plantas em função da variação na disponibilidade de água.....	47
3. Colonização micorrízica.....	49
4. Morfologia das micorrizas arbusculares (MA).....	52
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	54
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	56

RESUMO

A espécie *Tabebuia avellanae* Lorentz ex Griseb. (ipê-roxo; Bignoniaceae) é nativa da América, ocorrendo no Brasil em todo o domínio da Mata Atlântica e em parte da região Amazônica. Apresenta importância econômica, medicinal e ecológica, sendo de interesse a conservação desta espécie. Para estudos de conservação são importantes dados sobre a ecofisiologia da espécie. O objetivo deste trabalho foi analisar a influência dos fatores ambientais, água e luz, no desenvolvimento de plântulas e na colonização da espécie por fungos micorrízicos arbusculares (FMA). Para análise do efeito da intensidade luminosa sobre plantas, estas foram cultivadas sob 70, 50, 30 e 4% da luz solar incidente. Para análise do efeito da deficiência hídrica sobre o crescimento, parte das plântulas foi irrigada a cada dois dias (controle) e a outra parte foi submetida à suspensão da irrigação por um período de 20 dias. Estas plântulas receberam 44% (RFA máxima de $490 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) da luz solar incidente. Metade das plântulas de cada tratamento foi cultivada em solo misturado a 1 g de inóculo de FMA selecionados, das espécies *Glomus clarum* e *G. etunicatum*. A outra metade das plantas cresceu em solo contendo apenas FMA nativos. Os resultados dos experimentos mostraram que a 4% de luz solar, a colonização micorrízica foi praticamente nula, enquanto que a 70% de luz foi de 30% e 39 % para tratamentos com FMA nativos e selecionados, respectivamente. A biomassa total e de órgãos vegetais foi similar sob intensidades de luz de 30%, 50% e 70% da luz solar plena, mas significativamente maior que a 4% de luz. Sob estresse hídrico, a colonização micorrízica em plântulas foi significativamente maior. A concentração de prolina foi maior em plântulas sob estresse hídrico colonizadas por FMA selecionados que nas colonizadas por FMA nativos. As plântulas sob estresse hídrico, colonizadas por FMA nativos, apresentaram maior densidade estomática que as plântulas sob estresse hídrico colonizadas por FMA selecionados. As plântulas apresentaram micorrizas com morfologia do tipo *Arum* e do tipo *Paris* em mesmos indivíduos. Estes resultados permitiram inferir que: a) as plântulas apresentam plasticidade à variação de água e luz, o que favorece a sobrevivência e o estabelecimento da espécie em ambientes sub-ótimos para o máximo crescimento das plântulas, b) as plântulas apresentam considerável colonização micorrízica por fungos selecionados e nativos, indicando que a espécie é passível de ser submetida à inoculação em ambientes naturais, c) a colonização micorrízica de plântulas que ocorre em alta intensidade de luz seria vantajosa para o estabelecimento da espécie em clareiras, d) a colonização micorrízica sendo maior em estresse hídrico traria vantagens para o estabelecimento de plântulas em períodos mais secos e e) a colonização micorrízica por fungos selecionados se mostrou benéfica para minimizar os efeitos da deficiência hídrica, indicando a importância da inclusão de população de FMA mais eficiente em ambientes suscetíveis à seca.

Palavras-chave: *Tabebuia avellanae*, Bignoniaceae, crescimento, micorriza arbuscular, luz, estresse hídrico e Mata Atlântica.

ABSTRACT

Tabebuia avellanedae Lorentz ex Griseb. (ipê-roxo; Bignoniaceae) occurs in Brazilian Atlantic forest and Amazonian forest. The conservation studies about this species are very important because it's economical, medicinal and ecological importance. For conservation studies of plant species is important to know about its environmental physiology, including its dependence of mycorrhizal fungi. The objective of this work was to analyze the influence of water and light in seedlings development and in mycorrhizal colonization. Seedlings were grown under 70, 50, 30 and 4 % of sun light for light treatments and 44% of sun light for water stress treatment; being half of seedlings of each treatment inoculates with 1g of selected arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) *Glomus clarum* and *G. etunicatum*. The resting of the seedlings were grown in soil containing only native FMA. The water stress treatment was done leaving part of seedlings without irrigation during 20 days. Control plants were watered every two days. The results showed that mycorrhizal colonization was null under 4 % light, but expressive under 70 % light. The biomass was similar among the treatments of 30%, 50% and 70 % light, but significantly higher than the treatment of 4% of light. In water stressed seedlings mycorrhizal colonization was significantly higher than in control seedlings. Proline content was higher in seedlings under water stress colonized by selected AMF than in seedlings colonized by native AMF. Seedlings under water stress, colonized by native AMF, presented higher stomatal density then water stressed seedlings colonized by selected AMF. Mycorrhizal morphology showed by seedlings was both *Arum* type and *Paris* type. These results allowed to infer that: a) the seedlings presented plasticity to adjust to water and light variation, b) the seedlings presented considerable mycorrhizal colonization for selected and native AMF, indicating possibility of inoculation in natural environments, without suppression of the native AMF colonization, c) mycorrhizal colonization of plants in high light intensities would be advantageous for seedlings establishment in gaps, d) the higher mycorrhizal colonization showed by water stressed seedlings would bring advantages for the establishment of seedlings in drier periods, e) the mycorrhizal colonization showed for selected AMF can be beneficial to minimize the effects of the water stress, being interesting the inclusion of more efficient AMF populations in environments subject to the drought.

Key words: *Tabebuia avellanedae*, Bignoniaceae, growth arbuscular mycorrhizal, light, water stress and Atlantic forest.

1. INTRODUÇÃO

1.1. A Mata Atlântica

Dentre as florestas tropicais do mundo destaca-se no Brasil a Mata Atlântica, considerada uma das mais ricas em termos de diversidade biológica (BRASIL, 2002). Originalmente, a Mata Atlântica abrangia total ou parcialmente 17 estados brasileiros, situados ao longo da costa atlântica, do Rio Grande do Norte ao Rio Grande do Sul, além de parte dos Estados de Mato Grosso e Goiás, ocupando cerca de 12 % do território brasileiro (SCHÄFFER e PROCHNOW, 2002). Atualmente, encontra-se reduzida a 7 % de seu território original (BRASIL, 2002).

O Estado de Santa Catarina, originalmente coberto pela Mata Atlântica em sua maior parte, possui atualmente apenas 15 % de área coberta por esta floresta. E sua grande maioria, está na forma de fragmentos de florestas secundárias (floresta surgida da regeneração natural de espécies vegetais, após a destruição da floresta primária) e de poucos relictos de florestas primárias (floresta intocada ou aquela em que a ação humana não provocou significativas alterações de suas características originais de estrutura de espécies), sendo muitos deles bastante deturpados por cortes seletivos das madeiras mais nobres (BRASIL, 2002). Em razão das poucas áreas remanescentes de vegetação primária na Mata Atlântica, as florestas secundárias exercem hoje funções ambientais cruciais. O equilíbrio do clima, o seqüestro de carbono, a manutenção de mananciais de água que abastecem as cidades, o controle de pragas e doenças na agricultura e a manutenção e sobrevivência das muitas espécies da flora e da fauna (SCHÄFFER e PROCHNOW, 2002) dependem da preservação destes fragmentos florestais.

Embora, as florestas possuam uma capacidade de auto-regeneração que se dá pelo fornecimento de sementes de espécies florestais dos arredores, a destruição da Mata Atlântica ocorreu numa velocidade muito maior do que sua capacidade de auto-regeneração, uma vez

que os remanescentes florestais muitas vezes não estão próximos o suficiente para o fornecimento de sementes para a promoção da auto-regeneração (SCHÄFFER e PROCHNOW, 2002). Também o rápido declínio da fertilidade do solo, com deterioração das propriedades físicas, químicas e biológicas é um grande obstáculo para a regeneração natural da floresta e para os programas de restauração (ZANGARO *et al.*, 2003).

Quando a auto-regeneração é dificultada, a introdução de espécies constitui uma alternativa capaz de acelerar o processo sucessório, otimizando os recursos disponíveis na comunidade florestal e possibilitando o aumento da diversidade genética (REIS *et al.*, 1992).

1.2. Regeneração de espécies em florestas tropicais

A regeneração natural das espécies das florestas tropicais é afetada pelas condições ambientais presentes durante o estabelecimento das plântulas e pela capacidade das plântulas em resistir aos estresses ambientais. Em florestas tropicais, varia a disponibilidade de luz, água e nutrientes devido à sazonalidade climática, à densidade da vegetação e às condições do solo, circunstâncias que fazem desses fatores ambientais os que mais afetam o estabelecimento das plântulas neste ambiente (HAIG e WESTOBY, 1991; EVANS e EDWARDS, 2001). As condições de luz dentro de florestas tropicais estão relacionadas aos diferentes nichos, havendo ambientes bastante sombreados abaixo de dosséis densos (ambiente de sub-bosque), ambientes menos sombreados existentes em pequenas clareiras e ambientes bastante ensolarados, como os existentes em médias e grandes clareiras (CHAZDON e FETCHER, 1984; OSUNKOYA *et al.*, 1994). Em ambientes de sub-bosque a competição entre as raízes das árvores reduz substancialmente a quantidade de umidade do solo disponível para as plantas podendo o potencial de água do solo, chegar abaixo daquele que leva à murcha das plantas (PAIVA e POGGIANI, 2000).

Os nutrientes que mais limitam a produção vegetal em ambientes de agricultura ou de florestas é o nitrogênio e o fósforo (BOLAN, 1991; READ, 1997). A disponibilidade de nitrogênio pode variar de acordo com a variação de luz, por esta influenciar a mineralização do nitrogênio orgânico (LAMBERS *et al.*, 1998), enquanto o fósforo se encontra na maior parte na forma lábil, ou seja, apresenta-se adsorvido, precipitado ou convertido à forma orgânica (HOLFORD, 1997).

A associação entre fungos micorrízicos arbusculares (FMA) e espécies vegetais parece favorecer o estabelecimento de plantas, principalmente em ambientes com baixa disponibilidade de água, nitrogênio e fósforo, ou sob condições limitantes de luz (LOPES *et al.*, 1983; MOREIRA e SIQUEIRA, 2002). A intensidade de colonização e a efetividade da associação micorrízica dependem da espécie de fungo e da espécie vegetal. Portanto, os benefícios da associação micorrízica sobre uma determinada espécie vegetal estão relacionados ao tipo de comunidade de fungos presentes no local da germinação da semente (LOVELOCK *et al.*, 2003). Uma vez que a maior parte das áreas destinadas à restauração é constituída de solos de baixa fertilidade e de baixo potencial de inóculo de FMA, o conhecimento sobre a capacidade das espécies vegetais em formar simbioses com estes fungos do solo é de grande importância para dar suporte às pesquisas de introdução de mudas de essências nativas para a restauração de áreas degradadas (ZANGARO *et al.*, 2003).

Uma vez que estresse luminoso e hídrico e ausência de fungos micorrízicos podem diminuir as chances de estabelecimento de plântulas, uma espécie vegetal que possuir plasticidade morfológica e fisiológica para adequar-se às variações ambientais de luz e água, que for capaz de associar-se a uma ampla variedade de FMA e que obtiver benefícios destas associações, terá aumentada sua probabilidade de estabelecimento nos diferentes microsítios a que está sujeita uma floresta tropical. Por outro lado, nas áreas onde o potencial de colonização micorrízica for baixo, a revegetação pode ser facilitada pela inoculação das plântulas com

FMA antes do plantio no campo, garantindo maior diversidade de espécies (ZANGARO *et al.*, 2003).

1.3. Influência da variação na intensidade de luz na morfologia e fisiologia das plantas

Em função da intensidade de luz sob a qual desenvolvem, as plantas costumam ser classificadas em plantas de sol, quando crescem em áreas ensolaradas como as existentes em clareiras na mata, e plantas de sombra, quando crescem em locais sombreados, como aqueles sob denso dossel, os quais muitas vezes recebem apenas 1 % da luz solar incidente nos locais abertos (LEE *et al.*, 1996). As plantas de sol e sombra que são incapazes de se desenvolver em outro tipo de ambiente são chamadas de plantas de sol ou sombra obrigatórias (WHITMORE, 1990). As plantas de sol ou sombra facultativas possuem capacidade, dependendo do genótipo da espécie, de aclimatar-se às variações ambientais de intensidade luminosa (OSUNKOYA *et al.*, 1994).

Plantas de sol e sombra têm algumas características contrastantes em relação à anatomia e fisiologia. As de sol costumam ter as folhas mais espessas, com células do tecido paliçádico mais longas, ou várias camadas de tecido paliçádico, enquanto as de sombra possuem o tecido esponjoso mais desenvolvido que o paliçádico (LAMBERS *et al.*, 1998). No primeiro caso, as células paliçádicas, que possuem o formato de colunas, trazem os cloroplastos alinhados paralelamente às paredes longitudinais das células, diminuindo com isto a absorção de luz (LAMBERS *et al.*, 1998), já que luz em excesso pode causar a destruição de clorofila e diminuição da fotossíntese, fenômeno conhecido como fotoinibição (DEMMIG-ADAMS e ADAMS, 1996).

Já a maior proporção relativa de tecido esponjoso em relação ao paliçádico em folhas de plantas de sombra, leva ao aumento da absorção de luz devido ao espalhamento da luz (reflexão e refração da luz) neste tecido, que é formado por células irregulares guardando grandes espaços intercelulares (LAMBERS *et al.*, 1998). As folhas de plantas de sol possuem a razão área/volume menor que as folhas de plantas de sombra, o que diminui a transpiração em plantas de sol e aumenta a absorção de luz em plantas de sombra (POORTER, 1999).

A densidade estomática é maior em plantas de sol que nas de sombra, o que leva, nas primeiras, ao aumento de absorção de gás carbônico e à diminuição da transpiração (MALONE *et al.*, 1993). A razão entre raiz e parte aérea costuma ser maior nas plantas de sol que nas de sombra, característica que favorece a captação de água e nutrientes para a fotossíntese em plantas de sol e a captação de luz em plantas de sombra (POORTER, 1999).

Fisiologicamente, as plantas de sol possuem em relação às de sombra maior número de componentes relacionados à fotossíntese, como transportadores eletrônicos, enzimas do Ciclo de Calvin, carotenóides relacionados à proteção contra a fotoinibição, levando a uma maior capacidade fotossintética por área foliar (LAMBERS *et al.*, 1998). A quantidade de clorofila por cloroplasto e por massa seca costuma ser maior em plantas de sombra, o que favorece a captação de luz (GIVNISH, 1988).

1.4. Influência da variação da disponibilidade de água na morfologia e fisiologia das plantas

Muitos aspectos da morfologia de plantas de sol e sombra são similares, respectivamente aos de plantas de ambientes secos e de ambientes úmidos, uma vez que a alta intensidade luminosa eleva a evaporação de água do solo e a transpiração de plantas, tornando a disponibilidade de água um fator limitante como ocorre em ambientes secos. Folhas pequenas e grossas são adaptadas a ambientes secos e ambientes com alta intensidade de luz

(LAMBERS *et al.*, 1998). Este tipo de anatomia permite maior absorção de carbono e menor transpiração, pois a diminuição da área foliar é compensada pelo aumento da espessura da folha (CHAVES *et al.*, 2002). Uma menor área foliar, por proporcionar maior dissipação de calor, também neutraliza o aumento de temperatura da folha que ocorre com a diminuição da abertura estomática em plantas com limitação de água (LARCHER, 2000). Plantas sob limitação de água possuem menor taxa fotossintética que plantas com boa disponibilidade de água, devido à diminuição da abertura estomática que restringe a entrada de gás carbônico (POORTER, 1999). A deficiência hídrica costuma afetar mais o crescimento de parte aérea do que o de raiz (HSIAO e XU, 2000).

1.5. Plasticidade das espécies vegetais em relação à disponibilidade de luz e água

A maioria das plantas apresenta, em maior ou menor grau, plasticidade para acomodar-se às variações da intensidade de luz (KITAJIMA, 1996) e água (LAMBERS *et al.* 1998). Tal plasticidade visa maximizar o crescimento do vegetal nas condições ambientais apresentadas (POPMA e BONGERS, 1991). Entre as principais mudanças que costumam ocorrer nas plantas devido à variação de luz estão alterações na espessura e na área das folhas, na densidade e no tamanho dos estômatos (LEE *et al.*, 2000), na alocação de biomassa entre raízes e parte aérea (OSUNKOYA *et al.*, 1994), na altura do caule (POORTER, 1999) e no potencial osmótico das células (AUGÉ *et al.*, 1987), tornando as plantas com características de plantas de sol ou de sombra, dependendo do ambiente em que estão crescendo, se ensolarado ou sombrio, respectivamente.

A plasticidade apresentada pelas plantas à diminuição na disponibilidade de água visa maximizar a absorção de água e reduzir a transpiração (POORTER, 1999). Estes efeitos podem ser alcançados pelo maior desenvolvimento da raiz em comprimento (FITTER e HAY, 1987), pelo maior investimento de biomassa para a raiz em relação à parte aérea (PEREIRA e

PALLARDI, 1989), pela diminuição da expansão celular, pelo aumento da densidade estomática (STEINBERG *et al.*, 1990), pela alteração no potencial osmótico de células através do acúmulo de substâncias solúveis como a prolina no vacúolo celular (AUGÉ, 2001; RUIZ-LOZANO, 2003), tornando as plantas com características de plantas de ambiente seco.

1.6. Micorrizas e sua influência no crescimento de plantas

As micorrizas são associações mutualísticas entre raízes de plantas e determinados fungos do solo, nas quais a planta fornece carboidratos, vitaminas e aminoácidos para os fungos e estes, nutrientes minerais às plantas, especialmente fósforo (EVANS e EDWARDS, 2001). A associação micorrízica também pode conferir aos vegetais, resistência contra estresses ambientais como baixa fertilidade do solo, excesso ou falta de luz e períodos de seca (SMITH e READ, 1997).

As micorrizas podem ser classificadas em endomicorrizas, ectomicorrizas e ectoendomicorrizas. As ectomicorrizas e as endomicorrizas do tipo arbuscular são as mais comuns e as mais relevantes economicamente. As primeiras são mais importantes em florestas de clima temperado, enquanto que as segundas predominam em florestas tropicais (CARNEIRO *et al.*, 1998). Estima-se que mais de 80% das famílias de plantas formam normalmente simbioses do tipo micorriza arbuscular (SMITH e GIANINAZZI-PEARSON, 1988).

As micorrizas arbusculares (MA) são associações entre raízes e certos fungos do filo Glomeromycota, das ordens Archaeosporales, Paraglomerales, Diversisporales e Glomerales, abrangem cerca de 150 espécies divididas em quatro famílias: Acaulosporaceae, Diversisporaceae, Glomeraceae (*Glomus*-grupo A e *Glomus*-grupo B) e Gigasporaceae (SCHUSSLER *et al.*, 2001). Há indícios de que as MA surgiram há cerca de 400 milhões de

anos, período que coincide com o aparecimento das primeiras plantas terrestres (PIROZYNSKI e MALLOCH, 1975).

Para o desenvolvimento de MA, após o reconhecimento entre as raízes do vegetal hospedeiro e o FMA, as hifas do fungo formam apressórios que se aderem à superfície das raízes da planta hospedeira, facilitando a penetração do fungo no tecido cortical da raiz (SMITH e GIANINAZZI-PEARSON, 1988; HARRISON, 1999). No córtex radicular, as hifas podem ocupar os espaços intra ou extracelulares e desenvolver estruturas denominadas arbúsculos e vesículas (SMITH e GIANINAZZI-PEARSON, 1988). Os arbúsculos são estruturas apresentando várias ramificações dicotômicas curtas assemelhando-se a arvoretas, originando-se daí o nome da estrutura (MCGONIGLE *et al.*, 1999). Eles são considerados os sítios de troca de nutrientes entre os simbioses, uma vez que devido a invaginações da membrana plasmática das células do vegetal em torno das hifas do fungo representam uma grande área de interface entre FMA e a planta (BIERMANN e LINDERMAN, 1983; SMITH e GIANINAZZI-PEARSON, 1988). Vesículas são estruturas formadas somente pelas espécies das famílias Glomaceae e Acaulosporaceae e constituem-se em evaginações das hifas, geralmente globosas, tendo a função de acumular reservas (BIERMANN e LINDERMAN, 1983).

A morfologia de micorrizas arbusculares (MA) tem sido classificada em dois tipos, *Arum* e *Paris*, denominação decorrente do fato de estes tipos terem sido descritos pela primeira vez nas espécies *Arum maculatum* e *Paris quadrifolia*, respectivamente (Gallaud 1905, *apud* CAVAGNARO *et al.*, 2001). As MA do tipo *Arum* são caracterizadas por apresentarem hifas intercelulares e arbúsculos intracelulares e as do tipo *Paris*, caracterizadas por apresentarem hifas intracelulares enoveladas (*coils*) com poucos arbúsculos (CAVAGNARO *et al.*, 2001; GROSS *et al.*, 2003) As espécies que apresentam MA do tipo *Arum* são, em sua maioria, herbáceas cultivadas, enquanto que as espécies que apresentam MA do tipo *Paris* são

predominantemente selvagens (SMITH e SMITH, 1997). Há ainda espécies vegetais que apresentam MA com morfologia intermediária entre os tipos *Arum* e *Paris*, apresentando tanto hifas intracelulares enoveladas, como ocorre na morfologia *Paris*, mas também hifas extracelulares características da morfologia *Arum* (SMITH e SMITH, 1997). O que determina um tipo ou outro de morfologia ainda não está bem esclarecido, havendo evidências da importância tanto do taxon a que a espécie de planta pertence (SMITH e SMITH, 1997), como da espécie de fungo que forma a associação (CAVAGNARO *et al.*, 2001). A presença ou ausência de espaços intercelulares no córtex radicular de espécies vegetais estaria associada a este tipo de morfologia. Quando as hifas crescem longitudinalmente por entre espaços intercelulares contíguos, forma-se a morfologia tipo *Arum*, quando não há espaços intercelulares as hifas se expandem entrelaçando-se, formando o enovelamento (*coil*) da morfologia tipo *Paris* (BRUNDRETT e KENDRICK, 1990).

A colonização micorrízica parece afetar as relações hídricas da planta (AUGÉ, 2004). Em condições de deficiência hídrica as micorrizas influenciam na modificação da condutividade hidráulica (AUGÉ, 2004), condutância estomática (DAVIES *et al.*, 1992; GOICOECHEA *et al.*, 1997), ajustamento osmótico (AUGÉ, 2001), desenvolvimento extraradicular de hifas (DAVIES *et al.*, 1992), produção de fitohormônios (GOICOECHEA *et al.*, 1997), maior espessamento das paredes celulares através do aumento da produção de lignina (AUGÉ *et al.*, 1987) ou a agregação do solo pelos fungos micorrízicos, preservando a continuidade hidráulica dos solos secos (AUGÉ, 2001).

Os efeitos da intensidade luminosa podem afetar os níveis de colonização micorrízica e as respostas de crescimento de plantas (SMITH e GIANINAZZI-PEARSON, 1990). Quando o recurso limitante é a luz, as alterações que ocorrem estarão relacionadas às condições do ambiente onde a planta se encontra (POPMA e BONGERS, 1991).

A maior parte do conhecimento sobre associações micorrízicas vem de estudos com plantas herbáceas de interesse econômico, enquanto que sobre associações micorrízicas com espécies arbóreas, principalmente de florestas tropicais, são muito deficientes. Os aspectos da relação fungo/planta, os sítios onde ocorrem as trocas de nutrientes entre os dois simbioses e o significado ecológico das associações micorrízicas nestes ambientes ainda não estão completamente esclarecidos.

1.7. Influência da disponibilidade de luz e água na colonização micorrízica

Diversos fatores podem afetar a colonização micorrízica em raízes de plantas, estando entre eles as características do solo, a espécie vegetal (LOVATO *et al.*, 1992), a incidência de luz (GEHRING, 2003) e a disponibilidade de água (ENTRY *et al.*, 2002).

A investigação sobre a influência da luz na colonização micorrízica vem ocorrendo desde 1940, sendo os resultados encontrados muitas vezes conflitantes (BÉREAU, 2000). Nos inúmeros trabalhos realizados, encontraram-se dados tanto sobre a intensidade de luz influenciando a colonização micorrízica como sobre a intensidade de luz não tendo efeito algum (HURST *et al.*, 2002, KORHONEN *et al.*, 2004). Quando a intensidade de luz apresenta efeito na colonização micorrízica, este efeito pode ser o de aumentar ou o de reduzir a colonização micorrízica, dependendo da intensidade de luz utilizada, da espécie vegetal hospedeira ou do FMA envolvido (SMITH e GIANINAZZI-PEARSON, 1990; GEHRING, 2003; MARSHNER e TIMONEN, 2005).

Os resultados sobre a influência da disponibilidade hídrica na colonização micorrízica não são tão abundantes quanto sobre aqueles que tratam da influência da luz. Na literatura há dados tanto sobre a disponibilidade de água influenciando a colonização, como em milho (SIMPSON e DAFT, 1990), em *Spartina* sp. (ANDERSON *et al.* 1986), em espécies vegetais

da região semi-árida do Nordeste brasileiro (AMORIM *et al.*, 2004), quanto não tendo efeito, como em *Helianthemum almeriense* (MORTE *et al.*, 2000), em *Dicorynia guianensis*, espécie arbórea da Guiana Francesa (BÉREAU *et al.*, 2005) e em alface (RUIZ-LOZANO *et al.*, 1995).

Respostas variáveis, quanto à colonização micorrízica, têm sido atribuídas ao estágio sucessional das espécies de plantas tropicais (JANOS, 1980; HUANTE *et al.*, 1993; CARNEIRO *et al.*, 1998; ZANGARO *et al.*, 2003). Para JANOS (1980) e HUANTE *et al.* (1993) as espécies em final de sucessão mostraram maiores efeitos na colonização micorrízica. Entretanto o contrário foi encontrado por CARNEIRO *et al.* (1998) e ZANGARO *et al.* (2003) e respostas variadas foram obtidas por GEHRING (2003) para espécies de final de sucessão.

1.8. *Tabebuia avellanedae* Lorentz ex Griseb.

A família Bignoniaceae é composta por 120 gêneros, de ampla distribuição nas regiões tropicais de todo o mundo, especialmente nos trópicos americanos. Nesta família, encontram-se plantas arbustivas ou arbóreas e também trepadeiras (JOLY, 2002). O gênero *Tabebuia* é um dos mais comuns desta família e compreende cerca de 100 espécies, originárias da América tropical, sendo muito comuns no Brasil (REITZ, 1974).

A espécie *Tabebuia avellanedae* Lorentz ex Griseb., popularmente conhecida no Brasil como “ipê roxo”, ocorre em todo o país, desde o Pará e Amazonas até o Rio Grande do Sul, sendo sua abundância e frequência diminuídas na direção norte-sul, tendo seu limite austral na Bacia do Rio Jacuí no Rio Grande do Sul (REITZ, 1974).

As árvores desta espécie são altas, com ramos glabros, atingem entre 25 a 30 m de altura e DAP entre 60 a 100 cm, quando adultas (REITZ, 1974). Possui um lenho bastante resistente, de grande valor comercial (LORENZI e MATOS, 2002). As cascas das árvores são

utilizadas na medicina popular com várias finalidades, sobretudo como adstringente, analgésico e anti-reumático (PIO CORRÊA, 1984), contra alguns tipos de câncer, cicatrizante (REITZ, 1974), no tratamento caseiro do impetigo, de lupus, doença de Parkinson, psoríase e alergias (LORENZI e MATOS, 2002). Da casca são extraídos corantes que servem para tingir roupas (PIO CORRÊA, 1984).

T. avellanadae ocorre naturalmente em vários tipos de solos, desde solos planos a pouco ondulados, bem como nos solos pedregosos ou onde a drenagem das águas é bastante lenta (REITZ, 1974). É considerada uma espécie de sol e seletiva higrófito, comum na vegetação secundária (REITZ, 1974), sendo considerada por ZANGARO *et al.* (2003) e SOARES *et al.* (2003) como uma espécie secundária tardia na sucessão florestal.

T. avellanadae é considerada uma espécie importante na restauração de áreas degradadas, porque são plantas resistentes ao replantio, apresentando uma alta porcentagem de estabelecimento, desenvolvem-se bem em campo aberto e produzem grande quantidade de sementes férteis (REITZ *et al.* 1979). Devido ao interesse medicinal e à destruição da Mata Atlântica, seu principal local de ocorrência, esta espécie já esteve sob o risco de extinção (BORDIGNON e MENTZ, 1999). A regeneração desta espécie é, portanto, importante tanto do ponto de vista econômico, quanto do ecológico.

2 – OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

Averiguar as respostas de plântulas de *Tabebuia avellanedae* Lorentz ex Griseb. a diferentes condições ambientais, com vistas a inferir sobre a capacidade de estabelecimento da espécie nos diferentes ambientes da floresta tropical.

2.2. Objetivos Específicos

1. Analisar a plasticidade morfo-fisiológica das plântulas à variação na disponibilidade de luz e água.
2. Avaliar a capacidade de micorrização das plântulas por fungos micorrízicos arbusculares nativos e selecionados, tanto em condições de alta como de baixa disponibilidades de luz e água.
3. Avaliar o efeito da micorrização por fungos micorrízicos arbusculares nativos e selecionados na morfologia e fisiologia da espécie hospedeira.

3 – MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos de abril a julho de 2005, em área do Departamento de Botânica, Universidade Federal de Santa Catarina, município de Florianópolis, 27° 35' S e 48° 34' W, altitude de dois metros.

3.1. Obtenção de plantas

Sementes de *Tabebuia avellanædae* Lorentz ex Griseb. (Bignoniaceae), fornecidas pelo Instituto Florestal de São Paulo (IFSP), foram colocadas para germinar em bandejas revestidas de papel de filtro umedecido em água destilada. As bandejas foram recobertas com plástico transparente e mantidas em laboratório à temperatura de 24 ± 2 °C, sem controle de luz.

Após um mês da germinação das sementes, as plântulas ainda mantinham os cotilédones e estavam iniciando o segundo par de folhas (Figura 1). Foram padronizadas por tamanho e transferidas para sacos plásticos pretos de 2 L (uma planta por saco), perfurados na base, contendo substrato composto de Nitossolo Vermelho Distroférico (Terra Roxa Estruturada coletada em região de Mata Atlântica), composto termofílico e areia (1:1:1), parte inoculado e parte não com fungos micorrízicos arbusculares selecionados.

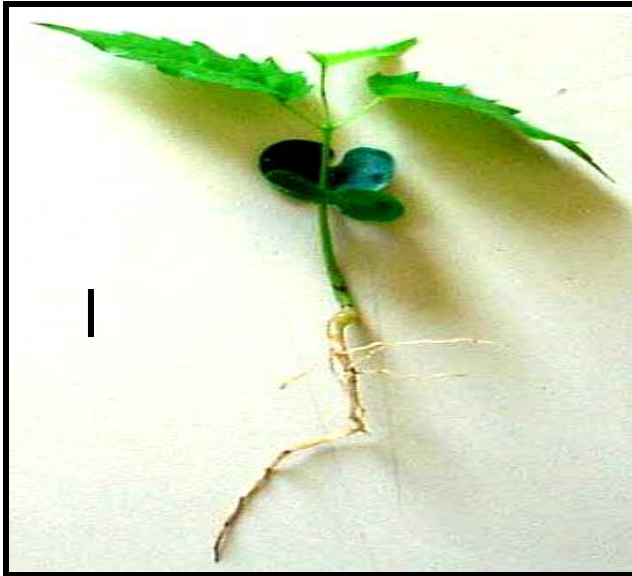


Figura 1. Planta de *Tabebuia avellanedae* Lorentz ex Griseb. com 30 dias de idade. Barra = 2cm.

3.2. Inoculação do substrato com fungos micorrízicos arbusculares

Os fungos micorrízicos arbusculares utilizados para inoculação do substrato foram *Glomus clarum* Nicol. e Schench (isolado nº 31) e *Glomus etunicatum* Becker e Gerdemann (isolado nº 69), encontrados em região de Mata Atlântica (MAZZONI-VIVEIROS e TRUFEM, 2004), multiplicados em vasos de cultivo com *Avena strigosa* Schreb. Ao substrato foi acrescentado 1 g de inóculo micorrízico, constituído de solo de cultivo de *A. strigosa*, com sua microbiota não micorrízica, esporos e hifas dos fungos micorrízicos, além de fragmentos de raízes de *A. strigosa*.

A obtenção da microbiota não micorrízica presente no inóculo micorrízico foi conseguida através de filtração, em papel filtro com poros de 50 µm de diâmetro da suspensão resultante da agitação intensa de 100 g de inóculo micorrízico, em 1L de água destilada. As plantas não inoculadas receberam a microbiota não micorrízica adicionando-se 10 mL/planta do filtrado acima.

3.3. Condições experimentais para crescimento de plantas em diferentes intensidades de luz

As plantas em substrato inoculado e não inoculado foram colocadas sobre estrados de madeira de 1,0 m² a 5 cm do solo. Sobre cada estrado foi colocada uma caixa de 1,0 m³, confeccionada com tela sombrite, permitindo a passagem de 70 %, 50%, 30% e 4% da luz solar incidente. Estes tratamentos corresponderam, respectivamente, a uma radiação fotossinteticamente ativa (RFA) máxima de 600 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, 430 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, 258 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ e 34 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. As temperaturas mínima e máxima foram, respectivamente, de 5 °C e de 34 °C (Tabela 1).

Os estrados com as caixas de sombrite foram colocados a céu aberto em área do Departamento de Botânica. Os experimentos foram montados em blocos completamente casualizados, cada bloco contendo três caixas de sombrite por tratamento de luz, cada caixa contendo de três a quatro plantas em substrato inoculado e de três a quatro plantas em substrato não inoculado, totalizando 10 plantas (repetições) em substrato inoculado e 10 plantas em substrato não inoculado por tratamento de luz (Figura 2a - b). As plantas permaneceram nessas condições durante três meses, sendo irrigadas a cada dois dias.

A intensidade de luz (RFA) em cada tratamento foi determinada através de um quantômetro, LICOR 250, com sensor para a faixa de radiação entre 400 e 700 nm. A porcentagem de RFA em cada caixa em relação à luz solar plena, na altura da copa das folhas, foi feita tomando-se a densidade de fluxo de fótons da RFA a pleno sol e sob as telas sombrite, calculando-se, então, a porcentagem de luz transmitida. A RFA a pleno sol foi medida ao meio dia, de um dia claro do mês mais quente durante o experimento, mês de maio, obtendo-se o valor de 860 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. As medidas climatológicas durante o período do experimento,

constantes na Tabela 1, foram fornecidas pelo Centro Integrado de Meteorologia e Recursos Hídricos de Santa Catarina (CLIMERH/EPAGRI).

Tabela 1. Dados mensais climatológicos de temperatura, precipitação, umidade relativa do ar e insolação total dos meses de abril, maio, junho, julho e agosto de 2005.

2005	MARÇO	ABRIL	MAIO	JUNHO	JULHO
Temperatura mínima absoluta (°C)	18	15	9	8	5
Temperatura máxima absoluta (°C)	34	33	30	27	32
Precipitação total mensal (mm)	134	164	202	31	76
Média mensal umidade relativa do ar (%)	75	77	79	82	78
Insolação total mensal (horas)	212	158	186	163	208

Dados fornecidos por CLIMERH/ Epagri - Centro Integrado de Meteorologia e Recursos Hídricos de Santa Catarina e Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina S.A.

Foram feitas duas coletas, a primeira utilizando plântulas antes de serem transferidas para os diferentes tratamentos de luz, e a segunda após três meses nos tratamentos. A cada coleta foi medida a massa seca de raiz e parte aérea, a área foliar, a altura do caule e o número de folhas. As raízes, antes de serem utilizadas para as análises, foram lavadas em água corrente e mergulhadas em água recebendo ondas de ultrassom, à frequência de 25 KHz, por 10 minutos, utilizando-se o equipamento Ultrasonic cleaner, modelo Maxi clean 750, para a retirada completa das partículas de solo.



Figura 2a. Vista do experimento sobre efeito de diferentes intensidades de luz em plantas de *Tabebuia avellanedae* Lorentz ex Griseb., montado em área do Departamento de Botânica/UFSC.

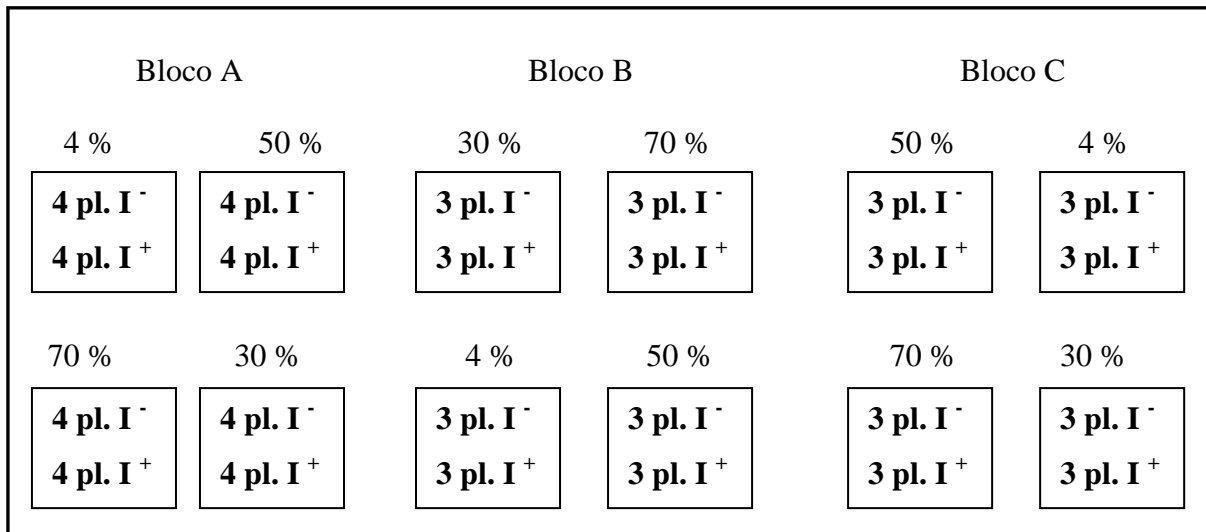


Figura 2b. Disposição das plantas de *Tabebuia avellanedae* Lorentz ex Griseb. sob diferentes intensidades luminosas (70 %, 50 %, 30 % e 4 % da luz solar total), inoculadas (I+) ou não (I-) com fungos micorrízicos selecionados.

3.4. Condições de crescimento de plantas em diferentes regimes de hidratação

Os sacos de cultivo de 2 L com substrato inoculado e não inoculado, contendo uma planta cada, foram colocados sob caixas de sombrite cobertas com plástico transparente, conforme mostra a Figura 3a - b. Sob este sistema, as plantas receberam 44 % (RFA máxima de $490 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) da luz solar incidente, medida conforme descrito no item 3.3. Foram montados três estrados, a 30 cm de altura do solo, com três caixas de sombrite por tratamento, com 20 plantas por caixa, dispostas em blocos completamente casualizados, sendo dez inoculadas e dez não inoculadas. Metade das plantas inoculadas e não inoculadas foi irrigada a cada dois dias e o restante das plantas irrigadas a cada 20 dias. A irrigação foi feita com água de torneira até a percolação a cada dois ou 20 dias.

A primeira coleta foi feita imediatamente antes de as plântulas serem transferidas para os diferentes tratamentos hídricos (com um mês de idade) e a segunda, após três meses de crescimento sob as condições experimentais (com quatro meses de idade). Foram utilizadas 12 plantas por tratamento, medindo-se a massa seca de raiz e parte aérea, a área foliar, a altura do

caule e o número de folhas. As raízes, antes de serem utilizadas para as análises foram lavadas conforme descrito anteriormente.

3.5. Cálculo do teor de água do solo em capacidade de campo e em baixa disponibilidade de água

A umidade do solo em capacidade de campo, a qual equivale ao máximo de água que aquele solo pode reter (100 % de água) foi determinada em três amostras de solo, utilizando-se a seguinte fórmula: $U_{cc} = (M_{cc} - M_s)/M_s$, onde U_{cc} é a umidade do solo em capacidade de campo, M_{cc} é a massa do solo em capacidade de campo e M_s é a massa do solo seco em estufa, até a retirada completa de água. Obteve-se o valor de U_{cc} de 0,29 gH₂O/gMS.

A umidade do solo em baixa disponibilidade de água foi calculada em três amostras de solo retiradas de três sacos com plantas, após 20 dias sem irrigação, através da seguinte fórmula: $U_{df} = M_{df} - M_{sdf} / M_{sdf}$, onde U_{df} é a umidade do solo em deficiência hídrica, M_{df} é a massa do solo em deficiência hídrica (após 20 dias sem irrigação) e M_{sdf} é o a massa do solo em deficiência hídrica seco em estufa até a retirada completa de água. A U_{df} foi de 0,07 gH₂O/gMS.

A porcentagem de água do solo em deficiência hídrica em relação ao solo em capacidade de campo ($U_{cc}\%$) foi calculada pela seguinte fórmula: $U_{cc}\% = U_{df} \times 100/U_{cc}$. A $U_{cc}\%$ foi de 24 % da capacidade de campo, alcançada após 20 dias de suspensão da irrigação.



Figura 3a. Vista do experimento sobre o efeito de dois tratamentos hídricos em plantas de *Tabebuia avellanae* Lorentz ex Griseb., montado em área do Departamento de Botânica/UFSC.

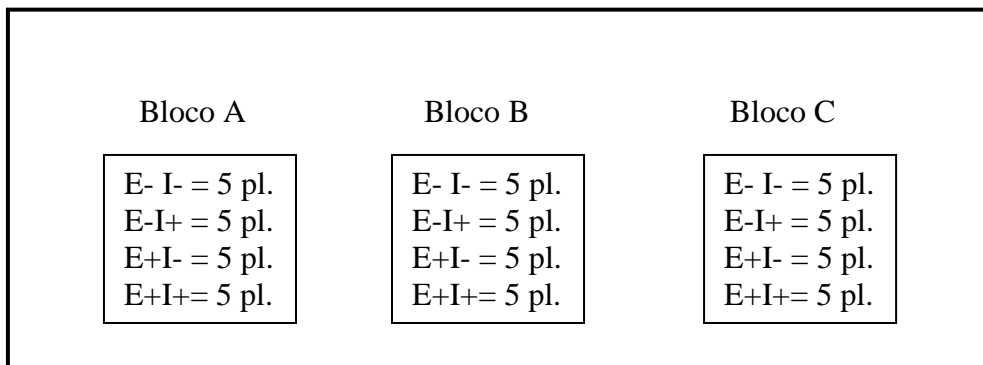


Figura 3b. Disposição das plantas de *Tabebuia avellanae* Lorentz ex Griseb. submetidas (E+) ou não (E-) a estresse hídrico e inoculadas (I+) ou não (I-) com fungos micorrízicos selecionados. Do total de 15 plantas por tratamento, 12 plantas foram utilizadas para avaliação do crescimento e colonização micorrízica e três plantas para avaliação do teor de prolina.

3.6. Medições e determinações

3.6.1. Área foliar, massa seca e altura das plantas

Para obter a área foliar, foram delineados os contornos das folhas em papel sulfite A4 e determinada a área foliar em cm^2 através do uso de planímetro digital (Haff-Digiplan).

Para a obtenção da massa seca, as plantas foram separadas em raiz, caule e folhas e colocadas para secar, em estufa a $80\text{ }^\circ\text{C}$ durante 48 h (até atingirem peso constante), sendo, a seguir, pesadas em balança digital com aproximação de três casas decimais.

A medida da altura do caule, desde a região do colo até o ápice caulinar, foi feita utilizando-se uma régua milimetrada.

3.6.2. Cálculo da taxa de crescimento relativo e razão de área foliar

Através das medidas de massa seca e área foliar foram calculadas a taxa de crescimento relativo (TCR) e a razão de área foliar (RAF), segundo HUNT (1982), utilizando as seguintes fórmulas:

$$\text{TCR} = (\text{Ln } m_2 - \text{Ln } m_1) / t_2 - t_1$$

$$\text{RAF} = [(A_1 / m_1) + (A_2 / m_2)] / 2$$

Onde: Ln = logaritmo neperiano; m = massa seca da planta; $t_2 - t_1$ = intervalo de tempo entre as coletas 1 e 2 e A = área foliar.

3.6.3. Determinação do teor de prolina

A determinação do teor de prolina em plantas sob os dois regimes hídricos foi feita segundo método de BOKHARI e TRENT (1985). Foram utilizadas três plantas por tratamento. Após sete meses de tratamento, foram retiradas as duas últimas folhas completamente expandidas de cada planta, resultando em seis folhas por tratamento. As folhas de cada tratamento foram picadas, os pedaços foram misturados e três porções de 500 mg deste material foram maceradas separadamente em 10 mL de solução aquosa de ácido sulfossalicílico (3 %). Os extratos obtidos foram centrifugados a 3.000 RCF (força centrífuga relativa), em centrífuga Sigma 6-15.

Dos sobrenadantes obtidos, foram retiradas três alíquotas de 2 mL. A cada alíquota, foram acrescentados 2 mL de ácido acético glacial e 2 mL de nihidrina ácida (1,25 g de nihidrina, 30 mL de ácido acético glacial e 20 mL de ácido fosfórico 6 M, em banho-maria a 70 °C, com agitação). Os tubos contendo as soluções foram colocados em banho-maria a 100 °C por uma hora. Após o término da reação, a qual foi parada colocando-se os tubos em gelo, foram acrescentados 4 mL de tolueno a cada tubo, homogeneizando-se o conteúdo do tubo através de agitação. Os tubos foram colocados em repouso para a separação das fases. Da fração com tolueno foi retirada uma alíquota de 1 mL e sua absorbância lida a 520 nm em espectrofotômetro.

O teor de prolina da fração tolueno foi calculado através da comparação da absorbância de soluções-padrão de prolina nas concentrações de 2, 4, 8 e 16 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Três alíquotas de 2 mL de solução-padrão de prolina de cada concentração foram colocadas em tubos de ensaio, realizando-se, a seguir, o mesmo procedimento utilizado para as alíquotas resultantes da centrifugação do extrato de folhas em solução aquosa de ácido sulfossalicílico. O espectrofotômetro foi calibrado com 1 mL de tolueno puro.

3.6.4. Determinação da densidade estomática

Para a determinação da densidade estomática foi usada a técnica de KAMALUDIN e GRACE (1992), com esmalte incolor para unhas. Para cada tratamento, foram utilizadas três plantas; de cada planta foram utilizadas duas folhas completamente expandidas, e de cada folha foi feita uma lâmina com duas réplicas do terço médio do folíolo apical, nas regiões intercostais da face abaxial da superfície foliar. De cada réplica foi quantificado o número de estômatos em cinco campos. A quantificação foi feita com auxílio de microscópio óptico, marca Zeiss-Jena, modelo Loboval 4, aferindo o diâmetro do campo microscópico, em 400x, para determinação da área em μm^2 . Os dados apresentados foram transformados em número de estômatos por mm^2 .

3.7. Determinação de colonização micorrízica

3.7.1. Clarificação e coloração de raízes

Para a clarificação das raízes foi utilizada a técnica descrita por PHILLIPS e HAYMAN (1970), modificada por GIANINAZZI e GIANINAZZI-PEARSON (1992). Raízes de plantas submetidas a três meses de tratamento de luz ou hídrico, foram colocadas em frascos com solução de hidróxido de potássio (KOH) a 10 % e autoclavadas a 120 °C durante 10 minutos. Devido ao grau de lignificação das raízes, foi necessário acrescentar 2 mL de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) concentrado à solução de hidróxido de potássio com as raízes para melhor clarificação e aquecer o material a 60 °C por três minutos após a autoclavagem. Em seguida, as raízes foram lavadas em água corrente e deixadas por 24 horas em temperatura ambiente em solução de ácido clorídrico (HCl) a 2 %.

Para o processo de coloração, as raízes foram colocadas em béquers contendo solução acidificada de azul de tripano (0,075 g de azul de tripano misturado a 500 mL de glicerol, 450 mL de água, 50 mL de ácido clorídrico a 2 %) e aquecidas durante 30 minutos a 90 °C. Após o aquecimento, o corante foi eliminado por filtração e as raízes foram conservadas em glicerol acidificado (500 mL de glicerol, 450 mL de água, 50 mL de ácido clorídrico 2 %) até o momento das observações. Devido à menor lignificação das plantas do tratamento de 4 % de luz, o tempo em autoclave para clareamento das raízes foi de 4 minutos e a quantidade de H₂O₂ concentrado foi de 5 gotas.

3.7.2. Quantificação da colonização micorrízica

Para quantificar a frequência e intensidade de colonização micorrízica foi utilizada a técnica descrita por TROUVELOT *et al.* (1986). Sobre uma lâmina de microscópio foram dispostos 30 segmentos de raízes com aproximadamente 1 cm de comprimento, já coloridas. Este comprimento foi visualmente dividido em 5 partes e foi verificada a colonização em cada parte do fragmento. Se apenas uma parte continha micorrizas, considerou-se 20 % de colonização, se duas partes do fragmento continham micorrizas, considerou-se 40 % de colonização, e assim por diante. A observação das micorrizas foi feita em microscópio óptico, Olympus, modelo CX40RF200. Nesta observação, analisou-se o tipo morfológico de micorrizas apresentado pelas plantas nos diversos tratamentos. As imagens em microscopia das micorrizas foram feitas com microscópio óptico Olympus modelo BX40, com câmara digital acoplada, modelo Olympus DP12.

3.8. Análise estatística dos dados

Os resultados foram avaliados quanto à homogeneidade de variância de acordo com o teste de Levene (STATSOFT, 2001). Os valores de altura do caule e teor de prolina foram transformados usando-se $\log x$.

Os resultados obtidos para cada uma das variáveis, anatômicas, fisiológicas e micorrízicas, avaliadas, foram submetidas a uma análise de variância bifatorial, e as médias comparadas pelo teste Tukey, ao nível de significância de 5 % ($p \leq 0,05$)

Para a comparação de densidade estomática, o número mínimo amostral, foi calculado pela equação $n = (t^2 \cdot s^2) \cdot d^{-2}$, onde “t” é dado pela tabela de Student (considerando n-1, para significância de 5 %), “s” é o desvio padrão e “d” é igual a $E/100 \times$ média, onde $E=10$, para 10 % de probabilidade.

Todas as análises foram realizadas utilizando-se o programa de *software* Statistica, versão 6.0. (STATSOFT, 2001).

4 - RESULTADOS

1. Influência da luz e da colonização por FMA no crescimento de plantas

A colonização por FMA selecionados e nativos não afetou o crescimento de plantas nas diversas intensidades de luz, sendo as modificações apresentadas, entre tratamentos de luz em todas as variáveis apresentadas nas Figuras 4, 5, 6, 7 e 8 consequência apenas da influência da intensidade luminosa.

Pela Figura 4 (a – d), observa-se que a massa seca total e dos órgãos vegetativos foi similar nas intensidades de 30, 50 e 70 % de luz solar plena, mas significativamente maior nestas intensidades que a 4 % de luz ($p \leq 0,01$). A Figura 6 ilustra aspectos de indivíduos crescidos nos diferentes tratamentos.

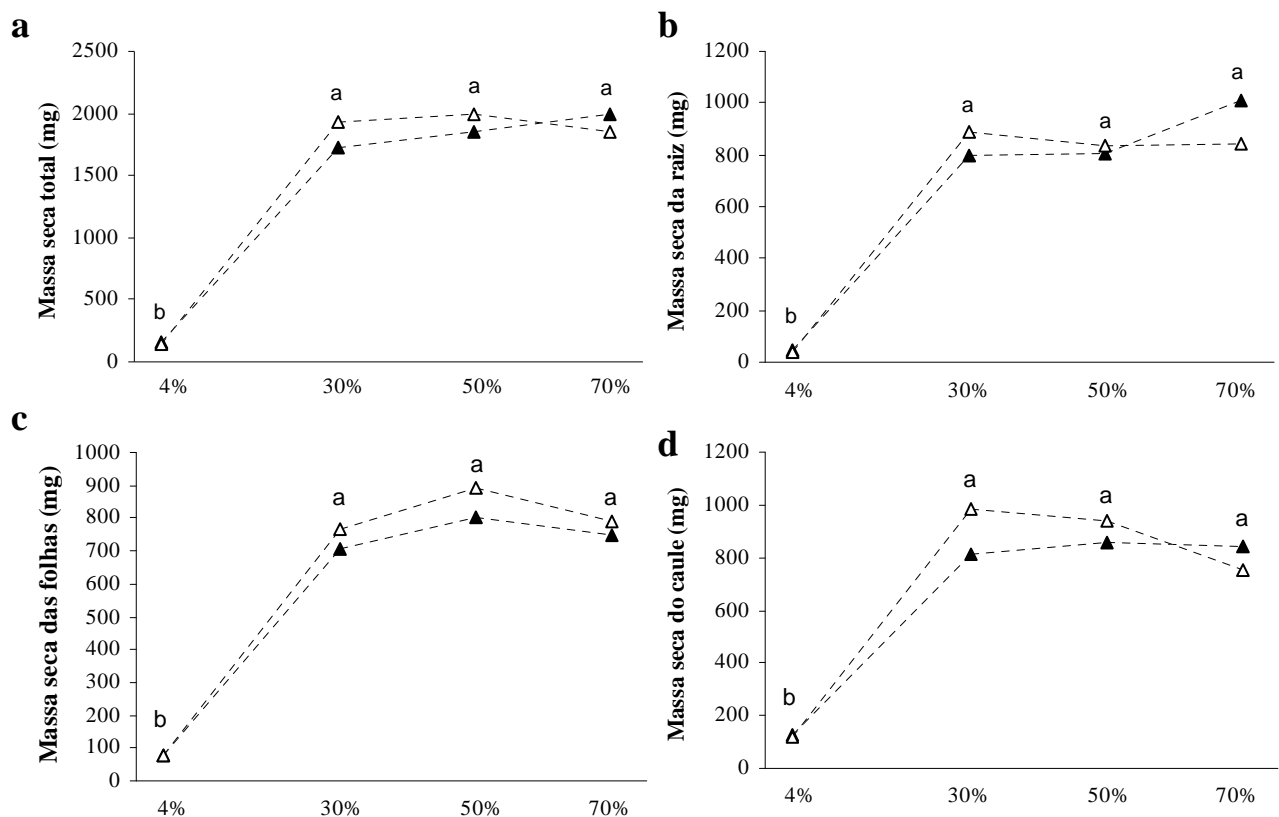


Figura 4. Biomassa de plantas de *Tabebuia avellanedae* Lorentz ex Griseb. com quatro meses de idade, cultivadas em diferentes intensidades de luz e colonizadas por fungos micorrízicos nativos (Δ) e selecionados (\blacktriangle). **a)** Massa seca total; **b)** massa seca da raiz; **c)** massa seca das folhas; **d)** massa seca do caule. Valores com a mesma letra, para o efeito luz, não diferem significativamente entre si pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$).

Os dados de área foliar apresentados na figura 4a mostram o mesmo comportamento que para massa seca, isto é, menor área foliar a 4 % de luz e maior efeito significativo em área foliar em intensidades de luz mais altas. A inoculação com FMA não afetou a área foliar. A produção de folhas (Figura 5b) e a altura do caule (Figura 5c) não foram influenciadas pela variação na intensidade de luz entre 30 e 70 % da luz solar plena, mas foram diminuídas em plantas sob 4 % da luz solar.

A relação raiz/parte aérea (Figura 5d) foi significativamente menor a 4 % de luz, indicando uma distribuição de massa seca proporcionalmente maior para a parte aérea, que nos outros tratamentos de luz. A distribuição de biomassa entre raiz e parte aérea também diferiu entre os tratamentos de 50 % e 70 % de luz, sendo a razão R:PA menor a 50 % que a 70 % de luz.

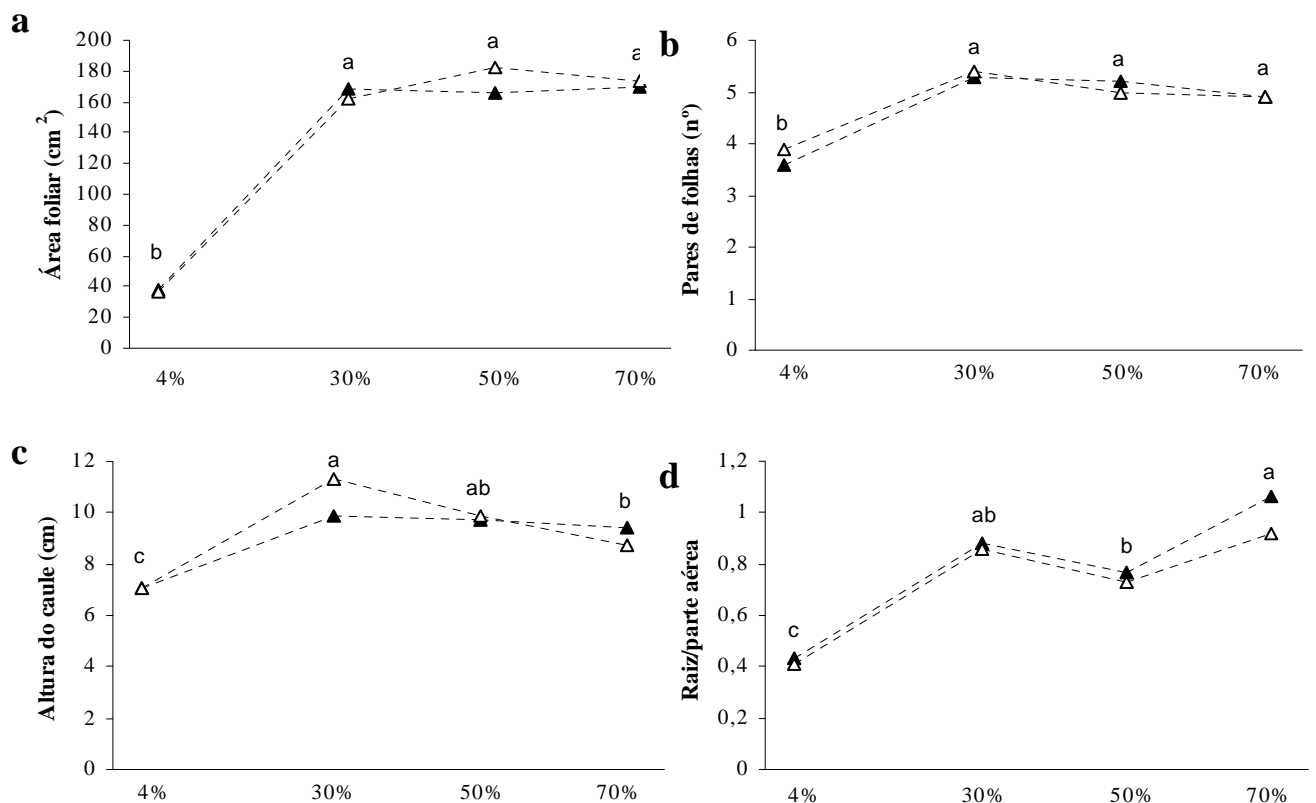


Figura 5. Desenvolvimento de plantas de *Tabebuia avellanedae* Lorentz ex Griseb. com quatro meses de idade, cultivadas em diferentes intensidades de luz e colonizadas por fungos micorrízicos nativos (Δ) e selecionados (\blacktriangle). **a)** Área foliar. **b)** pares de folhas; **c)** altura do caule; **d)** razão raiz parte aérea. Valores com a mesma letra, para o efeito luz não diferem significativamente entre si pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$).

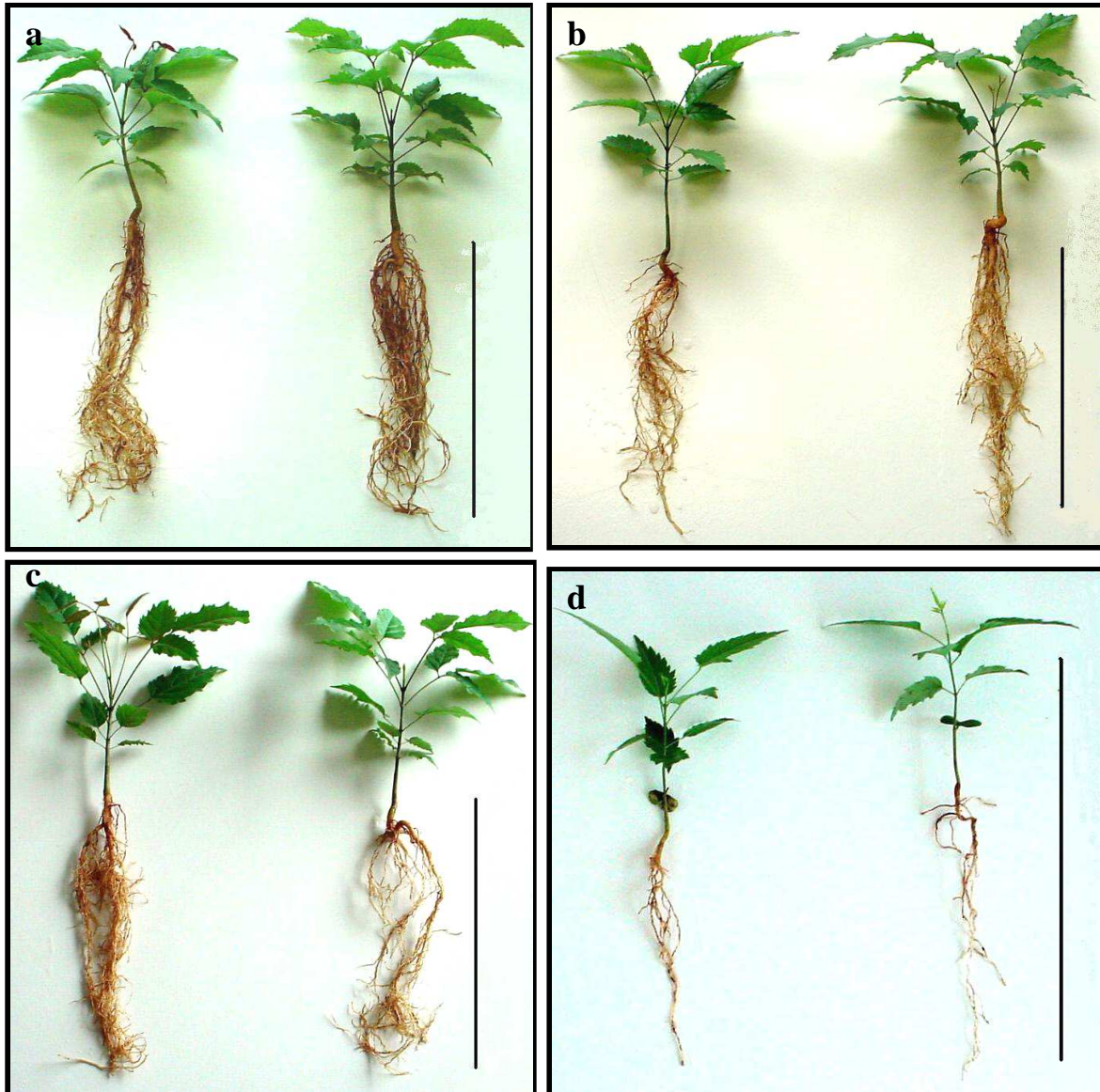


Figura 6. Plantas de *Tabebuia avellanedae* Lorentz ex Griseb. com quatro meses de idade, cultivadas: **a)** a 70 % de luz solar total; **b)** a 50 % de luz solar total; **c)** a 30 % de luz solar total e **d)** a 4 % de luz solar total. Esquerda: colonizadas por FMA nativos e direita: colonizadas por FMA selecionados. Barras = 20 cm.

A intensidade de luz influenciou significativamente ($p \leq 0,01$) a taxa de crescimento relativo (TCR) e a razão de área foliar (RAF). A TCR das plantas a 4 % de luz foi a mais baixa que nas outras intensidades de luz, havendo um aumento da TCR com aumento de luz de 30 % para 70 % de luz (Figura 7a). A RAF foi maior a 4 % de luz a que em intensidades mais altas de luz (Figura 7b).

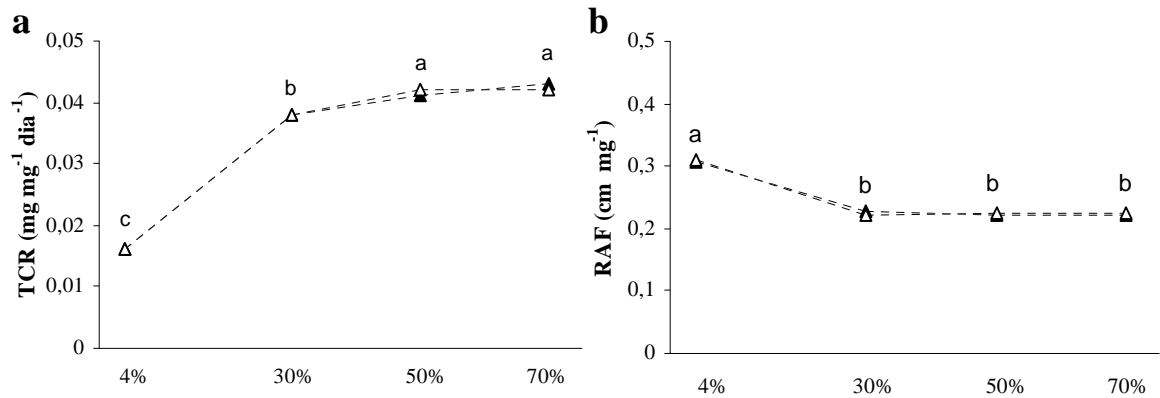


Figura 7. **a)** Taxa de crescimento relativo (TCR) e **b)** razão de área foliar (RAF) de plantas de *Tabebuia avellanae* Lorentz ex Griseb. com quatro meses de idade, cultivadas em diferentes intensidades de luz e colonizadas por fungos micorrízicos nativos (△) e selecionados (▲). Valores com a mesma letra, para o efeito luz não diferem significativamente entre si pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$).

A intensidade de luz influenciou significativamente a densidade estomática ($p \leq 0,01$) em folhas, a qual dobrou quando a irradiância foi aumentada de 4 % para 70 % de luz, apresentando as folhas a 4 % e 70 % de luz 68 e 140 estômatos/ mm^2 , respectivamente (Figura 8).

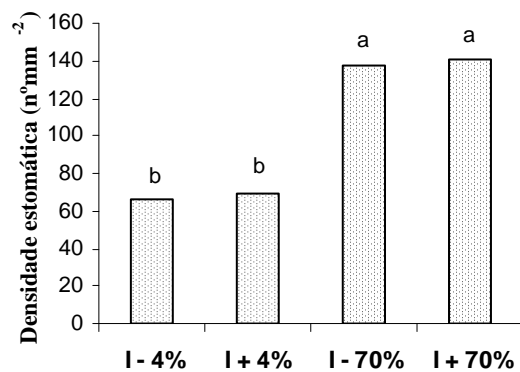


Figura 8. Densidade estomática de plantas de *Tabebuia avellanae* Lorentz ex Griseb. com quatro meses de idade, cultivadas a 4 % e 70 % da luz solar total e inoculadas (I+) ou não (I-) com fungos micorrízicos selecionados. Barras com a mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$).

2. Influência da disponibilidade de água e colonização por FMA no crescimento de plantas

Em plantas sob estresse hídrico, a massa seca total foi menor que a massa seca de plantas não estressadas, tanto nas colonizadas por FMA selecionados, como por nativos (Tabela 2). Em termos de massa seca dos órgãos vegetativos, observou-se interação significativa ($p \leq 0,05$) entre os fatores água e colonização por FMA, resultando em valores similares para massa seca de caule em plantas estressadas e não estressadas. No caso de massa seca de folhas, a deficiência hídrica levou à menor biomassa. A massa seca de raízes não sofreu influência dos tratamentos aplicados.

Tabela 2. Massa seca total, de caules, das folhas e das raízes de plantas de *Tabebuia avellanedae* Lorentz ex Griseb. com quatro meses de idade, submetidas (E+) ou não (E-) a estresse hídrico e inoculadas (I+) ou não (I-) com fungos micorrízicos selecionados.

	I -	I +	Média	CV%	I -	I +	Média	CV%
	Massa seca total (mg)				Massa seca de caules (mg)			
E -	2367	2292	2330 a	22	318 a	283 ab	301	23
E +	1895	2162	2029 b		241 b	294 ab	268	
Média	2131	2227			280	289		
	Massa seca das folhas (mg)				Massa seca das raízes (mg)			
E -	1111	961	2285 a	29	1022	1047	1035	23
E +	744	839	791 b		910	1029	970	
Média	927	900			966	1038		

Diferenças significativas (Tukey $p \leq 0,05$) entre tratamentos são indicadas por letras diferentes.

O número de folhas e a altura do caule apresentaram interação significativa ($p \leq 0,05$) entre os fatores água e colonização por FMA, resultando em valores similares para estas variáveis em plantas estressadas e não estressadas. A área foliar e a razão R:PA foram afetadas

pela deficiência hídrica ($p \leq 0,01$), sendo a área foliar menor e a R:PA maior em plantas estressadas (Tabela 3). A Figura 9 traz imagens de exemplares de plantas nos quatro tratamentos, ilustrando que a R:PA, em termos de comprimento, também é maior nas plantas estressadas.

Tabela 3. Área foliar, pares de folhas, altura de caules e razão raiz/parte aérea de plantas de *Tabebuia avellanae* Lorentz ex Griseb. com quatro meses de idade, submetidas (E+) ou não (E-) a estresse hídrico e inoculadas (I+) ou não (I-) com fungos micorrízicos selecionados.

	I -	I +	Média	CV%	I -	I +	Média	CV%
	Área foliar (cm ²)				Pares de folhas			
E -	247	210	229 a	31	5,6 a	4,7 b	5,2	15
E +	153	170	162 b		4,3 b	4,7 b	4,5	
Média	200	190			5,0	4,7		
	Altura de caules (cm)				Raiz/parte aérea			
E -	12,4 a	10,6 ab	11,5	16	0,74	0,87	0,81 b	23
E +	9,3 b	10,0 b	9,6		0,96	0,92	0,94 a	
Média	10,8	10,1			0,85	0,90		

Diferenças significativas (Tukey, $p \leq 0,05$) entre tratamentos são indicadas por letras diferentes.

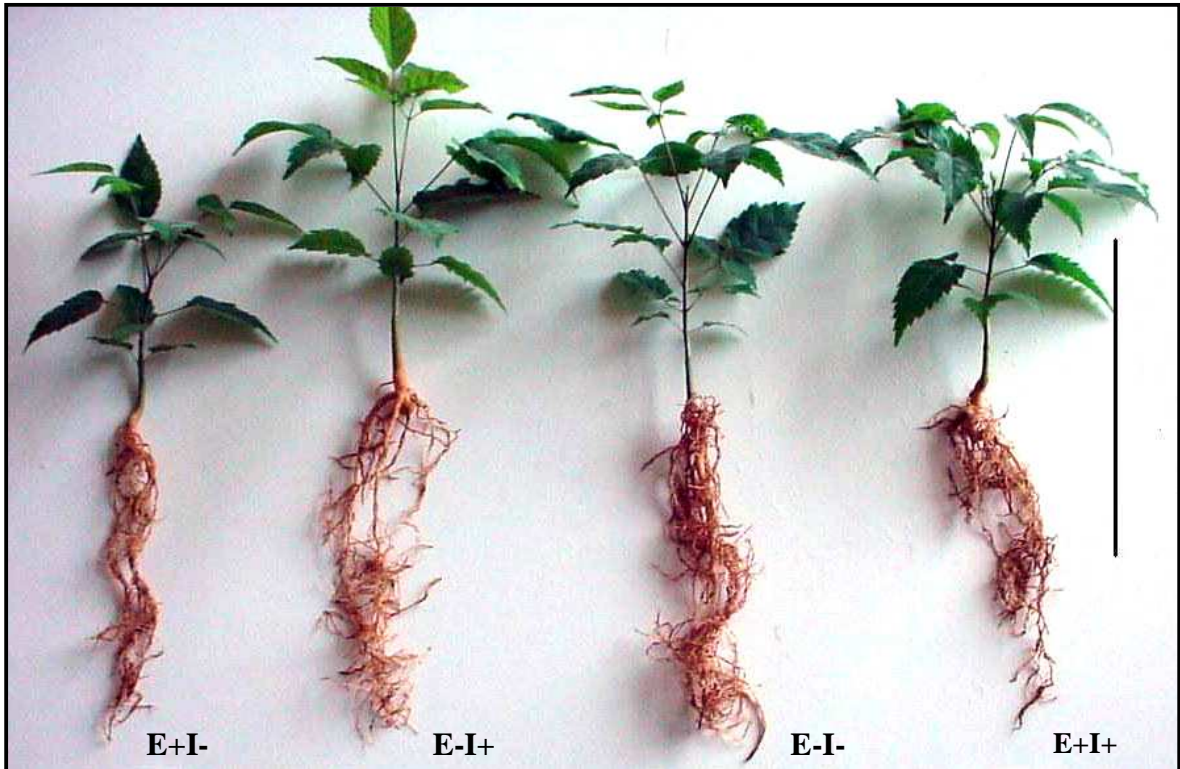


Figura 9. Plantas de *Tabebuia avellanedae* Lorentz ex Griseb. com quatro meses de idade, submetidas (E+) ou não (E-) a estresse hídrico e inoculadas (I+) ou não (I-) com fungos micorrízicos selecionados. Barras = 20 cm.

A taxa de crescimento relativo (Figura 10a) foi afetada pela deficiência hídrica ($p \leq 0,05$), nas plantas colonizadas por fungos nativos, sendo maior nas plantas não estressadas. Observando a figura 10a, nota-se, ainda, que sob condições normais de hidratação, as plantas micorrizadas por fungos selecionados têm a TCR ligeiramente deprimida em relação a TCR das plantas micorrizadas por fungos nativos, já em plantas estressadas, nota-se o inverso, ou seja, as plantas micorrizadas por fungos nativos é que apresentam a TCR ligeiramente deprimida em relação às plantas micorrizadas com fungos selecionados. A razão de área foliar não foi afetada pela deficiência hídrica ou pela colonização por FMA selecionados (Figura 10b).

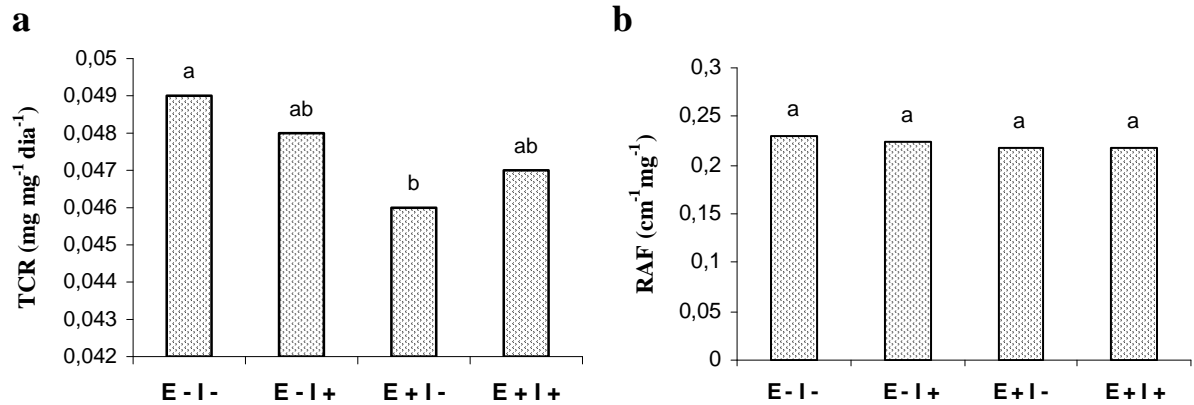


Figura 10. a) Taxa de crescimento relativo (TCR) e **b)** razão área foliar (RAF), de plantas de *Tabebuia avellanae* Lorentz ex Griseb. com quatro meses de idade, submetidas (E+) ou não (E-) a estresse hídrico e inoculadas (I+) ou não (I-) com fungos micorrízicos selecionados. Barras com a mesma letra não diferem pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$).

Plantas de *T. avellanae* em baixa disponibilidade hídrica, independentemente do tipo de fungo associado, mostraram aumento significativo na quantidade do aminoácido prolina em relação às plantas não estressadas (Figura 11a), entretanto as plantas estressadas associadas a fungos selecionados tiveram um aumento de mais de três vezes na quantidade de prolina que plantas estressadas associadas a fungos nativos. As plantas estressadas e colonizadas por FMA nativos, apresentaram maior densidade estomática do que plantas estressadas colonizadas por fungos selecionados e que plantas não estressadas (Figura 11b).

Houve interação significativa entre os fatores deficiência hídrica e FMA, para as variáveis, prolina ($p \leq 0,05$) e densidade estomática ($p \leq 0,01$).

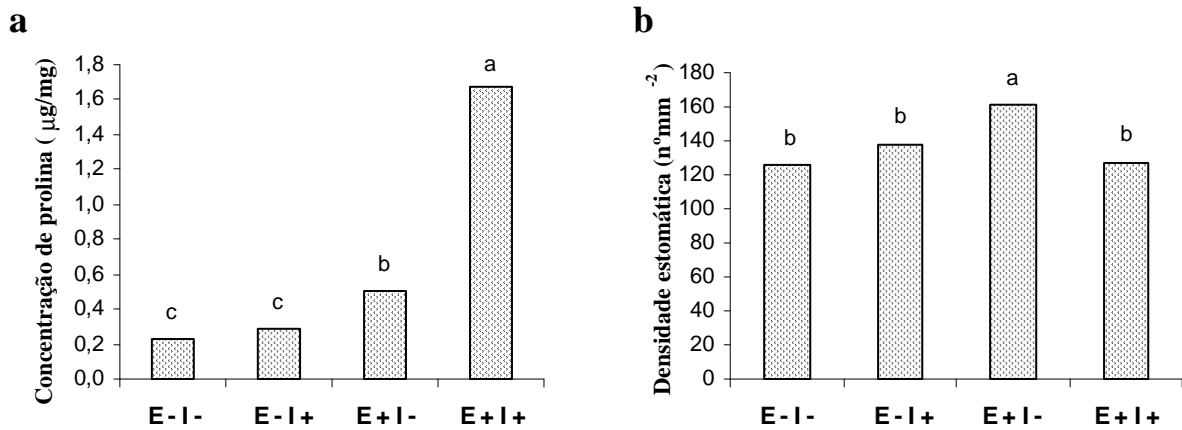


Figura 11. a) Concentração de prolina e b) densidade estomática de plantas de *Tabebuia avellanedae* Lorentz ex Griseb. com quatro meses de idade, submetidas (E+) ou não (E-) a estresse hídrico e inoculadas (I+) ou não (I-) com fungos micorrízicos selecionados. Barras com a mesma letra não diferem pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$).

3. Influência da intensidade de luz e estresse hídrico na colonização micorrízica

A intensidade de luz afetou significativamente a colonização micorrízica ($p \leq 0,01$), tanto em plantas inoculadas com fungos micorrízicos arbusculares (FMA) selecionados, *Glomus clarum* e *Glomus etunicatum*, quanto naquelas colonizadas por FMA nativos (Figura 12a). Entretanto, na mesma intensidade de luz não houve diferença significativa na porcentagem de colonização entre FMA selecionados (39 %) e nativos (30 %).

Em baixa intensidade de luz (RFA máxima de $34 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), simulando aquela existente em sub-bosque sob denso dossel, a colonização micorrízica foi praticamente nula. Já em alta intensidade de luz (RFA máxima de $600 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), simulando a intensidade existente em clareira de médio porte, os níveis de colonização micorrízica foram significativamente altos. Na variável teor de arbúsculos (Figura 12b) houve interação significativa entre os fatores luz e FMA ($p \leq 0,05$).

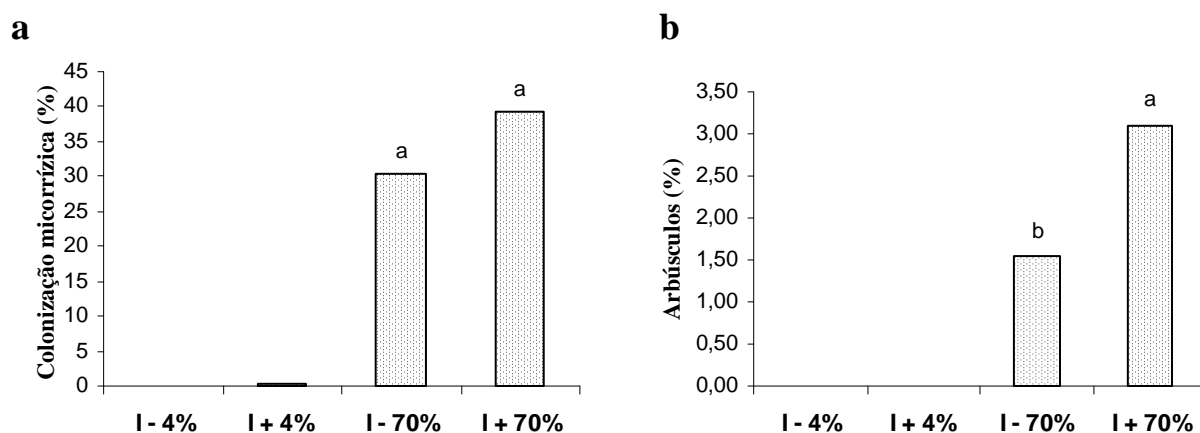


Figura 12. Micorrizas em raízes de plantas de *Tabebuia avellanedae* Lorentz ex Griseb. com quatro meses de idade, cultivadas a 4 % e 70 % da luz solar total e inoculadas (I+) ou não (I-) com fungos micorrízicos selecionados. **a)** Intensidade de colonização; **b)** porcentagem de arbúsculos. Barras com a mesma letra não diferem pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$).

Em *T. avellanedae*, a colonização micorrízica foi afetada pela deficiência hídrica. A colonização foi em média 32 % para as plantas não estressadas e 45 % para as estressadas, sendo esta diferença significativa (Tabela 4). Observa-se ainda na Tabela 4 que a porcentagem de arbúsculos, tanto do tipo *Arum* como do tipo *Paris*, não foi influenciada pelo estresse hídrico ou pelos tipos de FMA, selecionados ou nativos.

Tabela 4. Porcentagem de colonização micorrízica, teores de arbúsculos dos tipos *Paris* e *Arum* e teor total de arbúsculos no sistema radicular de plantas de *Tabebuia avellanedae* Lorentz ex Griseb. com quatro meses de idade, submetidas (E+) ou não (E-) a estresse hídrico e inoculadas (I+) ou não (I-) com fungos micorrízicos selecionados.

Tratamentos	Colonização micorrízica (%)	Teor de arbúsculos (%)		
		Tipo <i>Paris</i>	Tipo <i>Arum</i>	Total
E- I-	30	0,90	0,16	1,06
E- I+	33	0,70	0,69	1,39
Média	32 b	0,80	0,43	1,23
E+ I-	45	0,61	0,72	1,33
E+ I+	46	0,72	0,84	1,56
Média	45 a	0,66	0,78	1,44
CV (%)	27	60	87	65

Diferenças significativas (Tukey, $p \leq 0,05$) entre tratamentos são indicadas por letras diferentes.

4. Morfologia das micorrizas

Raízes de *T. avellanadae* colonizadas por FMA selecionados ou nativos apresentaram micorrizas com morfologia tipo *Arum* (longas hifas extracelulares com arbúsculos intracelulares) e tipo *Paris* (hifas intracelulares entrelaçadas com aspecto de novelo – *coils*). Esporos e vesículas também foram visualizados, como mostra a figura 13.

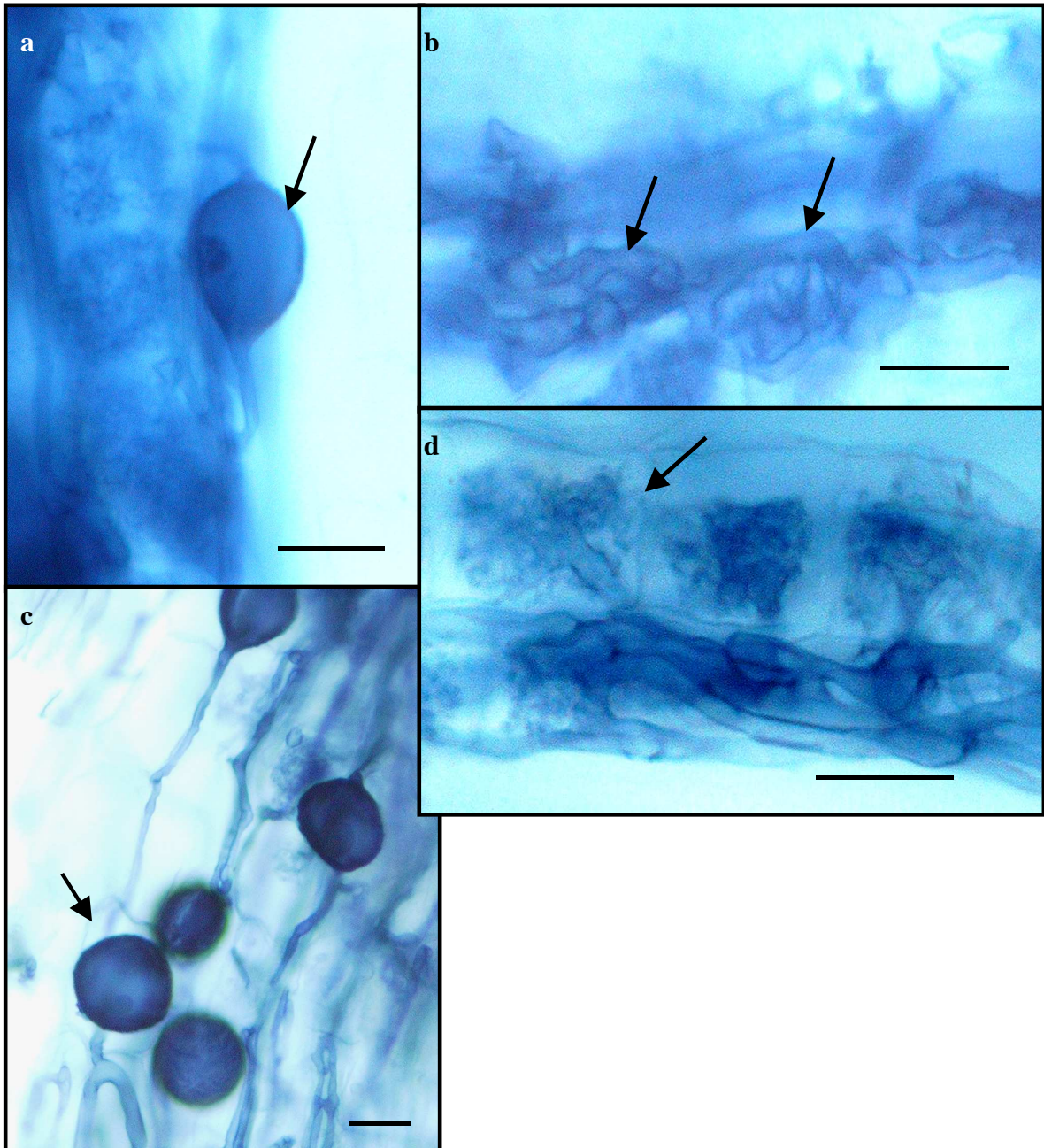


Figura 13. Estruturas observadas em fungos micorrízicos arbusculares associados a raízes de *Tabebuia avellaneda* Lorentz ex Griseb. com quatro meses de idade. **a)** Vesícula; **b)** morfologia tipo *Paris*; **c)** esporos; **d)** arbúsculos, morfologia tipo *Arum*. Barras = 20 μm.

5. DISCUSSÃO

1. Plasticidade de plantas à variação na intensidade de luz

A resposta das plantas à variação de luz em plantas colonizadas por FMA selecionados foi similar a de plantas colonizadas por FMA nativos. Entretanto, SOARES *et al.* (2003) encontraram menor crescimento de plantas de *Tabebuia heptaphyla* Vell. Tol. colonizadas por FMA nativos em relação às aquelas colonizadas por FMA selecionados. Esta discrepância entre os resultados aqui encontrados e os de SOARES *et al.* (2003) é esperada, já que a interação entre FMA e uma espécie vegetal é influenciada tanto pela espécie do fungo, pela espécie hospedeira e pelas condições edafoclimáticas (SMITH e GIANINAZZI-PEARSON, 1988).

O crescimento de plantas de *Tabebuia avellanedae* foi afetado pela intensidade luminosa. Em baixa intensidade (4 % da luz solar), a biomassa foi significativamente menor que em intensidades mais altas (30 %, 50 % e 70 % da luz solar). Entretanto, a espécie apresentou certa plasticidade para ajustamentos que levam a minimizar o estresse causado pelo, excesso ou limitação de luz. Quando houve limitação de luz (4 % de luz), a razão raiz/parte aérea foi menor que em intensidade de luz mais alta, o que favorece a captação de luz, enquanto que em intensidades mais altas de luz a razão raiz/parte aérea foi maior, o que favorece a captação de água (DALLING *et al.* 1999; LEE *et al.*, 1999).

A razão de área foliar (RAF) foi maior na mais baixa intensidade de luz e menor nas intensidades mais altas. Esse ajustamento leva à uma diminuição da transpiração em alta intensidade de luz, a qual tende a elevar-se nessa condição (POORTER, 1999).

A visualização microscópica da epiderme mostrou folhas hipoestomáticas, com estômatos do tipo anomocítico, confirmando os registros realizados por CABRAL *et al.* (2004), para a espécie do mesmo gênero, *Tabebuia aurea* (Manso) Benth. & Hook f. ex S.

Moore. A densidade estomática foi maior em intensidade de luz mais alta, o que contribui para uma diminuição da transpiração (POORTER, 1999). Aumento na densidade estomática também pode resultar em um aumento na absorção de gás carbônico (ABRANS *et al.*, 1992), o que leva a um melhor aproveitamento dos produtos de fotossíntese gerados durante as reações luminosas da fotossíntese (LAWLOR, 1987).

A taxa de crescimento relativo (TCR) é produto da razão raiz/área foliar RAF pela taxa de assimilação líquida (TAL), conforme HUNT (1982). Em baixa intensidade de luz houve aumento da RAF, o que contribui para uma maior TCR, ajustamento este que pode conferir às plantas de *T. avellanadae* maior potencialidade para sobreviver à baixa intensidade de luz da mata fechada, levando a uma TCR positiva nessas plantas.

O caule usualmente é mais alongado em baixa intensidade de luz, característica de plantas de ambientes abertos e é interpretado como estratégia de plantas para evitar o sombreamento (BALLARÉ *et al.*, 1997), trazendo vantagens para plântulas da espécie quando sombreadas por vegetação circundante (WELANDER e OTTOSON, 1998). Entretanto, este comportamento não foi verificado para *T. avellanadae* na mais baixa intensidade de luz experimentada. Este tipo de resposta só ocorreu quando a intensidade de luz diminuiu de 70 % para 30 % de luz. Uma das razões para o não alongamento do caule na mais baixa intensidade de luz testada, pode ter sido a baixa fotossíntese em baixa intensidade de luz (cerca de $34 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), que poderia ter sido limitante a ponto de prejudicar o mecanismo de alongamento do caule. Com efeito, SMITH e HAYWARD (1985) mostraram que em certas dicotiledôneas, a baixa intensidade de luz leva ao alongamento do caule desde que a intensidade de luz seja superior a $60 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Corroborando o encontrado por esses autores em *T. avellanadae*, esta resposta foi encontrada quando a variação de luz ocorreu em maiores intensidades de luz, de 70 % para 30 %.

2. Plasticidade de plantas em função da variação na disponibilidade de água

Em *T. avellanadae* houve comportamento diferente em relação à disponibilidade de água em função do tipo de fungo associado, se nativo ou selecionado. Em plantas colonizadas por fungos nativos houve respostas de adaptação à seca, como a diminuição da área foliar, através da diminuição do número de folhas e da expansão de cada folha, mecanismo importante de adaptação a períodos de déficit hídrico, pois diminui a área de transpiração (LECOEUR e SINCLAIR, 1996). As plantas submetidas a estresse hídrico colonizadas por fungos nativos apresentaram maior valor de R:PA que àquelas sem estresse, resultado também encontrado para *Tabebuia aurea* (CABRAL *et al.*, 2004). Este comportamento favorece a obtenção de água e está associado à capacidade de resistência à seca (POORTER, 1999). Em plantas colonizadas por fungos nativos, a deficiência hídrica deprimiu a taxa de crescimento relativo (TCR), provavelmente pela inibição da taxa de assimilação líquida (TAL), já que a razão de área foliar (RAF) não variou entre plantas sob estresse das testemunhas.

Menor taxa de crescimento em plantas em deficiência hídrica geralmente é resultado da diminuição da condutância estomática, pois ao mesmo tempo em que a redução da condutância estomática reduz a transpiração, reduz também a entrada de gás carbônico, reduzindo a taxa fotossintética e, conseqüentemente a taxa de crescimento (NAUTYAL *et al.*, 1994).

T. avellanadae apresentou plasticidade para o ajustamento osmótico, aumentando o teor de prolina nas folhas de plantas menos irrigadas, o que mostra que a espécie possui capacidade de manter a turgescência da célula sob baixa disponibilidade de água. A capacidade de ajustamento osmótico confere ao vegetal capacidade de resistência ao estresse moderado de falta de água, típico de espécies mesófitas (CALBO e MORAES, 2000).

O aumento da densidade estomática encontrada em plantas de *T. avellanadae* sob estresse hídrico é uma resposta apresentada por várias espécies submetidas a uma menor

disponibilidade hídrica (ZAGDANSKA e KOZDOJ, 1994; SILVA *et al.*, 1999; DUZ *et al.*, 2004), resposta esta que favorece a redução da transpiração em razão da formação de arcos de transpiração mais próximos entre si, o que retém maior umidade na área estomática (LARCHER, 2003).

Em plantas colonizadas por fungos selecionados, observa-se que a deficiência de água no solo não foi tão maléfica para a parte aérea como o foi para as plantas colonizadas por fungos nativos, mostrando o benefício da inoculação por fungos selecionados para resistência à seca. Sob condições normais de hidratação, as plantas micorrizadas por fungos selecionados apresentaram a TCR ligeiramente reduzida em relação às das plantas micorrizadas por fungos nativos. Já em plantas estressadas, nota-se o inverso. O menor valor da TCR para as plantas colonizadas por fungos selecionados pode indicar um custo da colonização para a planta, o qual se traduziria pelo dreno dos fotossintatos da planta para os fungos. Já sob condições de deficiência hídrica, o aumento da TCR em plantas associadas a fungos selecionados pode indicar que estes não representam um custo para as plantas que passam a ser beneficiadas pela associação micorrízica.

As plantas sob menor disponibilidade de água, colonizadas por FMA nativos aumentaram a densidade estomática, enquanto que as plantas colonizadas por FMA selecionados não tiveram esse efeito. Isto indica que as plantas colonizadas por FMA selecionados estavam com maior disponibilidade de água que aquelas colonizadas por FMA nativos. Este resultado parece ser consequência do aumento significativo na quantidade do aminoácido prolina em plantas colonizadas por FMA selecionados em relação às plantas colonizadas por FMA nativos. Maior concentração de prolina leva a uma diminuição do potencial osmótico da folha (AUGÉ, 2001; DIALLO *et al.*, 2001), o que contribui para a diminuição da transpiração e a manutenção da turgescência (KIYOSUE *et al.*, 1996; TAYLOR, 1996), resultando em elevação do potencial de água da planta (LEVITT, 1980).

Freqüentemente, a diminuição do potencial de água na planta leva a uma diminuição da condutância estomática, o que restringe a entrada de gás carbônico, levando conseqüentemente à diminuição da fotossíntese (NAUTYAL *et al.*, 1994). Em plantas colonizadas por FMA selecionados, o aumento na concentração de prolina pode ter evitado uma diminuição na condutância estomática, o que resultou no aumento de biomassa da parte aérea nestas plantas em relação àquelas colonizadas por FMA nativos.

Estes resultados mostram a maior eficiência da associação com FMA selecionados que com FMA nativos em aumentar a resistência das plantas à seca. CHU *et al.* (2004) comentam que a presença da microbiota nativa, incluindo os fungos micorrízicos, pode influenciar o funcionamento de espécies de FMA selecionadas, sendo, portanto, necessário conhecer os efeitos da inoculação no solo natural, sem desinfecção, para prever o grau de sucesso na prática de inoculação em condições de campo. Os resultados encontrados indicam que plantas de *T. avellanadae* podem ter sua resistência ao estresse hídrico aumentada em condições de campo com a inoculação por *G. clarum* e *G. etunicatum*.

3. Colonização micorrízica

A intensidade de luz afetou a colonização micorrízica, sendo a colonização mais alta em maior nível de luz, tanto em plantas inoculadas por FMA selecionados, *Glomus clarum* e *Glomus etunicatum*, como naquelas colonizadas por FMA nativos. Em baixa intensidade de luz (RFA máxima de $34 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), simulando aquela existente em sub-bosque sob denso dossel da floresta, a colonização micorrízica foi praticamente nula. A inibição da colonização micorrízica pela baixa intensidade luminosa tem sido observada em espécies herbáceas (SMITH e GIANINAZZI-PEARSON, 1990; MARSCHNER e TIMONEN, 2005) e arbóreas florestais (GEHRING 2003; AARLE *et al.*, 2005). A baixa colonização micorrízica em baixa

intensidade de luz, encontrada em *T. avellanadae* e em outras espécies, é explicada pela menor alocação de carbono para as raízes (MARSHNER e TIMONEN, 2005) e menor exsudação radicular (GEHRING, 2003), uma vez que os FMA necessitam dos produtos de fotossíntese da planta hospedeira (HURST *et al.*, 2002). A ineficiência na obtenção do fósforo (HAYMAN, 1974) e a competição entre os simbiontes por carbono (BÉREAU *et al.*, 2005), também, são mecanismos propostos para explicar a redução na colonização micorrízica em baixa intensidade luminosa.

Em alta intensidade de luz (RFA máxima de $600 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), simulando a intensidade existente em clareira de médio porte, os níveis de colonização micorrízica foram significativamente mais altos. Em alta intensidade de luz foi encontrada uma quantidade de arbúsculos significativamente maior em plantas colonizadas por FMA selecionados que naquelas colonizadas por FMA nativos, indicando que a inoculação pode ter levado a uma maior eficiência na troca de material entre fungo e planta já que os arbúsculos funcionam como interface para as trocas nutricionais entre os simbiontes (SMITH e GIANINAZZI-PEARSON, 1988). Como é comum aos solos florestais, apresentar limitação na disponibilidade de fósforo (HURST *et al.*, 2002), devido ao baixo pH, a alta colonização por FMA apresentada por *T. avellanadae* em alta intensidade de luz, seria uma característica vantajosa para a espécie quando de sua ocorrência em clareiras, pois poderia ter mais fósforo disponível para o aumento da fotossíntese em maior intensidade de luz.

A disponibilidade de água também afetou a colonização micorrízica, sendo maior em plantas sob estresse hídrico em relação aquelas não estressadas, independente do tipo do fungo associado, se nativo ou selecionado. Esta resposta, embora verificada em outras espécies, como em espécies da região semi-árida do nordeste sob estresse hídrico (AMORIM *et al.*, 2004), não é uma resposta obrigatória para plantas estressadas BÉREAU *et al.* (2005), trabalhado com

espécies arbóreas, e RUIZ-LOZANO *et al.* (1995), trabalhado com espécies herbáceas, não encontraram aumento da colonização micorrízica com aumento da deficiência de água.

O tipo de fungo, nativos ou selecionados, associado às plantas não afetou a intensidade de colonização micorrízica. Entretanto, SOARES *et al.* (2003) encontraram maior colonização em *T. avellanadae* por *Glomus etunicatum*, *Gomus clarum* e *Glomus* sp. que para uma população nativa de FMA de um remanescente de Mata Atlântica. Esta discrepância entre os resultados pode ser explicada pelo fato de a população de FMA nativa ser diferente nos dois casos, já que a distribuição de populações de FMA é desuniforme e muito variável na natureza (SIQUEIRA, 1994), ou porque a comunidade de FMA nativa utilizada neste trabalho foi similar a do inóculo, composta por *Glomus clarum* e *G. etunicatum*, já que o gênero *Glomus* é comum em solos sob vegetação de Mata Atlântica (MAZZONI-VIVEIROS e TRUFEM, 2004).

A intensidade de colonização por FMA encontrada em *T. avellanadae*, em quaisquer das condições experimentadas, foi abaixo de 50 %, valor de intensidade considerado médio a baixo (ZANGARO *et al.*, 2003). CARNEIRO *et al.* (1998) e SOARES *et al.* (2003), também encontraram, em *T. impetiginosa* (Mart.) Standl. e *T. heptaphyla* Vell. Tol., colonização de intensidade similar à encontrada neste trabalho. *T. avellanadae* é espécie de final de sucessão (SOARES *et al.*, 2003 e ZANGARO *et al.*, 2003) e baixa resposta à colonização micorrízica em mudas de espécies arbóreas nativas foi associada a espécies de final de sucessão (CARNEIRO *et al.*, 1998; ZANGARO *et al.*, 2003). Entretanto, a correlação entre menor colonização e espécies tardias não foi corroborada por estudos de JANOS (1980) e HUANTE *et al.* (1993), que encontraram maior colonização micorrízica em espécies de final de sucessão.

4. Morfologia das micorrizas arbusculares (MA)

A morfologia de MA é controlada pelo genoma da planta, mas também por vários outros fatores como a espécie de fungo, a anatomia da raiz (CAVAGNARO *et al.*, 2001) e condições ambientais (SMITH e READ, 1997). As raízes de *T. avellaneda* apresentaram, independentemente das condições experimentadas, MA tanto com morfologia tipo *Arum*, com hifas intercelulares na região do córtex radicular, com arbúsculos intracelulares do tipo ramificado, como morfologia tipo *Paris*, com hifas intracelulares enoveladas, com pequenos arbúsculos. A presença conjunta em arbóreas florestais dos dois tipos de morfologia numa mesma espécie também foi encontrada por GROSS *et al.* (2003) em *Anadenanthera peregrina* var. *falcata*, embora a literatura relate que morfologia do tipo *Paris* é mais abundante em ecossistemas naturais (SMITH e SMITH, 1997) e principalmente nas florestas tropicais (BÉREAU *et al.*, 2005). Segundo SMITH e SMITH (1997) o tipo de morfologia *Paris* é mais comum em plantas primitivas, mas ANDRADE *et al.* (2001) constataram morfologia tipo *Arum* na espécie primitiva *Didymopanax angustissimum* (Araliaceae).

Em espécies arbóreas da Mata Atlântica e de Araucárias, como a *Casearia sylvestris*, *Cabralea canjerana*, *Anemia phyllitidis*, *Ilex paraguariensis* e *Araucaria angustifolia*, foi confirmada a presença de morfologia tipo *Paris* (ANDRADE *et al.*, 2001). No caso de *Anemia phyllitidis* e *Araucaria angustifolia*, a presença da morfologia tipo *Paris* está de acordo com SMITH e SMITH (1997) a predominância destas classes de plantas primitivas em MA.

Uma das principais questões no estudo de MA é onde a troca de nutrientes entre fungo e planta tem lugar (FRANKEN *et al.*, 2000). Nos arbúsculos da morfologia tipo *Arum* e nas hifas e arbúsculos das hifas enoveladas tipo *Paris*, há evidências de que em algumas espécies estudadas estas estruturas são os principais sítios de fornecimento de fósforo para a planta

hospedeira (AARLE *et al.*, 2005). Na transferência de carbono da planta para o fungo, estariam envolvidas as hifas intercelulares, uma vez que é nestas estruturas que se verifica a atividade de ATPases necessária ao transporte de carbono (HARRISON, 1999).

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

1. Plântulas de *Tabebuia avellanedae* apresenta plasticidade à variação de água e luz, o que favorece a sobrevivência ou mesmo o estabelecimento da espécie em ambientes subótimos para o máximo crescimento das plântulas.
2. Plântulas de *Tabebuia avellanedae* apresenta considerável colonização micorrízica por fungos selecionados e nativos, indicando que a espécie é passível de ser submetida à inoculação em ambientes naturais, sem que haja supressão da colonização por FMA selecionados pelos fungos nativos.
3. A ausência de micorrizas em *Tabebuia avellanedae* em intensidade de luz similar a de sub-bosque indica que a limitação da fotossíntese neste nível de luz torna o custo da simbiose muito alto, suplantando os benefícios que poderiam advir de uma associação com FMA.
4. A micorrização de plântulas de *Tabebuia avellanedae*, que ocorre em alta intensidade de luz, é vantajosa para o estabelecimento das plântulas em clareiras, pois o aporte de fósforo exigido para uma maior fotossíntese em presença de mais luz seria favorecido pela presença de micorrizas.
5. A colonização micorrízica sendo maior em estresse hídrico tem vantagens para o estabelecimento de plântulas em períodos mais secos, pois as hifas externas poderiam aumentar a superfície de captação de água e alterar o potencial osmótico da planta, favorecendo a captação de água.
6. A micorrização por fungos selecionados se mostrou benéfica para minimizar os efeitos da deficiência hídrica, indicando a importância da inclusão de uma população de FMA mais eficientes em ambientes suscetíveis à seca.

7. A presença conjunta de morfologia tipo *Arum* e *Paris* na espécie, característica esta pouco freqüente nas espécies estudadas até agora, reforça o que já vem sendo indicado, por vários autores sobre a necessidade de mais estudos sobre as micorrizas em espécies nativas para a compreensão do papel ecológico dessa associação em ambientes naturais.

7 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AARLE, I. M.; CAVAGNARO, T. R.; SMITH, S. E.; SMITH, F. A.; DICKSON, S. Metabolic activity of *Glomus intraradices* in Arum- and Paris-type arbuscular mycorrhizal colonization. **New Phytologist**. v.166, p.611-618. 2005.
- ABRANS, M.C.; KLOEPPPEL, B.D.; KUBISKE, M.E. Ecophysiological and morphological responses to shade and drought in two contrasting ecotypes of *Prunus serotina*. **Tree Physiology**. v.10, p.343-355. 1992.
- AMORIM, S. M. C.; PAIM, A. C. B.; SILVA, M. G. Efeito do déficit hídrico sobre a colonização endomicorrízica em duas espécies vegetais típicas da região semi-árida do nordeste. **Revista de Biotecnologia, Ciência e Desenvolvimento**. v.33, p.23-26. 2004.
- ANDERSON, R. C.; EBBERS, B. C.; LIBERTA, A. E. Soil moisture influences colonization of prairie cordgrass (*Spartina pectinata* Lind.) by vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. **New Phytologist**. v.102, p. 523-527. 1986.
- ANDRADE, A. C. S.; QUEIROZ, M. H.; HERMES, R. A. L.; OLIVEIRA, V. L. Mycorrhizal status of some plants of the Araucária Forest and the Atlantic rainforest in Santa Catarina, Brazil. **Mycorrhiza**. v.10, p.131-136. 2001.
- AUGÉ, R. M. Water relations, drought and vesicular-arbuscular mycorrhizal symbiosis. **Mycorrhiza**. v.11, p.3-42. 2001.
- AUGÉ, R. M. Arbuscular mycorrhizae and soil/plant water relations. **Canadian Journal of Soil Science**. p.373-381. 2004.
- AUGÉ, R. M. ; SCHEKEL, K. A.; WAMPLE, R. L. Rose leaf elasticity changes in response to mycorrhizal colonization and drought acclimation. **Physiology Plantarum**. v. 70, p.175-182. 1987.
- BALLARÉ, C. L.; SCOPEL, A. L.; SÁNCHEZ, R. A. Foraging for light: photosensory ecology and agricultural implications. **Plant Environment**. v.20, p.820-825. 1997.
- BÉREAU, M.; Effects of endomicorrhizal development and light regimes on the growth of *Dicorynia guianensis* Amshoff seedlings. **Annals Forest Science**. v.57, p.725-733. 2000.

- BÉREAU, M.; BONAL, D.; LOUISANNA, E.; GARBAYE, J. Do mycorrhizas improve tropical tree seedling performance under water stress and low light conditions? A case study with *Dicorynia guianensis* (Caesalpiniaceae). **Journal of Tropical Ecology**. v.21, p.375-381. 2005.
- BIERMANN, B.; LINDERMAN, R. G. Use of vesicular-arbuscular mycorrhizal roots, intraradical vesicles and extraradical vesicles as inoculum. **New Phytologist**. v.95, p.97-105. 1983.
- BOKHARI, U. G.; TRENT, J. D. Proline concentrations in water stressed grasses. **Journal of Range Management**. v.38, n.1, p.37-38, 1985.
- BOLAN, N. S. A critical review on the role of mycorrhizal fungi in the uptake of phosphorus by plants. **Plant Soil**. v.134, p.189-207, 1991.
- BORDIGNON, S. A. L.; MENTZ, L. A. Nomenclatura botânica, classificação e identificação de plantas medicinais. In: SIMÕES, C. M.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. (Eds.) - **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. Florianópolis: UFSC; Porto Alegre: UFRGS, p.147-162, 1999.
- BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. **Avaliação e identificação de áreas prioritárias para conservação, utilização sustentável e repartição de benefícios da biodiversidade brasileira**. Brasília. 2002. 404p.
- BRUNDRETT, M.; KENDRICK, B. The roots and mycorrhizas of herbaceous woodland plants: Quantitative aspects of morphology. **New Phytologist**. v.114, p.457-468. 1990.
- CABRAL, E. L.; BARBOSA, D. C. A.; SIMABUKURO, E. A. Crescimento de plantas jovens de *Tabebuia aurea* (Manso) Benth & Hook.f. ex S. Moore submetidas a estresse hídrico. **Acta Botânica Brasilica**. v.18, n.2, p.241-251. 2004.
- CARNEIRO, M. A. C.; SIQUEIRA, J. O.; MOREIRA, F. M. S.; CARVALHO, D.; BOTELHO, S. A.; SAGGIN-JUNIOR, O. J. Micorriza arbuscular em espécies arbóreas e arbustivas nativas de ocorrência no Sudoeste do Brasil. **Cerne**. v.4, n.1, p.129-145. 1998.
- CALBO, M. E. R.; MORAES, J. A.. Efeitos da deficiência de água em plantas de *Euterpe oleracea* (açai). **Revista Brasileira de Botânica**. v.23, p.225-230, 2000.
- CAVAGNARO, T. R., GAO, L-L., SMITH, F. A., SMITH, S. E. Morphology of arbuscular mycorrhizas is influenced by fungal identity. **New Phytologist**. v.151, p.469-475. 2001.

- CHAVES, M. M.; PEREIRA, J. S.; MAROCO, J.; RODRIGUES, M. L.; RICARDO, C. P. P.; OSÓRIO, M. L.; CARVALHO, I.; FARIA, T.; PINHEIRO, C. How plants cope with water stress in the field? photosynthesis and growth. **Annals of Botany**. v.89, p.907-916. 2002.
- CHAZDON, R. L.; FETCHER, N. Photosynthetic light environments in a lowland tropical rain forest in Costa Rica. **Journal of Ecology**. v.72, p.553-564, 1984.
- CHU, E. Y.; YARED, J. A. G.; MAKI, H. J. I. O. Efeitos da inoculação micorrízica e da adubação fosfatada em mudas de *Vochysia maxima* Ducke. **Revista Árvore**. v.28, p.157-165. 2004.
- DALLING, J. W. LOVELOCK, C. E.; HUBBELL, S. P. Growth responses of seedlings of two neotropical pioneer species to simulated of forest gap environments. **Journal Tropical Ecology**. v.15, p.827-839. 1999.
- DAVIES, F. T.; POTTER, J. R.; LINDERMAN, R. G. Mycorrhiza and repeated drought exposure affect drought resistance and hyphae development of pepper plants independent of plant size and nutrient. **Journal of Plant Physiology**. v.139, n.3, p.289-294.1992.
- DEMMIG-ADAMS, B.; ADAMS, W. W. The role of xanthophyll cycle carotenoids in the protection of photosynthesis. **Trends in Plant Science**. v.1, p.21-26. 1996.
- DIALLO, A. T.; SAMB, P. I.; ROY-MACAULEY, H. Water status and stomatal behaviour of cowpea, *Vigna unguiculata* (L.) Walp, plants inoculated with two *Glomus* species at low soil moisture levels. **European Journal of Soil Biology**. v.37, p.187-196. 2001.
- DUZ, S. R.; SIMINSKI, A.; SANTOS, M.; PAULILO, M. T. S. Growth response of three woody species seedlings from the tropical atlantic rain forest to contrasting light conditions. **Brazilian Journal of Botany**. v.27, p.587-596. 2004.
- ENTRY, J. A.; RYGIEWIEZ, P. T.; WATRUD, L. S.; DONNELLY, P. K. Influence of adverse soil conditions on the formation and function of arbuscular mycorrhizas. **Advances in Environmental Research**. v.7, p.123-138. 2002.
- EVANS, J. R.; EDWARDS, E. Nutrient uptake and use in plant growth. **Net Ecosystem Exchange CRC Workshop Proceedings**. Cap.10, p.75-81. 2001.
- FITTER, A. H; HAY, R. K. M. **Environmental physiology of plants**. USA: Academic Press. 1987. 422p.

- FITTER, A. H.; MOYERSON, B. Evolutionary trends in root-microbe symbioses. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London – Series B – Biological Sciences*. v.351, p.1367-1375. 1996.
- FRANKEN, P.; REQUENA, N.; BÜTEHORN, B.; KRAJINSKI, F.; KUHN, G.; LAPOPIN, L.; MANN, P.; RHODY, D.; STOMMEL, M. Molecular analysis of the arbuscular mycorrhiza symbiosis. *Arch. Agronomy Soil Science*. v.45, p.271-286. 2000.
- GEHRING, C.A. Growth responses to arbuscular mycorrhizae by rain forest seedlings vary with light intensity and tree species. *Plant Ecology*. v.167, p.127-139. 2003.
- GIANINAZZI, S.; GIANINAZZI-PEARSON, V. Cytology, histochemistry and immunocytochemistry as tools for studying structure and function in endomycorrhiza. In: *Methods in Microbiology*. v.24, p.109-139. 1992.
- GIVNISH, T. J. Adaptation to sun and shade: a whole perspective. *Australian Journal of Plant Physiology*. v.15, p.63-92.1988.
- GOICOECHEA, N.; ANTOLIN, M. C.; SÁNCHEZ-DÍAZ, M. Influence of arbuscular mycorrhizae and *Rhizobium* on nutrient content and water relations in drought stressed alfafa. *Plant and Soil*. v.192, p.261-268.1997.
- GROSS, E.; CORDEIRO, L.; CAETANO, F. H. Anatomical and ultrastructural aspects of root and mycorrhiza of *Anadenanthera peregrina* (L.) Speg. var. *falcata* (Benth.) Altschul (Leguminosae-Mimosoideae). *Revista Brasileira de Botânica*. v.26, p.515-523. 2003.
- HAIG, D.; WESTOBY, M. Seed size, pollination costs and angiosperm success. *Evolutionary Ecology*. v.5, p.231-247, 1991.
- HAYMAN, D. S. Plant growth responses to vesicular-arbuscular mycorrhiza. *New Phytologist*. v.73, p.71-80. 1974.
- HARRISON, M. J. Molecular and celular aspects of the arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Journal of Plant Physiology*. v.50, p.361-389. 1999.
- HOLFORD, I. C. R. Soil phosphorus: its measurement and, its uptake bu plants. *Australian Journal of Soil research*. v.35, p277-239. 1997.

- HSIAO, T. C.; XU, L.K. Sensitivity of growth of roots versus leaves to water stress: biophysical analysis and relation to water transport. **Journal of Experimental Botany**. v. 51, n. 350, p. 1595-1616. 2000.
- HUANTE, P.; RINCON, E.; ALLEN, E. B. Effect of vesicular-arbuscular mycorrhizae on seedlings growth of four tree species from the tropical deciduous forest in Mexico. **Mycorrhiza**. v.2, p.141-145. 1993.
- HUNT, R. **Plant growth curves**. The functional approach to plant growth analysis. London: Edward Arnold, 1982. 248p.
- HURST, S. E.; TURNBULL, M. H.; NORTON, D. A. The effect of plant light environment on mycorrhizal colonisation in field-grown seedlings of podocarp-angiosperm forest tree species. **New Zealand Journal of Botany**. v.40, p.65-72. 2002.
- JANOS, D. P. Vesicular-arbuscular mycorrhizae affect lowland tropical rain forest plant growth. **Ecology**. v.61, p.151-162. 1980.
- JOLY, A. B. **Botânica: introdução à taxonomia vegetal**. 13. ed. São Paulo: Nacional, 2002. 777 p.
- KAMALUDIN, M.; GRACE, J. Photoinhibition and light acclimation in seedlings of *Bischofia javanica*, a tropical forest tree from Asia. **Annals of Botany**. v.69, p.47-52. 1992.
- KITAJIMA, K. Ecophysiology of tropical tree seedlings. In: MULKEY, S. S.; CHAZDON, R. L.; SMITH, A. P. (Eds.) - **Tropical Forest Plant Ecophysiology**. New York: Chapman & Hall, p.559-595. 1996.
- KIYOSUE, T.; YOSHIBA, Y.; YAMAGUCHI-SHINOZAKI, K.; SHINOZAKI, K. A nuclear gene encoding mitochondrial proline dehydrogenase, an enzyme involved in proline metabolism, is upregulated by proline but downregulated by dehydration in *Arabidopsis*. **The Plant Cell**. v.8, p.1323-1335.1996.
- KORHONEN, J.; KYTÖVIITA, M.M.; SIIKAMÄKI, P. Are resources allocated differently to symbiosis and reproduction in *Geranium sylvaticum* under different light conditions? **Canadian Journal of Botany**. v.82, p.89-95. 2004.
- LAMBERS, H.; CHAPIN, F. S.; PONS, T. L. **Plant Physiological Ecology**. New York: Springer-Verlag, 1998. 540p.

- LARCHER, W. **Ecofisiologia vegetal**. São Carlos: Rima. 2000. 531p.
- LAWLOR, D.W. **Photosynthesis: metabolism, control and physiology**. Essex: Longman Scientific & Technical. 1987. 262p.
- LECOEUR, J.; SINCLAIR, R. T. Field pea transpiration and leaf growth in response to soil water deficits. **Crop Science**. v.36, p.331-335.1996.
- LEE, D. W.; BASKARAN, K.; MANSOR, M.; MOHAMAD, H.; YAP, S. K. Irradiance and spectral quality affect Asian tropical rain forest tree seedling development. **Ecology**. v.77, p.568-580. 1996.
- LEE, D. W.; OBERBAUER, F.; HARRIS, M.; MARZALINA, M.; YAP, S. K. Effects of irradiance and spectral quality on the seedlings of jelutong (*Dyera costulata*). **Journal of Tropical Forest Science**. v.11, p.132-147. 1999.
- LEE, D. W.; OBERBAUER, F.; JOHNSON, P.; KRISHNAPILAY, B.; MANSOR, M.; MOHAMAD, H.; YAP, S. K. Effects of irradiance and spectral quality on leaf structure and function in seedlings of two Southeast Asian *Hopea* (Dipterocarpaceae) species. **American Journal of Botany**. v.87, n.4, p.447-455, 2000.
- LEVITT, J. D. **Responses of plants to environmental stresses**. v.1, 2.ed. London: Academic Press. 1980. 497p.
- 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, p.1-19. 1983.
- LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais no Brasil nativas e exóticas**. São Paulo: Plantarum, 2002. p.93-94.
- LOVATO, P. E.; 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.
- LOVELOCK, C. E.; WRIGHT, S. F.; CLARK D. A.; RUESS, R. W. Soil stocks of glomalin produced by arbuscular mycorrhizal fungi across a tropical rain forest landscape. **Journal of Ecology**. v. 92, p.278. 2003.

- MALONE, S. R.; MAYEUX, H. S.; JOHNSON, H. B.; POLLEY, H. W. Stomatal density and aperture length in four plant species grown across a subambient CO₂ gradient. **American Journal of Botany**. v.80, p.1413-1418. 1993.
- MARSCHNER, P.; TIMONEN, S. Interactions between plant species and mycorrhizal colonization on the bacterial community composition in the rhizosphere. **Applied Soil Ecology**. v.28, p.23-36. 2005.
- MAZZONI-VIVEIROS, S.; TRUFEM, S. F. B. Efeitos da poluição aérea edáfica no sistema radicular de *Tibouchina pulchra* Cogn. (Melastomataceae) em área de Mata Atlântica: associações micorrízicas e morfologia. **Revista Brasileira de Botânica**. v.27, p.337-348. 2004.
- MCGONIGLE, T. P.; HOVIUS, J. P.; PETERSON, R. L. Arbuscular mycorrhizae of American ginseng (*Panax quinquefolius*) in cultivated field plots: plant age affects the development of a colonization lag phase. **Canadian Journal of Botany**. v.77, n. 7, p.1028-1034. 1999.
- MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e Bioquímica do solo**. Lavras: UFLA. 2002. 625p.
- MORTE, A.; LOVISOLO, C.; SCHUBERT, A. Effect of drought stress on growth and water relations of the mycorrhizal association *Helianthemum almeriense* - *Terfezia clavertyi*. **Mycorrhiza**. v.10, p.115-119. 2000.
- NAUTIYAL, S; BADOLA, H. K.; PAL, M.; NEGI, D. S. Plant responses to water stress: changes in growth dry matter production, stomatal frequency and leaf anatomy. **Biologia Plantarum**. v.36, p.91-97. 1994.
- OSUNKOYA, O. O.; ASH, J. E.; HOPKINS, M. S.; GRAHAM, A. W. Influence of seed size and seedling ecological attributes on shade-tolerance in northern Queensland. **Journal of Ecology**. v.82, p.149-163. 1994.
- PAIVA, A.V.; POGGIANI, F. Crescimento de mudas de espécies arbóreas nativas plantadas no sub-bosque de um fragmento florestal. **Scientia Florestalis**. n.57, p.141-51. 2000.
- PEREIRA, J. S.; PALLARDI, S. Water stress limitation to tree productivity. In: PEREIRA, J. S.; LANDSBERG, J. J. (Eds.) - **Biomass production by fast growing trees**. London: Kluwer Academic, 1989. p.37-56.

- PHILLIPS, J. M.; HAYMAN, D. S. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. **Transactions of the British Mycological Society**. v.55, p.158-160. 1970.
- PIO CORRÊA, M. **Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas**. Rio de Janeiro: Ministério da Agricultura/IBDF, v.4, 1984. p.331-332.
- PIROZYNSKI, K. A.; MALLOCH, D. W. The origin of land plants: a matter of mycotrophism. **Biosystems**. p.153-164, 1975.
- POORTER, L. Growth responses of 15 rain-forest tree species to a light gradient: the relative importance of morphological and physiological traits. **Functional Ecology**. v.13, p.396-410, 1999.
- POPMA, J.; BONGERS, F. Acclimation of seedlings of three Mexican tropical rainforest tree species to a change in light availability. **Journal of Tropical Ecology**. v.7, p.85-97, 1991.
- READ, D. Mycorrhizal fungi: the ties that bind. **Nature**. v.388, p.517-518, 1997.
- REIS, A.; FANTINI, A. C.; REIS, M. S.; GUERRA, M. P.; DOEBELI, G. Aspectos sobre a conservação da biodiversidade e o manejo de floresta tropical atlântica. In: **Congresso Nacional sobre Essências Nativas**, 2 São Paulo. **Anais**. Publicado na Revista do Instituto Florestal, São Paulo. parte 1, edição especial. v.4, p.169-173.1992.
- REITZ, R. **Flora Ilustrada Catarinense**. Bignoniáceas. Itajaí: Herbário Barbosa Rodrigues, 1974. 172p.
- REITZ, R.; KLEIN, R. M.; REIS, A. **Madeiras do Brasil**. Florianópolis: Lunardelli, 1979. 320p.
- RUIZ-LOZANO, J. M. Arbuscular mycorrhizal symbiosis and alleviation of osmotic stress. New perspectives for molecular studies. **Mycorrhiza**. v.13, p.309-317. 2003.
- RUIZ-LOZANO, J. M.; AZCON, R.; GOMEZ, M. Effects of arbuscular-mycorrhizal *Glomus* species on drought tolerance: physiological and nutritional plant responses. **Applied and Environmental Microbiology**. v.61, n.2, p.456-460.1995.
- SCHÄFER, W. B.; PROCHNOW, M. **A Mata Atlântica e você: como preservar, recuperar e se beneficiar da mais ameaçada floresta brasileira**. Apremavi, Brasília, 2002. 156p.

- SCHÜSSLER, A.; SCHWARZOTT, D.; WALKER, C. A new fungal phylum, the *Glomeromycota*: phylogeny and evolution. **Mycological Research**. v.12, p.1413-1421. 2001.
- SILVA, H.; MARTINEZ, J. P.; BAGINSKY, C.; PINTO, M. Efecto del déficit hídrico en la anatomía foliar de seis cultivares de poroto *Phaseolus vulgaris*. **Revista Chilena de Historia Natural**. v.72, p.219-235.1999.
- SIMPSON, D.; DAFT, M. J. Interactions between water-stress and different mycorrhizal inocula on plant growth and mycorrhizal development in maize and sorghum. **Plant and Soil**. v.121, n.2, p.179-186. 1990.
- SIQUEIRA, J. O. Micorrizas Arbusculares. In: ARAUJO, R.S; HUNGRIA, M. (Eds). **Microrganismos de importância agrícola**. EMBRAPA: SPI. p.151-194.1994.
- SMITH, H.; HAYWARD, P. Fluence rate compensation of the perception of red: far-red ratio by phytochrome in light-grown seedlings. **Photochemistry and Photobiology**. v.42, p.685-688. 1985.
- SMITH, S. E.; GIANINAZZI-PEARSON, V. Physiological interactions between symbionts in vesicular-arbuscular mycorrhizal plants. **Annual Review Plant Physiology Plant Molecular Biology**. v.39, p.221-244, 1988.
- SMITH, S. E.; GIANINAZZI-PEARSON, V. Phosphate uptake and arbuscular activity in mycorrhizal *Allium cepa* L.: Effects of photon irradiance and phosphate nutrition. **Australian Journal of Plant physiology**. v.17, p.177-188. 1990.
- SMITH, S. E.; READ, D. J. **Mycorrhizal symbiosis**. London: Academic Press, 1997. 605p.
- SMITH, F. A.; SMITH, S. E. Tansley Review n° 96. Structural diversity in (vesicular) – arbuscular mycorrhizal symbioses. **New Phytologist**. v.137, p.373-388. 1997.
- SOARES, A. C. F.; GARRIDO, M. S.; AZEVEDO, R. L.; MENDES L. N.; GRAZZIOTTI, P. H. Produção de mudas de ipê-roxo inoculadas com fungos micorrízicos arbusculares. **Magistra**. v.15, n.2, 2003.
- STATISOFT, Inc. **STATISTICA** (data analysis software system), version 6. www.statsoft.com. 2001.

- STEINBERG, S. L.; MILLER, J. C.; MCFARLAND, M. J. Dry matter partitioning and vegetative growth of young peach trees under water stress. **Australian Journal of Plant Physiology**. v.17, p.23-36, 1990.
- TAYLOR, C. B. Proline and water deficit: ups, downs, ins, and outs. **The Plant Cell**. v.8, p.1221-1224. 1996.
- TROUVELOT, A.; KOUGH, J. L.; GIANINAZZI-PEARSON, V. Mesure du taux de mycorhization VA d'un système racinaire. Recherche de méthodes d'estimation ayant une signification fonctionnelle. In: GIANINAZZI-PEARSON, V. e GIANINAZZI, S. **Mycorrhizae: physiology and genetics**. p.217-221, 1986.
- WELANDER, N. T.; OTTOSSON, B. The influence of shading on growth and morphology in seedlings of *Quercus rubur* L. and *Fagus sylvatica* L. forest. **Ecology and Management**. v.107, p.117-126. 1998.
- WHITMORE, T. C. **An introduction to tropical rain Forest**. New York: oxford University Press. 1990. 226p.
- ZAGDANSKA, B.; KOZDOJ, J. Water stress-induced changes in morphology and anatomy of flag leaf of spring wheat. **Acta Societatis Botanicorum Poloniae**. v.63, n.1, p.61-66, 1994.
- ZANGARO, W.; NISIZAKI, S. M. A.; DOMINGOS, J. C. B.; NAKANO, E. M. Mycorrhizal response and successional status in 80 woody species from south Brazil. **Journal of Tropical Ecology**. v.19, p.315-324, 2003.