



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

**DIVERSIDADE DE FUNGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES E
SUA RELAÇÃO COM ATRIBUTOS DO SOLO EM ÁREA DE MILHO
SOB MONOCULTIVO E EM CONSÓRCIO COM FORRAGEIRAS NO
CERRADO**

DANIEL FERNANDO SALAS MÉNDEZ

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM AGRONOMIA

BRASÍLIA/DF

JULHO 2016



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

**DIVERSIDADE DE FUNGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES E
SUA RELAÇÃO COM ATRIBUTOS DO SOLO EM ÁREA DE MILHO
SOB MONOCULTIVO E EM CONSÓRCIO COM FORRAGEIRAS NO
CERRADO**

DANIEL FERNANDO SALAS MÉNDEZ

ORIENTADOR: ALESSANDRA MONTEIRO DE PAULA

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM AGRONOMIA

PUBLICAÇÃO: 122/2016

BRASÍLIA/DF

JULHO 2016



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

**DIVERSIDADE DE FUNGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES E
SUA RELAÇÃO COM ATRIBUTOS DO SOLO EM ÁREA DE MILHO
SOB MONOCULTIVO E EM CONSÓRCIO COM FORRAGEIRAS NO
CERRADO**

DANIEL FERNANDO SALAS MÉNDEZ

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO SUBMETIDA AO PROGRAMA DE PÓS-
GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA, COMO PARTE DOS REQUISITOS
NECESSÁRIOS À OBTENÇÃO DO GRAU DE MESTRE EM AGRONOMIA.**

APROVADA POR:

Prof. Ph. Dra. ALESSANDRA MONTEIRO DE PAULA, FAV – UnB
Orientador – CPF: 82003220178, e-mail: alessandramp@unb.br

Prof. Ph. Dra. MARIA LUCRÉCIA GEROSA RAMOS, FAV – UnB
Examinador Interno – CPF: 002.094.438-12, e-mail: lucrecia@unb.br

Prof. Dra. MARIA LUIZA DE FREITAS KONRAD, UFT
Examinador Externo – CPF:03600594828, e-mail: konrad@mail.uft.edu.br

BRASÍLIA/DF, 29 de julho de 2016

FICHA CATALOGRÁFICA

Daniel Fernando Salas Méndez

Diversidade de fungos micorrízicos arbusculares e sua relação com atributos do solo em área de milho sob monocultivo e em consórcio com forrageiras no Cerrado. / Daniel Fernando Salas Méndez; orientação de Alessandra Monteiro de Paula - Brasília, 2016.

106 p. : il.

Dissertação de Mestrado(M) – Universidade de Brasília/ Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, 2016.

1. Sistemas de manejo agrícola. 2. Atributos do solo. 3. Fungos micorrízicos arbusculares.

I. Paula, A. M. II Ph.

D. CDD ou CDU

Agris / FAO

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

MENDÉZ, D. F. S. **Diversidade de Fungos Micorrízicos Arbusculares e sua relação com atributos do solo em área de milho sob monocultivo e em consórcio com forrageiras no Cerrado.** Brasília: Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, 2016, 106 p. Dissertação de Mestrado.

CESSÃO DE DIREITOS

NOME DO AUTOR: Daniel Fernando Salas Méndez

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: Diversidade de fungos micorrízicos arbusculares e sua relação com atributos do solo em área de milho sob monocultivo e em consórcio com forrageiras no Cerrado.

GRAU: Mestre ANO: 2016

É concedida à Universidade de Brasília de Brasília permissão para reproduzir cópias desta dissertação de mestrado para única e exclusivamente propósitos acadêmicos e científicos. O autor reserva para si os outros direitos autorais, de publicação. Nenhuma parte desta dissertação de mestrado pode ser reproduzida sem a autorização por escrito do autor. Citações são estimuladas, desde que citada à fonte.

Nome: Daniel Fernando Salas Méndez

CPF: 06966677116

Endereço: Quadra 207, Edifício Imprensa IV bloco D, apto 304 – Aguas Claras – Brasília/DF.
Tel. (61) 982870733 / email: salas.daf.agro@gmail.com

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, à virgem de Guadalupe e à vida por ter me apresentado esta oportunidade e pela saúde e força para concluir estes trabalho.

À minha família pelo grande apoio emocional e acompanhamento desta etapa da minha vida.

À professora Alessandra Monteiro de Paula pela valiosa orientação, apoio e confiança ao longo deste caminho.

À banca examinadora da defesa da dissertação, professora Maria Lucrécia Gerosa Ramos e Maria Luiza de Freitas Konrad pela grande contribuição no trabalho.

À Embrapa Agrobiologia, em especial ao Dr. Orivaldo Saggin-Junior e a Itamar Garcia do laboratório de micorrizas pela valiosa contribuição do desenvolvimento do projeto de pesquisa.

Ao professor Jader e ao técnico do laboratório de química do solo pela contribuição na realização dos análises químicos do solo.

Ao coordenador do programa da FAV Ernandes Rodrigues de Alencar e ao Guilherme, assistente da secretaria, pelo apoio acadêmico de ser possível legalmente este curso.

Aos meus colegas e amigos que fazem parte da equipe de trabalho no laboratório de Bioquímica e Microbiologia do solo da FAV e laboratório de fitopatologia do IB da UnB.

À Universidade de Brasília pela oportunidade de realizar o curso.

Ao CONACyT, grupo COIMBRA e Embaixada do México no Brasil pelo apoio e confiança oferecida durante o curso.

LISTA DE FIGURAS

Figura 3.1 Distribuição da precipitação pluvial e temperatura média mensal da área experimental no período de novembro de 2014 a abril de 2015 (Fonte: Estação meteorológica automática da Fazenda Água Limpa – UnB).21

Figura 5.1 Relação dos atributos químicos e microbiológicos: pH (pH); alumínio trocável (Al^{3+}); cálcio+magnésio (Ca+Mg); fósforo (P); potássio (K); carbono orgânico total (COT); matéria orgânica (MO) carbono da biomassa microbiana (Cmic); quociente microbiano (qMic) e proteína do solo relacionada à glomalina – facilmente extraível (GLO) com as áreas de estudo pela análise de componentes principais (ACP). Diferentes sistemas de manejo em três repetições milho em sistema monocultivo (M); milho em consórcio com *P. maximum* cv. Aruana (MA); milho em consórcio com *U. humidicola* (MB); área sob pastagem *P. maximum* cv. Aruana (A); área sob pastagem *U. humidicola* (B) e área nativa de Cerrado (C). Em solo Latossolo Vermelho distrófico típico no Cerrado, DF.52

Figura 5.2 Colonização micorrízica de plantas submetidas a diferentes sistemas de manejo: milho em sistema monocultivo (M); milho em consórcio com *P. maximum* cv. Aruana (MA); milho em consórcio com *U. humidicola* (MB); área sob pastagem *P. maximum* cv. Aruana (A); e área sob pastagem *U. humidicola* (B). Em solo Latossolo vermelho distrófico típico no Cerrado, DF. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste Tukey a 5%. Barra representa o desvio padrão de três repetições.....54

Figura 5.3 Densidade de esporos de FMAs recuperados em 50 mL de solo em diferentes sistemas de manejo: milho em sistema monocultivo (M); milho em consórcio com *P. maximum* cv. Aruana (MA); milho em consórcio com *U. humidicola* (MB); área sob pastagem *P. maximum* cv. Aruana (A); área sob pastagem *U. humidicola* (B) e área de Cerrado (C). Em solo Latossolo Vermelho distrófico típico no Cerrado, DF. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste Tukey a 5%. Barra representa o desvio padrão de três repetições.....57

Figura 5.4 Esporos de fungos micorrízicos arbusculares identificados nas diferentes áreas de estudo: (A) *Glomus macrocarpum*; (B) *Claroideoglossum etunicatum*; (C)

Paraglomus brasilianum; (D) *Diversispora tortuosa*; (E) *Scutellospora cerradensis*; (F) *Acaulospora scrobiculata*; (G) *Acaulospora mellea*; (H) *Acaulospora rehmi*; (I) *Gigaspora* sp.; (J) *Ambispora leptoticha*; (K) *Dentiscutata heterogama*; (L) *Acaulospora foveata*.....62

Figura 5.5 Frequência relativa (%) por gêneros de FMAs recuperados em 50 mL de solo coletado na camada de 0 - 10 cm em diferentes sistemas de manejo: milho em sistema monocultivo (M); milho em consórcio com *P. maximum* cv. Aruana (MA); milho em consórcio com *U. humidicola* (MB); área sob pastagem *P. maximum* cv. Aruana (A); área sob pastagem *U. humidicola* (B) e área nativa de Cerrado (C). Em solo Latossolo Vermelho distrófico típico no Cerrado, DF.....64

Figura 5.6 Dendograma de similaridade da comunidade de FMAs a partir da avaliação morfológica dos esporos, construído com o índice de Bray-Curtis. Método de agrupamento UPGMA, mostrando os agrupamentos de diferentes sistemas de manejo em três repetições: milho em sistema monocultivo (M1, M2, M3); milho em consórcio com *P. maximum* cv. Aruana (MA1, MA2, MA3); milho em consórcio com *U. humidicola* (MB1, MB2, MB3); área sob pastagem *P. maximum* cv. Aruana (A1, A2, A3); área sob pastagem *U. humidicola* (B1, B2, B3) e área nativa de Cerrado (cerrado), em solo Latossolo Vermelho distrófico típico no Cerrado, DF.68

Figura 5.7 Dendograma de similaridade genética da comunidade de FMAs construído com o índice de Jaccard. Método de agrupamento UPGMA, mostrando os agrupamentos de diferentes sistemas de manejo em três repetições: milho em sistema monocultivo (M1, M2, M3); milho em consórcio com *P. maximum* cv. Aruana (MA1, MA2, MA3); milho em consórcio com *U. humidicola* (MB1, MB2, MB3); área sob pastagem *P. maximum* cv. Aruana (A1, A2, A3); área sob pastagem *U. humidicola* (B1, B2, B3) e área nativa de Cerrado (CR1 e CR2), em solo Latossolo Vermelho distrófico típico no Cerrado, DF. Números indicam a repetição do experimento.....71

Figura 5.8 Número de bandas visualizados nos géis com gradiente desnaturante (DGGE) nos diferentes sistemas de manejo em três repetições: milho em sistema monocultivo (M1, M2, M3); milho em consórcio com *P. maximum* cv. Aruana (MA1,

MA2, MA3); milho em consórcio com *U. humidicola* (MB1, MB2, MB3); área sob pastagem *P. maximum* cv. Aruana (A1, A2, A3); área sob pastagem *U. Humidicola* (B1, B2, B3) e área nativa de Cerrado (CR1 e CR2), em solo Latossolo Vermelho distrófico típico no Cerrado, DF.....72

Figura 5.9 Relação de espécies de FMAs: *Glomus macrocarpum* (*Gmacr*); *Claroideoglomus etunicatum* (*Cetu*); *Paraglomus brasilianum* (*Pbras*); *Diversispora tortuosa* (*D tort*); *Scutellospora cerradensis* (*Scer*); *Acaulospora scrobiculata* (*Ascr*); *Acaulospora mellea* (*Amel*); *Acaulospora rehmi* (*Areh*); *Gigaspora sp.* (*Gg sp*); *Glomus microaggregatum* (*Gmic*); *Ambispora leptoticha* (*AmLep*); *Dentiscutata heterogama* (*Dhet*); *Glomus claviforme* (*Gclav*); *Rhizophagus fasciculatus* (*Rfasc*) e *Acaulospora foveata* (*Afov*), atributos do solo e áreas de estudo da análise de componentes principais. Variáveis selecionadas: carbono orgânico total (COT); carbono da biomassa microbiana (CBM); proteína do solo relacionada à glomalina – facilmente extraível (GLO); Acidéz trocável (ACID); fósforo (P); potássio (K); cátions (Ca Mg) e pH (pH) em diferentes sistemas de manejo: milho em sistema monocultivo (M); milho em consórcio com *P. maximum* cv. Aruana (MA); milho em consórcio com *U. humidicola* (MB); área sob pastagem *P. maximum* cv. Aruana (A); área sob pastagem *U. humidicola* (B) e área nativa de Cerrado (C). Em Latossolo Vermelho distrófico típico no Cerrado, DF.....76

LISTA DE TABELAS

Tabela 2.1 Classificação dos FMAs, atualizada em Agosto 2013.	11
Tabela 2.2 Principais fatores que influenciam na formação e ocorrência de fungos micorrízicos arbusculares.....	13
Tabela 3.1 Caracterização química do solo da área experimental antes da instalação do experimento em 2014.....	22
Tabela 5.1 Produtividade de milho (kg/ha^{-1}) em diferentes sistemas de manejo: milho em sistema monocultivo (M); milho em consórcio com <i>P. maximum</i> cv. Aruana (MA); e milho em consórcio com <i>U. humidicola</i> (MB).	37
Tabela 5.2 Atributos químicos do solo: pH (pH); alumínio trocável (Al^{3+}); cálcio+magnésio (Ca+Mg); fósforo (P); potássio (K); carbono orgânico total (COT) e matéria orgânica (MO) em diferentes sistemas de manejo: milho em sistema monocultivo (M); milho em consórcio com <i>P. maximum</i> cv. Aruana (MA); milho em consórcio com <i>U. humidicola</i> (MB); área sob pastagem <i>P. maximum</i> cv. Aruana (A); área sob pastagem <i>U. humidicola</i> (B) e área nativa de Cerrado (C) como área de referência. Em solo Latossolo Vermelho distrófico típico no Cerrado, DF.	41
Tabela 5.3 Atributos microbiológicos do solo: carbono da biomassa microbiana (C_{mic}); quociente microbiano (q_{Mic}) e proteína do solo relacionada à glomalina – facilmente extraível (PSRG-FE) em diferentes sistemas de manejo: milho em sistema monocultivo (M); milho em consórcio com <i>P. maximum</i> cv. Aruana (MA); milho em consórcio com <i>U. humidicola</i> (MB); área sob pastagem <i>P. maximum</i> cv. Aruana (A); área sob pastagem <i>U. humidicola</i> (B) e área nativa de Cerrado (C) como área de referência. Em solo Latossolo Vermelho distrófico típico no Cerrado, DF. ...	45
Tabela 5.4 Correlação de Pearson dos atributos do solo nas diferentes áreas de estudo em Latossolo Vermelho distrófico típico no Cerrado, DF.....	50
Tabela 5.5 Ocorrência e riqueza de espécies de FMAs recuperadas em 50 mL de solo coletado na camada de 0-10 cm em diferentes sistemas de manejo: milho em sistema monocultivo (M); milho em consórcio com <i>P. maximum</i> cv. Aruana (MA);	

milho em consórcio com *U. humidicola* (MB); área sob pastagem *P. maximum* cv. Aruana (A); área sob pastagem *U. humidicola* (B) e área nativa de Cerrado (C). Em Latossolo Vermelho distrófico típico no Cerrado, DF.61

Tabela 5.6 Densidade de esporos e densidade média de ocorrência de espécies de FMAs recuperadas em 50 mL de solo coletado na camada de 0 - 10 cm em diferentes sistemas de manejo: milho em sistema monocultivo (M); milho em consórcio com *P. maximum* cv. Aruana (MA); milho em consórcio com *U. humidicola* (MB); área sob pastagem *P. maximum* cv. Aruana (A); área sob pastagem *U. humidicola* (B) e área nativa de Cerrado (C). Em solo Latossolo Vermelho distrófico típico no Cerrado, DF.65

SUMÁRIO

RESUMO.....	1
ABSTRACT.....	2
1. INTRODUÇÃO.....	3
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	6
3. MATERIAL E METODOS.....	21
4. OBJETIVOS.....	36
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	37
5.1 Produtividade do milho sob monocultivo e em consórcio com forrageiras em sistema plantio direto	37
5.2 Atributos químicos e microbiológicos do solo cultivado em sistema de monocultivo de milho e em consorcio com forrageiras.....	40
5.3 Colonização micorrízica e densidade de esporos de fungos micorrízicos arbusculares em sistema de monocultivo de milho e em consórcio com forrageiras....	53
5.4 Avaliação da diversidade de fungos micorrízicos arbusculares pela ocorrência de esporos e pela técnica de PCR-DGGE em sistema de monocultivo de milho e em consórcio com forrageiras	59
5.5 Relação entre atributos químicos e microbiológicos do solo com a ocorrência de fungos micorrízicos arbusculares em sistema de monocultivo de milho e em consorcio com forrageiras	75
6. CONCLUSÕES.....	80
7. REFERENCIA BIBLIOGRAFICA	82

RESUMO

Compreender a dinâmica e a diversidade de espécies de fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) sob diferentes sistemas de manejos do solo é de grande importância do ponto de vista agrônomo, pois maximizar a simbiose pode garantir os benefícios promovidos pela associação micorrízica. Assim, o objetivo do presente trabalho foi avaliar a dinâmica e a estrutura da comunidade de FMAs por meio de identificação morfológica dos esporos e pela técnica de PCR-DGGE (reação da polimerase em cadeia – eletroforese em gel com gradiente desnaturante), do mesmo modo a relação das espécies com atributos do solo em área de Cerrado sob diferentes sistemas de manejo. Os sistemas de manejo foram: milho em sistema de plantio direto sob monocultivo; milho consorciado com *Panicum maximum* cv. Aruana; milho consorciado *Urochloa humidicola*, pastagem *Urochloa humidicola*; pastagem *Panicum maximum* cv. Aruana, dispostos em delineamento em blocos casualizados, com três repetições e uma área de referência do Cerrado nativo localizado próximo ao experimento. A produtividade de grãos de milho não foi influenciada pela consorciação das pastagens *P. maximum* cv Aruana e *Urochloa humidicola* com valor médio de 14816 kg/ha⁻¹. Observou-se que a colonização micorrízica do milho e das pastagens não foi influenciada pelo sistema de manejo adotado, a densidade de esporos nas áreas agrícolas foi maior que a área de Cerrado. Observou-se também que a recuperação de esporos para a estudo da diversidade mostrou que com a adoção destes sistemas de manejo a comunidade de FMAs é estimulada, no entanto a técnica da PCR-DGGE revelou que a comunidade micorrízica arbuscular foi influenciada negativamente, já que para área de Cerrado foi observado maior número de táxons de FMAs. Em relação à influência dos atributos do solo sobre a comunidade de FMAs foi observado que os maiores valores de pH do solo favoreceu a ocorrência das espécies: *G. microaggregatum*, *A. rehmi*, *A. scrobiculata* e *Div. tortuosa* enquanto a outras espécies identificadas espécies não foram influenciadas pelos atributos do solo. As espécies *G. macrocarpum* e *C. etunicatum* foram as espécies que tiveram maior ocorrência, tanto na área de Cerrado como nas áreas sob diferentes sistemas de manejo.

Palavras-chave: sistemas de manejo agrícola, atributos do solo, fungos micorrízicos arbusculares.

ABSTRACT

Understanding the dynamics and diversity of species of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) in different soil managements systems is of great importance from the agricultural, since it is necessary to find the appropriate conditions to maximize the symbiosis and thus ensure the benefits promoted by mycorrhizal association. The objective of this study was to evaluate the dynamics and structure of AMF community by means of morphological identification of spores and by PCR-DGGE technique (polymerase chain reaction - denaturing gradient gel electrophoresis) and relation of species with soil properties in Cerrado under different agricultural management systems (corn under no-tillage system under monoculture; intercropping corn with *Panicum maximum* cv. Aruana; intercropping corn with *Urochloa humidicola*; pasture *Urochloa humidicola*; pasture *Panicum maximum* cv. Aruana), arranged in a randomized block design with three replicates and a native Cerrado reference area located next the experiment. The productivity of maize grains was not affected by intercropping pastures *P. maximum* cv Aruana and *Urochloa humidicola* with an average of 14816 kg / ha⁻¹. It was observed that mycorrhizal colonization of corn and pasture was not influenced by the management systems, the spore density in agricultural areas was larger than the area of Cerrado. It was also observed that the recovery of spores for the study of diversity showed that with the adoption of these management systems AMF community is stimulated, though the technique of PCR-DGGE showed that arbuscular mycorrhizal community was negatively influenced, since for Cerrado area was observed greater number of taxon's of AMF. Regarding the influence of soil properties on the AMF community was observed that the highest values for pH promoted the occurrence of species: *G. microaggregatum*, *A. rehmi*, *A. scrobiculata* and *D. tortuosa* while the other species identified species were not affected by soil properties. The species *G. macrocarpum* and *C. etunicatum* were the most frequent were both in the Cerrado area and in areas under different management systems.

Key Word: management systems, Soil properties, Arbuscular mycorrhizal fungi.

1. INTRODUÇÃO

Nos últimos anos existe uma enorme preocupação pela degradação dos solos e dos recursos naturais, devido a isso se tem desenvolvido sistemas de manejos agrícolas que procuram uma produção mais sustentável. Um desses sistemas é o sistema de integração lavoura-pecuária (ILP) que comumente consorcia espécies graníferas com espécies forrageiras.

O sistema ILP é considerado como um sistema eficiente do uso do solo de forma mais sustentável para as regiões tropicais, o seu objetivo é maximizar o uso da terra, da infraestrutura e da mão de obra, além de diversificar e verticalizar a produção, minimizar custos, diluir os riscos e agregar valores aos produtos agropecuários (MELLO et al., 2004). Este sistema é utilizado amplamente no Brasil com dois fins, como sistema para recuperação de pastagens degradadas ou para produção de palhada como cobertura do solo para o plantio da safra seguinte diretamente nos resíduos depositados na superfície do solo sem prévio revolvimento considerado como o sistema plantio direto.

A utilização desses sistemas (ILP) contribui também para a conservação do solo, já que a integração das pastagens com a cultura promove uma melhor estrutura do solo por parte das raízes, já que possuem um extenso sistema radicular fasciculado, e a parte aérea promove maior cobertura na superfície diminuindo assim as perdas do solo causadas pela degradação. Diversos estudos também demonstram que estes sistemas promovem o aumento do estoque de carbono no solo, contribuindo desta maneira para mitigar as emissões de gases de efeito estufa (AMADO et al., 2001), melhora a dinâmica e ciclagem de nutrientes (MENDONÇA et

al., 2015), melhora os atributos físicos e químicos do solo (CRUSCIOL et al., 2009) e modifica a estrutura da macro e microbiota do solo como os fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) que formam simbiose com a maioria das plantas (MIRANDA, 2012).

A importância da simbiose FMA-planta está relacionada à maior exploração do solo por parte da rede de hifas que colonizam as raízes, funcionando como uma extensão do sistema radicular, assim as plantas apresentam vantagens na absorção de água e nutrientes, principalmente de pouca mobilidade como o fósforo (BERBARA et al., 2006), também aumenta a tolerância das plantas a estresses bióticos e abióticos (MOREIRA & SIQUEIRA, 2006), bem como no auxílio na formação dos agregados do solo pela deposição de material orgânico contido ou liberado pelas hifas chamado glomalina (PURIN; KLAUBERG FILHO, 2010).

Os FMAs ocorrem na maioria dos ecossistemas e são influenciados por fatores bióticos e abióticos, que interferem na sobrevivência e na germinação dos propágulos afetando o processo de colonização radicular nas plantas (CARRENHO et al., 2010). As práticas agrícolas tais como mecanização do solo, manejo das culturas e práticas culturais geram modificações nos atributos físicos, químicos e biológicos do solo, promovendo alteração da comunidade dos FMAs e o efeito destes nas plantas (CARRENHO et al., 2010), sendo importante adotar práticas que minimizem os impactos negativos sobre a comunidade e dinâmica dos FMAs (MIRANDA, 2012).

Diversos trabalhos relatam que a dinâmica dos FMAs está relacionada a atributos do solo como o pH, fósforo e a matéria orgânica, mas existe dificuldade em estabelecer uma relação clara entre variáveis edáficas e a ocorrência e diversidade

de espécies dos fungos micorrízicos arbusculares (STÜRMER & SIQUEIRA, 2008). Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar a diversidade de fungos micorrízicos arbusculares e sua relação com atributos químicos e microbiológicos do solo sob diferentes sistemas de manejo no Cerrado.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Sistemas de integração Lavoura-Pecuária

Nos últimos anos existe uma enorme preocupação pela degradação dos solos agrícolas, devido a isso, tem-se desenvolvido sistemas de manejos agrícolas que procuram melhorar os atributos que compõem a qualidade do solo para uma produção mais sustentável tais como sistemas de rotação de culturas, sistemas integração Lavoura-Pecuária e sistemas de plantio direto.

O sistema ILP é considerado como sistema eficiente do uso do solo de forma mais sustentável para as regiões tropicais (CORDEIRO et al., 2015). O objetivo desse sistema é maximizar o uso da terra, da infraestrutura e da mão de obra em um sistema de produção, além de diversificar e verticalizar a produção, minimizar custos, diluir os riscos e agregar valores aos produtos agropecuários (MELLO et al., 2004).

Estes sistemas propiciam benefícios como aumento da produtividade, estabilidade econômica e aumento da renda com a diversificação das culturas, além da redução dos riscos climáticos pelo aumento do estoque do carbono no solo (AMADO et al., 2001), melhora a dinâmica e ciclagem de nutrientes (MENDONÇA et al., 2015), melhora os atributos físicos e químicos do solo (CRUSCIOL et al., 2009).

No Brasil, a utilização desse sistema tem aumentado nos últimos anos, fundamentado a integração de culturas produtoras de grãos com plantas forrageiras, destacando-se *Urochloa brizantha* e *Panicum maximum* (MATEUS & SANTOS, 2012).

O estabelecimento de pastagem como as braquiárias consorciadas com o milho incrementa a produtividade do solo agregando valor pela produção de grãos e forragem para pecuária (SILVA et al., 2008). As braquiárias em consórcio com milho apresentam melhor cobertura do solo por possuir hábito decumbente de crescimento, portanto maior cobertura do solo após da colheita. A palha na superfície protege o solo do aquecimento excessivo e da perda de água, devido à alta refletividade da radiação solar e baixa condutividade térmica, proporcionando menor amplitude térmica diária e condições benéficas para a estrutura do solo especialmente nas regiões de clima tropical (CECCON, 2008).

Existem dois focos principais para a integração desses sistemas para as áreas de produção serem mais sustentáveis e competitivos. O primeiro versa na recuperação e/ou renovação das pastagens degradadas (sistema Barreirão) e o segundo consiste para produção de palhada como cobertura do solo para o plantio da safra seguinte diretamente nos resíduos depositados na superfície do solo sem prévio revolvimento (SPD).

No Brasil o SPD foi iniciado a partir de 1972 pela preocupação do desgaste excessivo do solo, sendo que em 1975 foi utilizado em grande escala no estado de Paraná (JÚNIOR & VILELA, 2002) e a sua adoção tem aumentado nos últimos anos, ocupando na atualidade mais da metade da área plantada no país (MAPA, 2016).

O SPD é um dos sistemas que busca a sustentabilidade dos agroecossistemas e tem como objetivo diminuir os problemas causados pela forma tradicional do uso e manejo do solo. Este sistema, devido ao não revolvimento do solo e a cobertura por meio dos resíduos depositados na superfície contribui para a conservação do solo evitando perdas causadas pela erosão, aumenta os teores de matéria orgânica,

melhora a estrutura do solo, reduz as perdas de água, diminui a variação da temperatura e aumenta a atividade biológica (KLUTHCOUSKI et al., 2000).

De acordo com Mateus & Santos (2012) o SPD é utilizado como uma técnica de conservação e preservação ambiental, já que reduz em 75% de perdas de solo e 20% de água pela erosão, quando comparado ao sistema convencional. Cabe também ressaltar que os autores enfatizam a contribuição dessa prática para evitar perdas de fertilizantes e produtos agroquímicos, reduzindo a poluição de águas superficiais e favorecendo o acúmulo de carbono orgânico no solo, tornando-o um importante dreno de CO₂ da atmosfera e desta forma, colaborando para a mitigação do efeito estufa.

O aumento na produtividade de cultivos consorciados é um dos principais benefícios relatados por diversos trabalhos, envolvendo principalmente a disponibilidade de nutrientes para as culturas, além de ganhos econômicos (MATOSO et al., 2013; MENDONÇA et al., 2015).

Esses benefícios possivelmente estão relacionados com a comunidade microbiana do solo, que é influenciada pelas mudanças nos atributos químicos e físicos do solo, provocada pelo cultivo consorciado. A comunidade microbiana do solo e seus processos chave no funcionamento dos ecossistemas são fortemente influenciados pela riqueza de diversidade de plantas, sendo verificado que não só a diversidade das plantas como também a sua produtividade promovem aumentos significativos na comunidade microbiana do solo assim como o aumento na taxa de mineralização de nutrientes (ZAK et al., 2003).

2.2 Fungos micorrízicos arbusculares

Dentre os diversos organismos que habitam o solo, os fungos micorrízicos arbusculares são importantes componentes da comunidade microbiana do solo, tanto em sistemas naturais como em agroecossistemas. Os FMAs são fungos do solo que fazem associação simbiótica com a maioria das plantas. A planta, através da fotossíntese, fornece energia e carbono para a sobrevivência e multiplicação dos fungos, enquanto estes absorvem nutrientes minerais e água do solo transferindo-os para as raízes da planta, estabelecendo assim a simbiose mutualística (MOREIRA & SIQUEIRA, 2006).

Os FMAs existem na maioria dos ecossistemas e são influenciados por fatores bióticos e abióticos que interferem na sobrevivência e na germinação dos propágulos afetando o processo de colonização radicular nas plantas (MIRANDA, 2012). As práticas agrícolas tais como mecanização do solo, manejo das culturas e práticas culturais geram modificações nos componentes físicos, químicos e biológicos do solo, promovendo alteração da comunidade dos FMAs e o efeito destes nas plantas (CARRENHO et al., 2010).

A importância da simbiose FMA-planta está relacionada à maior exploração do solo por parte da rede de hifas que colonizam as raízes funcionando como uma extensão do sistema radicular, assim as plantas apresentam vantagens na absorção de nutrientes de pouca mobilidade como o fósforo (P), cobre (Cu) magnésio (Mg) e zinco (Zn) (BERBARA et al., 2006) e frequentemente apresentam maior tolerância a estresses bióticos (patógenos) e abióticos (falta de água, salinidade, metais pesados) (HOFFMANN & LUCENA, 2006; MOREIRA & SIQUEIRA, 2006), em comparação às plantas que não formam esta associação.

Os FMAs contribuem também para a conservação do solo, já que auxiliam na formação dos agregados pela deposição de material orgânico contido ou liberado pelas hifas chamado glomalina, que são polissacarídeos extracelulares e glicoproteínas com cerca de 60% de carboidratos, N ligado ao oligossacarídeo e contem Fe insolúvel em água (PURIN & KLAUBERG FILHO, 2010). Outra contribuição relacionada com a estabilização dos agregados é pelas hifas dos FMAs e as raízes finas das plantas, que envolvem as partículas do solo formando uma rede biológica que entrelaça e mantém juntas as partículas do solo, podendo atingir até 50 m de hifa por grama de agregado (MOREIRA & SIQUEIRA, 2006)

2.3 Diversidade de fungos micorrízicos arbusculares em agroecossistemas

A classificação dos FMAs ainda esta em andamento e tem passado por diversas modificações durante as últimas três décadas (MIRANDA, 2012), o uso de ferramentas moleculares têm fornecido grandes avanços para a reconstrução filogenética deste grupo de organismos.

Atualmente são classificados dentro de um grupo monofilético denominado filo Glomeromycota, classe Glomeromycetes, em quatro ordens, nove famílias e dezoito gêneros (Redecker et al., 2013) apresentados na Tabela 2.1.

Tabela 2.1 Classificação dos FMAs, atualizada em Agosto 2013.

Ordem	Família	Gêneros
Glomerales	Glomeraceae	Funneliformis
		Septoglomus
		Glomus
		Rhizophagus
Diversisporales	Claroideoglomeraceae	Claroideoglomus
		Pacispora
	Pasisporaceae	Pacispora
		Acaulosporaceae
	Diversisporaceae	Diversispora
		Redeckera
	Gigasporaceae	Gigaspora
		Dentiscutata
		Cetraspora
		Racocetra
Scutellospora		
Archaeosporales	Archaeosporaceae	Archaeospora
	Ambisporaceae	Ambispora
		Geosiphon
Paraglomerales	Paraglomaceae	Paraglomus

Fonte: <http://invam.wvu.edu/the-fungi/classification> (Acesso em: junho de 2016).

Segundo Souza et al. (2008) globalmente existem aproximadamente 217 espécies descritas na literatura. Os ecossistemas brasileiros possuem uma ampla gama de diversidade de FMAs, de acordo com Stürmer e Siqueira (2008), já foram identificados um total de 119 espécies de FMAs que corresponde 55% do total (207 espécies) já conhecido. Essas espécies identificadas nos ecossistemas brasileiros

são atualmente o resultado de trabalhos publicados (resumo expandido, artigo científico, monografia, dissertação e tese), abrangendo os seguintes ecossistemas naturais e agroecossistemas: floresta pluvial, florestal atlântica, floresta estacional, floresta amazônica, floresta de araucária, cerrado, caatinga, campo, restinga, dunas e praias, áreas salinizadas, áreas vegetadas, plantações de eucalipto, mata ciliar, ambiente aquático, pastagem, culturas anuais e perenes. As espécies identificadas com maior distribuição geográfica são: *Acaulospora foveata*, *A. mellea*, *A. morrowiaae*, *A. scrobiculata*, *A. tuberculata*, *Ambispora appendicula*, *Cetraspora pelúcida*, *Kuklospora colombiana*, *Gigaspora margarita*, *Glomus clarum*, *G. diaphanum*, *G. etunicatum*, *G. macroporum*, *G. sinousum*, e *Paraglomus occultum*.(STÜRMER & SIQUEIRA, 2008)

No Cerrado já foram identificadas 43 espécies em 9 gêneros: *Acaulospora*, *Ambispora*, *Gigaspora*, *Cetraspora*, *Dentiscutata*, *Racosetra*, *Scutellospora*, *Glomus*, e *Paraglomus* (SOUZA et al., 2010), sendo a espécie *A. scrobiculata* e *P. brasilianum* presente na maioria dos ecossistemas (MIRANDA, 2012).

No Distrito Federal os gêneros *Acaulospora*, *Gigaspora*, *Cetraspora*, *Dentiscutata*, *Scutellospora*, *Glomus*, e *Paraglomus* são encontrados abrangendo 15 espécies (SOUZA et al., 2010).

A diversidade e ocorrência de espécies tanto em ecossistemas naturais como em agroecossistemas pode ser afetada por diversos fatores como os apresentados na Tabela 2.2

Tabela 2.2 Principais fatores que influenciam na formação e ocorrência de fungos micorrízicos arbusculares

Componentes	Principais fatores
Solo	Disponibilidade de nutrientes, pH, elementos tóxicos, textura, estrutura e agregação, densidade, umidade e organismos
Planta	Espécie, cobertura vegetal, estado nutricional, ciclo e taxa de crescimento, alelopatia, sistema radicular, exsudação e senescência.
Ambiente	Intensidade luminosa, temperatura, sazonalidade precipitação e poluição.
Manejo	Histórico da área, tipo de cultivo, erosão, irrigação, fertilizantes e corretivos, controle de ervas daninhas, pastejo e uso de biocidas e mudança na vegetação.

Fonte: Moreira & Siqueira (2006).

Práticas agrícolas como o preparo do solo, aplicação de corretivos (SCHNEIDER et al., 2011) e fertilizantes químicos ou orgânicos influenciam diretamente a comunidade de FMAs (CARRENHO et al., 2010). De modo geral, as áreas agrícolas e práticas conservacionistas estimulam o aumento da riqueza de espécies, aumenta a densidade de esporos e favorece para a colonização radicular (FERREIRA et al., 2012; MIRANDA, 2012). Em áreas com o cultivo intensivo e em sistema de monocultivo a diversidade de espécies é negativamente afetada, já sistemas de rotação de culturas e sistemas integrados de culturas com pastagens, a comunidade micorrízica arbuscular promove o aumento da riqueza de espécies e a multiplicação dos esporos, geralmente as culturas aumentam a riqueza de espécies e as pastagens promove a produção de esporos (MIRANDA & MIRANDA, 2007).

2.4 Técnicas de estudo da comunidade de fungos micorrízicos arbusculares

A identificação dos fungos envolvidos na simbiose micorrízica arbuscular é necessária para comparar resultados de pesquisas obtidos em diferentes condições ambientais, identificar as associações fungo-planta preferenciais e potencialmente benéficas agronomicamente, assim como recomendar práticas adequadas para o seu manejo (MIRANDA, 2012).

A diversidade dos FMAs pode ser avaliada a partir das amostras de solo e raízes, pelo emprego de técnicas de descrição morfológica ou técnicas moleculares.

Os esporos de FMAs são recuperados de amostras de solo e raízes e, utilizados para os estudos de descrição morfológica dessas estruturas. Adicionalmente, para alcançar espécies de FMAs que não estavam presentes na forma de esporos na amostra de solo da área de estudo, tem-se a técnica de multiplicação de esporos, chamada cultivo-armadilha que são necessárias para o isolamento a partir de segmentos de raízes ou mesmo de solo com presença de propágulos. Esta técnica parte do princípio que os FMAs não têm especificidade de plantas hospedeiras ou preferência na multiplicação de uma determinada espécie.

Esta técnica consiste na inoculação de solo ou de raízes frescas coletadas em solo estéril, com uma ou várias plantas hospedeiras e todo propágulo infectivo dos FMAs da amostra tem a capacidade para colonizar as raízes da planta hospedeira, permitindo deste modo estimar a diversidade de propágulos infectivos de uma comunidade de FMAs, além de produzir esporos típicos e com todas as características necessárias para a identificação das espécies, o tempo aproximado desta técnica é de 3 a 6 meses (SOUZA et al., 2010; SAGGIN-JUNIOR et al., 2011).

Os métodos conhecidos para a identificação de espécies das comunidades de FMA são analisados basicamente por técnicas morfológicas e técnicas moleculares, sendo as primeiras as mais comuns baseadas em características morfológicas dos esporos. No entanto, estas estruturas podem apresentar alterações de características como cor, tamanho, e forma causados por fatores ambientais (SAGGIN-JUNIOR et al., 2011) podendo apresentar similaridade com outras espécies (MERGULHÃO et al., 2014) resultando em identificações até o nível de gênero, para isolados com características morfológicas duvidosas.

Devido a estas dificuldades, técnicas moleculares têm sido desenvolvidas para a identificação da diversidade de FMAs capazes de fornecer grande informação de parentesco independentemente dos critérios morfológicos, em todas as fases do ciclo de vida (GOMES et al., 2010).

Estas técnicas devem ser utilizadas em conjunto para ter uma visão mais completa da biologia, ecologia, diversidade, estrutura de comunidades desses fungos e da interação deles com as plantas (SOUZA et al., 2010).

2.4.1 Técnicas morfológicas para estudo da estrutura da comunidade de FMAs

A presença e a identificação dos esporos na rizosfera ou no solo são métodos mais comuns e mais simples para estimar a abundância e a riqueza específica dos FMAs nas comunidades vegetais (STÜRMER & SIQUEIRA, 2008). De acordo com SOUZA et al. (2010), a identificação baseada na morfologia dos esporos foi o único método utilizado para a descrição de espécies até o ano 1990, quando foram

desenvolvidas as técnicas moleculares. Os esporos de FMAs representam o único estágio de desenvolvimento dos fungos que têm os caracteres morfológicos necessários para definir espécies nesse grupo de organismos (COLOZZI-FILHO; BALOTA, 1994).

A classificação taxonômica das espécies de fungos é realizada pela organização das paredes nos esporos e pelos principais atributos morfológicos. As características morfológicas e ontogenéticas como o modo de formação, tamanho, forma, cor, tipo, estrutura, e organização de paredes em suas camadas, estruturas de germinação, e forma de emergência do tubo germinativo entre outras características são utilizadas para a descrição e a identificação das espécies (SOUZA et al., 2010). No entanto é necessário ter experiência para a utilização desta técnica devido a que os esporos são geralmente coletados em campo, apresentando estruturas deterioradas ou alteradas por diversos fatores, oferecendo características de baixa qualidade.

A identificação taxonômica dos FMAs por meio da avaliação dos esporos consiste em uma série de etapas que englobam a recuperação dos esporos a partir de amostras de solo e raízes das plantas, separação em grupos similares ou “morfotipos”, seguida de observações das características morfológicas em microscópio estereoscópico e em microscópio óptico.

As características morfológicas dos esporos são confrontadas com as descrições de espécies de FMAs disponíveis na literatura ou em sites especializados na caracterização destes fungos na internet, como do site da “International Culture Collection of (vesicular) Arbuscular Mycorrhizal Fungi – INVAM” (<http://invam.wvu.edu/>) (INVAM, 2016) e o site “Arbuscular Mycorrhizal fungi

(Glomeromycota), Endogone and complexipes species deposited in the department of plant pathology, University of Agriculture in Szczecin, Poland (<http://www.zor.zut.edu.pl/Glomeromycota/index.html>) (JANUSZ BLASZKOWSKI, 2016).

2.4.2 Técnicas moleculares para estudo da estrutura da comunidade de FMAs

As propostas para a classificação dos FMAs são baseadas historicamente na caracterização morfológica e os resultados obtidos através destes estudos podem variar em função das condições ambientais e pelo estágio de desenvolvimento dos esporos, gerando informações nem sempre precisas (SALLES et al., 1998).

Devido às dificuldades que este método apresenta, métodos moleculares baseados na amplificação de ácidos nucleicos pela Reação em Cadeia Polimerase (PCR) começaram a ser empregados nas últimas décadas para avaliar a biodiversidade desse grupo de fungos (GASPAROTTO et al., 2010), sendo que no início do ano 1990 foi realizado o primeiro trabalho utilizando esta ferramenta por Simom et al. (1990). Esses autores analisaram sequências do 18s rDNA de 12 espécies de FMA pertencentes às famílias Acaulosporaceae, Gigasporaceae e Glomaceae.

A utilização de técnicas moleculares são cada vez mais aplicadas nas pesquisas e tem permitido avançar o conhecimento sobre a diversidade genética e caracterização de estirpes, a estrutura e a variabilidade genética de comunidades de FMA em diferentes ecossistemas, em relação com as plantas e avaliação do impacto de ações antrópicas sobre as comunidades destes fungos (GASPAROTTO et al.,

2010). Além de ser utilizadas para desenvolver tecnologias na seleção de fungos eficientes e competitivos para estudar a persistência de estirpes introduzida em inoculantes comerciais (SOUZA et al., 2010).

Estas técnicas consistem na amplificação de ácidos nucleicos, desoxirribonucleico (DNA) ou ribonucleico (RNA), pela reação em cadeia da polimerase (PCR), que permite a amplificação e caracterização do DNA a partir de uma pequena amostra do fungo, raiz colonizada ou do solo, possibilitando estudos ecológicos das populações nativas de FMAs presentes nas áreas de cultivo (GOMES et al., 2010).

Dentre as técnicas moleculares para o estudo da comunidade dos FMAs as técnicas de fingerprint moleculares são amplamente utilizadas no Brasil para a análise de estudo das comunidades microbianas. Esta técnica é caracterizada por gerar um padrão que representa a diversidade microbiana e esse padrão é representado por um conjunto de segmentos de DNA que diferem do tamanho ou da sequência de bases e são discriminados por técnicas de eletroforese com ou sem presença de agentes desnaturantes nos géis ou capilares.

Algumas qualidades desejáveis para o uso desta técnica são: ser baseado em marcadores específicos para o grupo-alvo, e que representem distribuição universal e sejam passíveis de quantificação; ter sensibilidade para detectar pequenas mudanças na composição das comunidades; ter reprodutibilidade entre repetições de uma mesma amostra; ser economicamente viável; gerar dados facilmente analisáveis, passíveis de análises estatísticas; possuir processo de avaliação; possibilitar a identificação direta dos organismos presentes na comunidade e refletir os aspectos do funcionamento do ecossistema. Não entanto, não existe um método

disponível que atenda a todas essas qualidades, então é importante fazer uma escolha de técnicas que respondam o interesse do estudo (GASPAROTTO et al., 2010).

A técnica de PCR-DGGE (reação da polimerase em cadeia – eletroforese em gel com gradiente desnaturante) é uma ferramenta fingerprint utilizada para testar a pureza de linhagens isolados de FMAs (NOVAIS et al., 2010) e para comparar a comunidade microbiana de distintas amostras ambientais, em função das funções operacionais de um sistema (GASPAROTTO et al., 2010).

A técnica PCR-DGGE foi utilizada pela primeira vez para investigar a diversidade de FMAs em raízes de *Ammophila arenaria* em ecossistemas de dunas costeiras realizado por Kowalchuk et al. (2002).

Souza et al. (2004) desenvolveram uma metodologia de PCR-DGGE baseado na caracterização de cópias polimórficas dos genes ribossomais contidas no genoma de cada FMAs. O polimorfismo encontrado no rDNA genômico dos FMA implica que dentro do genoma de um único indivíduo existam cópias polimórficas desses genes.

Oliveira et al. (2009) e Gomes et al. (2010) utilizaram esta ferramenta para o estudo da estrutura da comunidade de FMAs a partir do DNA extraído das raízes de linhagens de milho eficientes e ineficientes na absorção de fósforo.

Existem algumas dificuldades na utilização dos métodos moleculares na interpretação, sendo comuns erros na identificação de caracteres homólogos e homoplásticos como a cobertura inadequada dos indicadores (*primers*) utilizados no

PCR, amostragem não representativa e métodos inadequados de extração de ácidos nucleicos (SOUZA et al., 2010).

3. MATERIAL E METODOS

3.1 Histórico da área experimental e estabelecimento do experimento

O estudo foi realizado na área experimental da Fazenda Água Limpa da Universidade de Brasília, localizado no Núcleo Rural Vargem Bonita, Distrito Federal (latitude 15° 55' S. Longitude 47° 51' W e altitude de 1080 metros). O clima da região de tipo Aw segundo classificação Köppen (tropical estacional de savana), com período chuvoso de outubro a março e estação seca bem definida de abril a setembro. A precipitação pluviométrica e a temperatura média durante a condução do experimento estão representadas na Figura 3.1

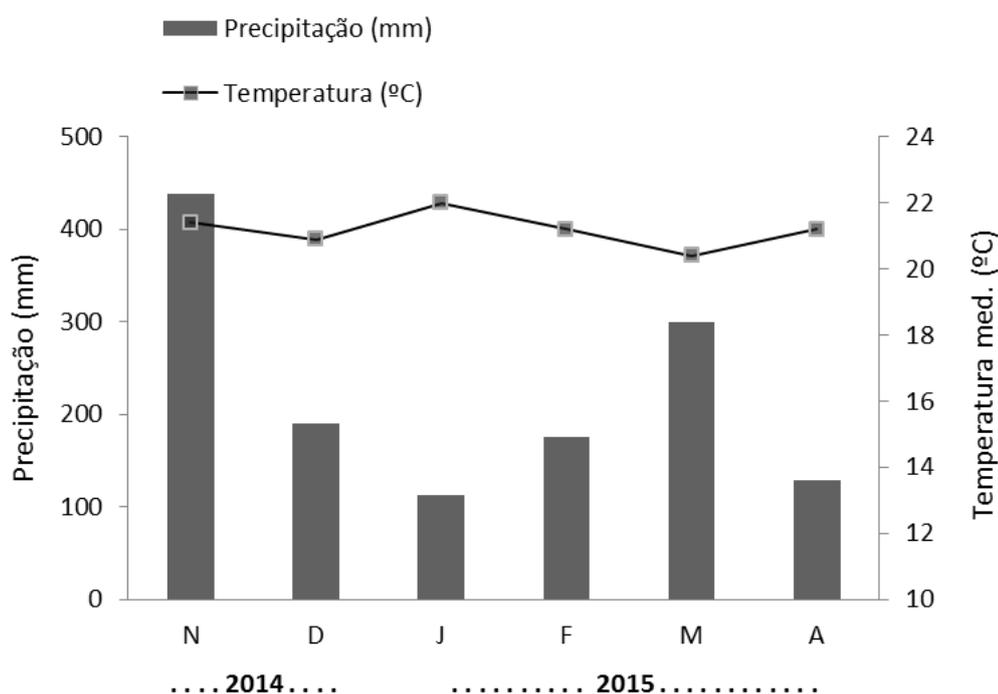


Figura 3.1 Distribuição da precipitação pluvial e temperatura média mensal da área experimental no período de novembro de 2014 a abril de 2015 (Fonte: Estação meteorológica automática da Fazenda Água Limpa – UnB).

O experimento de longa duração de consorciação de milho com gramíneas forrageiras foi instalado no ano de 2007 e vem sendo conduzido desde então, tendo sido obtidas informações relacionadas com a matéria orgânica e infiltração da água no solo (Sato et al., 2012), ciclagem de carbono e nitrogênio no solo (Cosser et al., 2012; Carmo et al., 2012) e ocorrência e diversidade de fungos micorrízicos arbusculares (Ramos et al., 2012).

Os sistemas de manejo foram estabelecidos em sistema de plantio direto, sendo: M – milho em sistema de monocultivo (híbrido BG 7055); MA – milho consorciado com *Panicum maximum* cv. Aruana; MB – milho consorciado com braquiária (*Urochloa humidicola*), B – *Urochloa humidicola*; A – *Panicum maximum* cv. Aruana, dispostos em delineamento em blocos casualizados, com três repetições, totalizando 15 parcelas e C - uma área de referência de Cerrado Nativo, localizada próxima ao experimento. Para os sistemas de manejo cada parcela ocupou uma área de 80 m² (10 m de comprimento e 8 m de largura), eliminando-se a bordadura (1 m) a parcela ficou com área útil de 48 m².

Algumas atributos químicos do solo na camada de 0-20 cm antes da implantação do experimento encontram-se na Tabela 3.1.

Tabela 3.1 Caracterização química do solo da área experimental antes da instalação do experimento em 2014. pH (pH); alumínio trocável (Al³⁺); cálcio+magnésio (Ca+Mg); fósforo (P) e potássio (K).

TRATAMENTOS	pH	Al ³⁺	Ca+Mg	K	P
M	5.1	0	3.6	51	3.7
MA	4.9	0.1	2.9	58	4.3
MB	5	0	3.4	61	11.6
A	5.3	0	4.2	56	2.1
B	5.2	0	3.3	53	3.4

O solo da área experimental foi classificado como Latossolo Vermelho distrófico típico (EMBRAPA, 2006). A área experimental estava sob pastagem de capim *Andropogon gayanus*, variedade Planaltina, por um período de seis anos antes da instalação do experimento. Para a montagem das parcelas a área foi arada, gradeada e calcareada de acordo com as exigências requeridas a partir da análise química do solo. A quantidade de calcário aplicada na área baseou-se na elevação da saturação de bases para 50%, foi aplicado 0,23, 1,03 e 0,39 para as parcelas de milho em sistema de monocultivo, milho em consórcio com *U. humidicola* e milho consorciado com *P. maximum* cv. Aruana respectivamente. No milho, as parcelas do experimento receberam, 120 kg de N ha⁻¹, 100 kg de P₂O₅ ha⁻¹ e 90 kg de K₂O ha⁻¹, sendo que 20 kg ha⁻¹ de N e 40 kg ha⁻¹ de K₂O foram aplicados nos plantios e o restante foi aplicado em duas coberturas.

O espaçamento entre linhas do milho foi de 0,50 m e a densidade de sete plantas por metro linear. As forrageiras foram semeadas a lanço (20 kg ha⁻¹). As áreas sob pastagens foram roçadas com o auxílio de roçadeira costal, antes do plantio do milho, nas parcelas consorciadas e nas parcelas de monocultivo, no mesmo período, antes no início do ciclo de cada safra. Os tratos culturais utilizados na cultura do milho foram: controle da lagarta do cartucho, com inseticida do grupo químico Benzoiluréia (Lefenurom) na dose de 300 mL ha⁻¹ e, nas parcelas consorciadas para o plantio de milho, o crescimento das forrageiras foi controlado com a utilização de capina manual e sob doses de glifosato.

3.2 Coleta de amostras e armazenamento

Foram coletadas amostras de solo e raiz na safra 2014-2015, na floração da cultura do milho (março 2015), na profundidade de 0-10 cm com o auxílio de um trado de tipo holandês para o solo e uma pá para as raízes na mesma profundidade. Nas coletas de solo foi feita uma amostra composta de cinco subamostras coletadas no centro da parcela, perpendicular às linhas de plantio do milho, coletando-se na linha e entrelinha de plantio.

Para as amostras, de raízes foram escolhidas cinco plantas nas linhas centrais da parcela, sendo uma planta em cada linha de plantio do milho em forma perpendicular às linhas. Nas áreas de pastagem, a amostra composta do solo foi coletada a partir de cinco pontos da parcela útil, sendo quatro nas extremidades e uma no centro da parcela. Para as raízes foi feito o mesmo esquema da coleta de solo. O solo coletado da área do Cerrado foi realizado da mesma maneira para as parcelas sob pastagem.

As amostras de solo foram acondicionadas em sacos plásticos e armazenadas em caixas térmicas contendo gelo e levadas ao laboratório de Bioquímica do solo da UnB. Uma parte das amostras, com aproximadamente 20 g, foram armazenadas em ultra freezer (-80°C), para posterior condução da extração do DNA, para avaliação da estrutura da comunidade de fungos micorrízicos arbusculares por métodos moleculares. Cerca de 500 g das amostras de cada tratamento foram separadas e acondicionadas na câmara fria 5°C com umidade de 5 a 10%, para a avaliação da densidade de esporos, classificação taxonômica e análises bioquímicas. As amostras de raiz foram separadas totalmente do solo e lavadas com água corrente

até a eliminação de toda impureza e armazenadas em frascos contendo álcool a 50% até o momento da análise da taxa de colonização micorrízica.

3.3 Análises de fertilidade do solo

As amostras do solo foram analisadas de acordo com a metodologia a seguir: para o pH utilizou-se TFSA (terra fina seca ao ar e passada em peneira nº 2) diluído em água em relação 1:2,5 e leitura com o pHmetro; Ca, Mg e Al^{3+} trocável foram extraídos com KCl 1 mol L⁻¹ e analisados por titulometria; P e K foram extraídos pelo método Mehlich1 e analisados por espectrofotometria e fotômetro de chama, respectivamente conforme EMBRAPA, (1997); a matéria orgânica e carbono orgânico total foi determinada pelo método de Walkley-Black com algumas adaptações da EMBRAPA, (1997).

3.4 Análises microbiológicos do solo

3.4.1 Carbono da biomassa microbiana

O carbono da biomassa microbiana (Cmic) foi determinado pelo método clorofórmio fumigação-extração (CFE) proposto por Vance et al, (1987). As amostras do solo (20 g) foram elevadas a 100% da capacidade de retenção de água e pré-incubadas no escuro por sete dias a temperatura à ambiente. Metade das amostras foram fumigadas por 24 horas em um dessecador, contendo uma placa de Petri com 25 mL de clorofórmio, nesse período amostras não fumigadas foram mantidas a temperatura ambiente.

A extração do carbono microbiano foi realizado com 70 mL de sulfato de potássio 0,5 M (K_2SO_4) com pH ajustado para 6,5 e submetido à agitação horizontal (150 rpm) por 40 minutos e posteriormente o extrato foi filtrado utilizando-se papel filtro. Ao extrato filtrado (8 mL) adicionaram-se 2 mL de dicromato de potássio 0,4 M ($K_2Cr_2O_7$) e 15 mL de uma mistura de ácido sulfúrico concentrado (H_2SO_4) e (H_3PO_4) na proporção 1:2, aquecido 100 °C durante 30 minutos, em seguida diluído em aproximadamente 20 mL de água destilada. O dicromato residual foi medido por meio da titulação com uma solução de sulfato ferroso amoniacal na presença de difenilamina a 1%. A quantidade de carbono da biomassa microbiana foi determinada pela diferença entre o carbono extraível do solo fumigado e o não fumigado utilizando-se o fator de correção $k_{ec}=0,379$.

3.4.2 Proteína do solo relacionada à glomalina - facilmente extraível

Foi utilizada a metodologia proposta por Wright & Upadhyaya (1996) as amostras de 1,0 g de solo foram autoclavadas com 2 mL de solução de citrato de sódio (20 mM; pH 7,0) durante 30 minutos a 121 °C, seguida de centrifugação a 3.500 rpm durante 10 minutos. Para a quantificação da proteína sobrenadante duas frações foram quantificadas através do ensaio de Bradford em espectrofotômetro (595 nm), tendo como curva-padrão soro albumina bovina (BSA).

3.5 Clareamento e coloração das raízes (para estudo de micorrização)

O clareamento das raízes e coloração das hifas dos FMAs para posterior avaliação da colonização micorrízica foi realizado pelo método proposto por Phillips

& Hayman (1970). O clareamento foi efetivado pelo aquecimento das raízes em solução de KOH a 10% à temperatura de 60° C em Banho Maria durante 30 minutos, após clareadas foram lavadas com água até eliminar os resíduos da solução para seguir a etapa de coloração.

O processo de coloração foi realizado mediante a imersão das raízes em uma solução de azul de tripan a 0,05% em lacto-glicerol (1:1:1 ácido láctico glacial, glicerol e água) e aquecida a temperatura de 60° C em banho-maria durante 20 minutos, em seguida as amostras foram lavadas com água destilada para retirar o excesso da solução e armazenadas em frascos contendo glicerol a 50% para posterior avaliação da taxa de colonização micorrízica.

3.6 Avaliação da taxa de colonização micorrízica

Para a avaliação da colonização micorrízica foi utilizado o método da Placa Quadriculada proposta por Gionvanetti & Mosse (1980), foi realizada basicamente pela observação da presença de estruturas fúngicas na região do córtex das raízes, onde ocorre o desenvolvimento inter e intracelular de hifas, de arbúsculos originários de ramificações de hifas internamente das células e de vesículas que ocorrem intra e extracelularmente.

Os segmentos das raízes foram espalhados na placa de Petri que possui no fundo linhas quadriculadas de 1 cm fazendo-se a observação na lupa da presença e ausência de colonização nas linhas verticais e horizontais, exatamente no ponto onde as raízes cruzam as linhas, fazendo um mínimo de 100 pontos e posteriormente estimou-se a porcentagem de colonização (%). Para esta análise

foram avaliadas as raízes de milho em sistema de monocultivo e em consórcio e para as pastagens foram avaliadas as parcelas em monocultivo.

3.7 Avaliação da densidade de esporos

Para avaliação da densidade de esporos dos FMAs, esporos foram recuperados do solo pelo método do peneiramento úmido proposto por Gerdemann & Nicolson (1963). 50 mL de solo foram diluídos em aproximadamente 1,5 L de água e batido no liquidificador durante 10 segundos com posterior decantação, seguido de peneiramento em malhas de 1 e 0,045 mm, este processo repetido 4 vezes para cada amostra. O material retido na peneira de menor tamanho foi transferido para tubos falcom com adição de água e centrifugados por 3000 rpm por 3 minutos, o sobrenadante foi descartado e acrescentado uma solução de sacarose (60%) com posterior centrifugação a 2000 rpm por 2 minutos. O sobrenadante da centrifugação foi então colocado na peneira de malha mais fina e lavado com água corrente para retirar o excesso de sacarose. A amostra de esporos extraídos foi então despejada na placa canaleta para contagem dos esporos com a ajuda de um microscópio estereoscópio.

3.8 Recuperação de esporos em cultura de armadilha

Esta técnica foi realizada para a recuperação de espécies por meio da formação de esporos das espécies de FMAs que não foram recuperadas no campo em forma de esporos. Esta técnica foi realizada em vasos de cultura armadilha como descrito por Saggin-Junior et al. (2011) com algumas modificações, consistiu na

montagem de vasos de cultivo com capacidade de 500 mL. Foi utilizado um substrato estéril composto de solo do horizonte B de um Latossolo argiloso e areia em proporção 1:1 e autoclavado a 120 °C durante 1,5 horas. Preparou-se uma mistura do substrato estéril com as amostras de solo provenientes de cada parcela em relação 4:1 e depositado no vaso (volume final 500 mL). Como planta hospedeira utilizou-se milho, com aproximadamente 5 plantas em cada vaso, mantidas em casa de vegetação durante 120 dias e irrigadas regularmente.

Após 30 dias observaram-se algumas deficiências nas plantas, portanto adicionou-se 20 mL de solução nutritiva (Hoogland & Arnon, 1950) sem fontes de P uma vez por semana até a coleta. Aos 40 dias após a emergência foram realizadas podas periodicamente a cada 15 dias e submetidas a estresse hídrico (zero aporte de água) nas últimas duas semanas com o objetivo de estimular a produção de esporos dos FMAs.

3.9 Avaliação da diversidade de FMAs por meio de características morfológicas dos esporos

Após a contagem dos esporos, estes foram agrupados em morfotipos de acordo com suas características morfológicas observadas como cor, tamanho e ornamentação da parede do esporo com o auxílio de um microscópio estereoscópico. A partir do agrupamento foram confeccionadas lâminas permanentes para a identificação visual em meio de PVLG (Polivinil-Lactoglicerol) e PVLG com reagente de Melzer, os esporos foram quebrados mediante uma pressão leve exercida na lamínula para visualização das estruturas das paredes dos esporos em microscópio óptico. As lâminas montadas foram avaliadas após três dias,

quando completamente secas. A descrição de espécies foi realizada conforme os sites da “International Culture Collection of Arbuscular and Vesicular-Arbuscular Mycorrhizal Fungi” (INVAM, 2016); e do “Arbuscular mycorrhizal fungi (Glomeromycota), Endogone and Complexipes species deposited in the Department of Plant Pathology, University of Agriculture in Szczecin, Poland” (JANUSZ BLASZKOWSKI, 2016).

3.10 Avaliação da estrutura da comunidade de FMAs por meio de PCR-DGGE

3.10.1 Extração de DNA do solo

A extração de DNA do solo para PCR foi realizada com a utilização do FastDNA® SPIN kit for soil com as recomendações do fabricante e algumas modificações.

A extração consistiu nas seguintes etapas: colocaram-se 500 mg da amostra do solo nos tubos de lise que continham sílica e adicionaram-se 978 µL de tampão de fosfato de sódio (pH 8,0) e 122 mL de tampão MT, posteriormente homogeneizado a 8000 rpm por 40 segundos no Vortex seguido de uma centrifugação a 12000 rpm por 7 minutos. O sobrenadante então foi despejado para um tubo eppendorf de 2 mL de capacidade e adicionaram-se 250 µL da solução de precipitação de proteínas, homogeneizando-se manualmente por inversão continua e em seguida centrifugado a 12000 rpm por 7 minutos.

O sobrenadante foi conduzido para um tubo estéril de 15 mL, adicionou-se 1 mL do Binding Matrix Superior, em seguida misturada por inversão continua durante 2 minutos e subseqüentemente deixado em repouso por 3 minutos á temperatura

ambiente. Após esse período, descartou-se 500 µL do sobrenadante e o restante foi re-suspendido com uma pipeta e transferidos 600 µL para o tubo filtro e centrifugado a 12000 rpm por 90 segundos. O produto líquido resultante da centrifugação foi descartado e o procedimento foi reproduzido novamente com a solução restante.

Posteriormente, foram adicionados 500 µL de SEWS-M (lavagem de sais e etanol) ao filtro seguido de uma centrifugação a 12000 rpm por 90 segundos, o filtrado foi descartado e novamente centrifugado por 3 minutos. O filtro foi transferido para um tubo estéril e deixado em repouso por 5 minutos á temperatura ambiente, posteriormente foram adicionados 30 µL da solução DES e incubado no bloco a 55 °C durante 5 minutos e finalmente uma nova centrifugação a 12000 rpm por 90 segundos para o descarte do filtro.

Depois de completado a extração verificou-se a quantificação do DNA extraído através de gel de agarose a 1,2%. As amostras aplicadas ao gel foram preparadas com 3 µL do DNA extraído e 5 µL de corante (azul de bromofenol).

A eletroforese foi conduzida em tampão TBE 1X a 80 volts e 400 amperes durante uma hora, posteriormente foi colocado numa solução de brometo de etídio (2µg / mL) durante 20 minutos. A revelação da imagem foi realizada sob luz UV com ajuda de um fotodocumentador pelo programa Loccus Biotecnologia – Lpix Image. As amostras foram mantidas no freezer a -20°C para a sua conservação.

3.10.2 Reação em cadeia da polimerase (PCR)

A PCR foi feita conforme descrito por Liang et al. (2008) com algumas modificações, os fragmentos de rDNA foram amplificados com os iniciadores

específicos para FMAs AM1 (5'-GTTTCCC- GTAAGGCGCCGAA-3') e NS31 (5'-TTGGAGGGCAAGTCTGGTGCC-3') na primeira reação, seguido de uma segunda reação de *nested*-PCR com os primers Glo1 (5'-GCCTGCTTTAAACTCTA- 3') e NS31GC (5'- CGCCCGGGGCGCGCCCCGGGCGGGGCGGGGGCAC- GGGGGTTGGAGGGCAAGTCTGGTGCC-3') na segunda reação de PCR. Para a segunda PCR, um grampo GC foi adicionado ao terminal 5' do iniciador NS31GC para prevenir a completa desnaturação dos amplicons durante a eletroforese em gel com gradiente desnaturante (DGGE).

A primeira reação foi composta de 1 µL do DNA amostra (diluído na proporção de 1:10); 0,125 µL de enzima Taq polimerase; 1,25 µL de tampão 10x com MgCl₂; 0,25 µL de dNTP's (0,2 mM); 3,75 µL de BSA (0,3mg/mL); 0,625 µL dos primers AM1 e NS31 (0,5 mM) e água mili-Q (água ultra pura) completando para um volume final de 12,5 µL na programação seguinte: desnaturação inicial de 1 minuto a 94 ° C, 1 minuto a 66 °C e 90 segundos a 72 °C, seguido por 30 ciclos de 30 segundos a 94 ° C, 1 minuto a 66 °C e 90 segundos a 72 ° C e uma ultima extensão a 72 ° C durante 10 minutos.

Para a segunda reação, o produto da primeira reação de PCR foi diluído em água mili-Q a 1:10. O volume final para esta reação foi de 50 µL contendo 1 µL do DNA amostra; 0,125 µL de enzima Taq polimerase; 5 µL de tampão 10x com MgCl₂; 1,5 µL de dNTP's (0,2 mM); 1 µL dos primers Glo1 e NS31GC e 36 µL de água mili-Q seguido da seguinte programação: desnaturação inicial de 5 minutos a 95 °C, seguido por 35 ciclos de desnaturação de 45 segundos a 94 °C, anelamento de 45 segundos a 55 °C e extensão durante 1 minuto a 72 °C e uma ultima extensão a 72 °C durante 30 minutos.

Para a verificação das amplificações das PCR's realizou-se uma corrida do produto em gel de agarose a 1,2 %. Foi adicionado 3 µL da amostra diluída em 5 µL de azul de bromofenol, também foi colocado 3 µL de marcador molecular de 1Kb Plus DNA Ladder (Invitrogen®) para a verificação dos tamanhos das bandas geradas no gel. A corrida dos produtos das PCR's no gel e a revelação dos géis foi realizada sob o mesmo procedimento utilizado para a verificação da extração do DNA do solo (item 3.10.1).

3.10.3 Eletroforese em gel com gradiente desnaturante

Os géis de poliacrilamida a 8% (w / v) foram feitos com uma gradiente de desnaturação entre 35 e 55% (uréia-formamida), e os produtos de PCR foram aplicados na quantidade de 25 µl adicionados a 20 µl de corante (2% de azul de bromofenol, 2% de xileno cianol, glicerol 100%, água Milli-Q). A corrida do gel de DGGE foi feita usando-se o sistema de eletroforese vertical com voltagem constante de 60 V e temperatura de 55°C por um período de 18 horas em tampão 0,5X TAE. Uma pré-corrida de 1 hora foi realizada com os mesmos parâmetros para uma limpeza inicial do gel.

Após a corrida, os géis foram corados com brometo de etídeo (2µg / mL) por 20 minutos, posteriormente, descorados em água destilada por 5 minutos. As bandas foram visualizadas em transiluminador U.V. com posterior fotografia do gel pelo programa Loccus Biotecnologia – Lpix Image.

3.11 Tratamento estatístico dos dados

A avaliação do efeito dos sistemas de consórcio sobre a produtividade do milho e nos atributos químicos e biológicos do solo, densidade de esporos, índices de riqueza, colonização micorrízica e produtividade da cultura foi conduzida com a uma análise de variância utilizando o programa estatístico Sisvar 5.6 (FERREIRA, 2010). Para as variáveis nas quais foi observado efeito significativo dos tratamentos, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey, considerando o nível de 5% de significância. Os dados dos esporos recuperados foram transformados em $\log(X+1)$ e de colonização radicular em $\arcsen(X / 100)^{0.5}$ para este análise.

A análise de similaridade entre as áreas de estudo em função da diversidade de espécies de FMAs, avaliada pela observação e identificação dos esporos recuperados do solo, foi conduzida utilizando o índice de Bray-Curtis. A partir da matriz de similaridade gerada procedeu-se uma análise de agrupamento, com o auxílio do programa Primer 5 (Primer-E, 2001). O índice de Bray-Curtis pode ser expresso como uma proporção de similaridade ou dissimilaridade (distância) na abundância das espécies. Em qualquer um dos casos seus valores vão de um máximo de um ao mínimo de zero. Essa padronização no intervalo entre um e zero facilita a interpretação e comparação. (BRAY; CURTIS, 1957).

Para a avaliação da estrutura da comunidade dos FMAs foram analisados os perfis de DGGE com a criação de uma matriz de presença/ausência das bandas utilizando o programa Bionumerics (Applied Biosystems), utilizado também para a condução das análises de cluster (Dendograma de tipo UPGMA) utilizou-se o coeficiente de Jaccard como matriz de similaridade.

Para avaliar as possíveis relações existentes entre os atributos do solo e a diversidade de fungos micorrízicos arbusculares presentes nas áreas em estudo, utilizou-se a análise de componentes principais (ACP). Para isto foi utilizado o programa CANOCO (TER BRAAK & SMILAUER, 1988).

4. OBJETIVOS

4.1. Objetivo geral

Avaliar a diversidade de fungos micorrízicos arbusculares e sua relação com atributos químicos e microbiológicos do solo sob diferentes sistemas de manejo no Cerrado

4.2. Objetivos específicos

- Avaliar a produtividade de do milho em monocultivo e em consórcio com forrageiras no Cerrado
- Avaliar os atributos do solo em diferentes sistemas de manejo no Cerrado
- Avaliar a dinâmica dos FMAs (colonização micorrízica e densidade de esporos) em diferentes sistemas de manejo no Cerrado
- Avaliar a estrutura da comunidade de FMAs pela técnica morfológica e molecular PCR-DGGE em diferentes sistemas de manejo no Cerrado
- Avaliar a relação da ocorrência dos FMAs com os atributos do solo em diferentes sistemas de manejo no Cerrado

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Produtividade do milho sob monocultivo e em consórcio com forrageiras em sistema plantio direto

A produtividade do milho cultivado em sistema de consórcio com as forrageiras *U. humidicola* e *P. maximum* cv. Aruana em SPD não diferiu significativamente da produtividade do milho em sistema monocultivo em SPD (Tukey, $p \leq 0,05$), não obstante foi observado uma tendência à maior produção de grãos na área de milho em sistema monocultivo com produtividade de 17821 kg ha^{-1} e para as áreas de consórcio foram encontrados valores de 13857 kg ha^{-1} para área de milho em consórcio com *U. humidicola* e 12769 kg ha^{-1} para o milho consorciado com *P. maximum* cv. Aruana (Tabela 5.1).

Tabela 5.1 Produtividade de milho (kg/ha^{-1}) em diferentes sistemas de manejo: milho em sistema monocultivo (M); milho em consórcio com *P. maximum* cv. Aruana (MA); e milho em consórcio com *U. humidicola* (MB).

TRAT	PRODUTIVIDADE
M	$17821 \pm 3887.6 \text{ a}$
MA	$12769 \pm 3768.3 \text{ a}$
MB	$13857 \pm 2955.1 \text{ a}$
Média	14816 ± 3849.1
CV %	21.75

Os dados representam a média de três repetições \pm Desvio padrão. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste Tukey a 5 % de probabilidade.

Coser (2013) observou na mesma área do experimento na safra 2010/2011 quando o espaçamento da parcela foi de 0,90 m que os sistemas de consórcio (milho em consórcio com *P. maximum* cv. Aruana e milho em consórcio com *U. humidicola*) não apresentaram diferença na produtividade, observando valores em média de 11118 kg ha⁻¹ e para a área do milho quando em sistema de monocultivo em SPD apresentou produtividade de 9552 kg ha⁻¹. No presente trabalho, embora não encontrou-se diferença, é observado que o milho quando consorciado com *Urochloa humidicola* reduz em 22,2% e em consórcio com *P. maximum* cv. Aruana reduz em 28,3% quando comparados com o milho em sistema de monocultivo.

Garcia et al. (2013) em um estudo conduzido em um Latossolo Vermelho distrófico demonstrou que a produtividade do milho em sistema plantio direto sob monocultivo e em consórcio com forrageiras (*P. maximum* cv. Tanzânia e *P. maximum* cv. Mombaça; *U. brizantha* cv. Marandú e *U. ruziziensis*) em espaçamento de 0,90 m não diminui a produtividade do milho quando comparados entre si. Borghi & Crusciol (2007) também observaram que o consórcio de milho com *U. brizantha* simultaneamente (na linha e entrelinha) em espaçamentos de 0,90 m a produtividade do milho não difere significativamente quando comparado com milho em sistema monocultivo, mas observando uma diminuição de 16,5%. Nesses mesmos sistemas foram observadas diferenças de -21,1%, na área de milho consorciado, quando as linhas de cultivo foram reduzidas para 0,45m.

No presente estudo, a pequena diminuição da produtividade dos sistemas em consórcio pode estar atribuída às pastagens consorciadas, em que a competição pelos nutrientes é maior quando comparadas às culturas em sistema de monocultivo. O milho quando consorciado com pastagens pode diminuir a

produtividade quando a densidade por área for alta (SILVA et al., 2015), no entanto a densidade de plantas forrageiras não foi elevada para competir como o milho, pois este se desenvolveu mais rápido impedindo a entrada de luz para as forrageiras, ocasionando um retardo no desenvolvimento dessas plantas (CECCON, 2013).

Com as plantas forrageiras pouco desenvolvidas, a cultura do milho obteve vantagem em aproveitar os nutrientes do solo, considerando que aproximadamente de 60 a 70% de nitrogênio e 85% de potássio são extraídos antes da floração da cultura (DUARTE et al., 2003), visto que nesse estágio as forrageiras não se tornam competentes para a extração de nutrientes do solo. Outro fator que poderia ter influenciado na produtividade do milho em sistema de monocultivo foi o alto teor de P encontrado no solo (Tabela 5.2).

5.2 Atributos químicos e microbiológicos do solo cultivado em sistema de monocultivo de milho e em consorcio com forrageiras

5.2.1 Atributos químicos do solo

Os atributos químicos do solo apresentaram diferenças significativas entre os diferentes sistemas de manejo, quanto aos valores de Al^{3+} e P (Tabela 5.2). O alumínio trocável (Al^{3+}) foi maior na área de milho em sistema monocultivo, já que este apresentou valores de pH menores em relação aos outros tratamentos e o Al^{3+} está relacionado ao fator pH (ZAMBROSI et al., 2007). Para o P (fósforo) foram encontrados teores baixos nas áreas sob pastagens e milho consorciado com pastagens.

Nas áreas sob diferentes sistemas de manejo, exceto o milho em sistema monocultivo, os baixos teores de P (25,81 mg dm⁻³ em média) podem ser explicados pelo fato das pastagens serem altamente extratoras de nutrientes do solo e possuírem maior cobertura da área, explorando assim maior área do solo, mesmo tendo sido aplicado fonte de P da mesma forma que na área do milho em sistema de monocultivo. As pastagens dos gêneros *Urochloa* e *Panicum* respondem de maneira eficiente à adubação fosfatada, pois gramíneas pertencentes a estes gêneros têm alta capacidade de absorção desse elemento no solo (CANTARELLA et al., 2002), portanto é provável que as pastagens tenham extraído maior quantidade de P do solo.

Tabela 5.2 Atributos químicos do solo: pH (pH); alumínio trocável (Al^{3+}); cálcio+magnésio (Ca+Mg); fósforo (P); potássio (K); carbono orgânico total (COT) e matéria orgânica (MO) em diferentes sistemas de manejo: milho em sistema monocultivo (M); milho em consórcio com *P. maximum* cv. Aruana (MA); milho em consórcio com *U. humidicola* (MB); área sob pastagem *P. maximum* cv. Aruana (A); área sob pastagem *U. humidicola* (B) e área nativa de Cerrado (C) como área de referência. Em solo Latossolo Vermelho distrófico típico no Cerrado, DF.

ATRIBUTOS QUÍMICOS							
	pH	Al^{3+}	Ca+Mg	P	K	MO	COT
TRATAMENTOS	 $cmol_c dm^{-3}$ mg/dm^{-3} $g kg^{-1}$	
M	5,6 ± 0,1 a	0,21 ± 0,1 b	3,01 ± 0,4 a	70,53 ± 3,3 a	73,68 ± 3,3 a	5,15 ± 0,4 a	29,9 ± 2,4 a
MA	5,7 ± 0,1 a	0,10 ± 0,1 a	3,43 ± 1,1 a	13,42 ± 22,2b	68,57 ± 22,2 a	4,72 ± 0,2 a	27,4 ± 1,0 a
MB	5,6 ± 0,2 a	0,08 ± 0,0 a	3,71 ± 0,7 a	22,97 ± 23,2b	68,57 ± 23,2 a	4,57 ± 0,1 a	26,5 ± 0,4 a
A	5,8 ± 0,1 a	0,05 ± 0,0 a	3,38 ± 0,3 a	15,49 ± 15,4b	49,61 ± 15,4 a	4,44 ± 0,1 a	25,8 ± 0,8 a
B	5,9 ± 0,2 a	0,05 ± 0,0 a	4,60 ± 0,9 a	6,61 ± 9,9 b	67,84 ± 9,9 a	4,80 ± 0,5 a	27,8 ± 2,7 a
Média	5,5 ± 0,5	0,23 ± 0,3	3,08 ± 1,5	22,01 ± 26,3	62,32 ± 16,8	4,77 ± 0,4	27,69 ± 2,1
CV (%)	2,45	35,94	21,60	62,28	25,61	6,94	4,84
ÁREA DE REFERÊNCIA	pH	Al^{3+}	Ca+Mg	P	K	MO	COT
	 $cmol_c dm^{-3}$ mg/dm^{-3} $g kg^{-1}$	
C	4.4 ± 0.0	0.85 ± 0.0	0.30 ± 0.0	3.01 ± 0.0	45.59 ± 1.1	4.96 ± 0.3	28,8 ± 2,0

Os dados representam a média de três repetições ± Desvio padrão. Letras iguais dentro da coluna não diferem significativamente pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$).

Outra hipótese dos altos de P na área do milho em monocultivo em sistema de plantio direto são atribuídos à adição deste nutriente nas camadas superficiais e aos teores altos de matéria orgânica encontrados no solo, isto devido ao maior aporte de resíduos orgânicos e, por conseguinte a sua reciclagem pela mineralização dos resíduos depositados na camada superficial (ANGHINONI et al., 2007), outra explicação, poderia ser um erro da amostragem, pois este elemento é aplicado ao lanço e, devido a sua pouca mobilidade no solo, pode ser que durante a coleta foi recolhido solo com altas concentrações de P_2O_5 .

Observa-se na área de referencia (área de Cerrado) teores baixos de P ($3,01 \text{ mg dm}^{-3}$), já que este elemento está relacionado com sua característica natural, com teores de P quase sempre inferiores a 1 mg dm^{-3} (CORREIA et al., 2004). Esta mesma área apresentou pH baixo (pH 4,4) em relação às áreas de cultivo (sistemas de manejo), em função da correção do pH das áreas cultivadas, pela aplicação de calcário dolomítico no manejo da acidez do solo, observasse correlação positiva (0,8639) deste atributo com o pH do solo (ver Tabela 5.4).

A matéria orgânica (MO) do solo não diferiu estatisticamente (Tukey, $p \leq 0,05$) entre os diferentes manejos do solo, variando de 5,15 % para a área de milho em sistema de monocultivo a 4,44 % para a área sob pastagem *P. maximum* cv. Aruana. Cabe mencionar que durante o estabelecimento destes sistemas de manejo do solo o teor de MO no solo das parcelas era relativamente menor em comparação com a atual. De acordo com o histórico da área, quando estabelecido estes sistemas na safra 2007/2008, os teores de MO eram similares entre as áreas agrícolas quando comparadas entre si, mas o teor de matéria orgânica encontrado nessa safra foi inferior a 4%, na mesma camada de estudo (0-10 cm), de acordo com Sato et al. (2012). Após seis anos de o experimento ser conduzido, observar-se que estes

sistemas de manejo aumentaram os teores de matéria orgânica no solo, o que indica que estes sistemas de manejo, após alguns anos, têm a capacidade de elevar os teores de MO e torná-los similar à área nativa do Cerrado, isto devido às maiores taxas de deposição de biomassa vegetal nas camadas superficiais e menor erosão pelo mínimo revolvimento do solo (ANGHINONI, 2007), assim também, ao maior volume do sistema radicular das forrageiras no solo (SALTON & TOMAZI, 2014).

Da mesma forma o carbono orgânico total (COT) não apresentou diferenças significativas (Tukey, $p \leq 0,05$) entre as áreas estudadas, apresentando teores que variaram de 29,9 a 25,8 g kg⁻¹ (Tabela 5.2). Em um estudo conduzido por Carmo et al. (2012) na mesma área de estudo na safra 2009/2010, foram encontrados dados variando de 22,6 a 20,6 g kg⁻¹ na profundidade de 0-5 cm, esses autores observaram os maiores valores nas áreas de milho em sistema de monocultivo, milho em consórcio com *P. maximum* cv. Aruana e milho consorciado com *U. humidicola* sendo esta última similar às áreas sob pastagens (*P. maximum* cv. Aruana e *U. humidicola*) os quais apresentaram os valores mais baixos.

Santos et al. (2015) encontraram valores similares em solo Latossolo Vermelho distrófico em áreas com sucessão de culturas, tendo como cultura principal na safra a soja e na entressafra milho, milho em consórcio com *Urochloa brizantha*, área sob pastagem *Urochloa brizantha* e área com vegetação espontânea com valores variando de 32,54 a 27,55 g kg⁻¹, os valores mais altos encontrados nesse estudo foram nas áreas sob pastagem e milho consorciado. Carneiro et al. (2008) encontraram similaridade entre as áreas sob pastagem (*U. decumbens*) e área do Cerrado em um Latossolo Vermelho apresentando valores de 22 e 21,6 g kg⁻¹, esses autores observaram que as áreas sob pastagens, com o manejo adequado durante vários ciclos, podem elevar valores de COT.

Valores altos de COT no solo podem ser atribuídos pela vasta quantidade de raízes das gramíneas, que abrangem maior extensão do solo e pelas práticas de mínimo revolvimento do solo, sendo esses dois fatores contribuintes para a conservação da estrutura do solo evitando a exposição da matéria orgânica a processos de oxidação biológica em altas taxas (CARNEIRO et al., 2008).

5.2.2 Atributos microbiológicos do solo

5.2.2.1 Carbono da biomassa microbiana

No presente estudo o Cmic não diferiu estatisticamente (Tukey, $p \leq 0,05$) entre as áreas estudadas, no entanto os maiores teores foram encontrados na área de milho em consórcio com *P. maximum* cv. Aruana e área sob pastagem *P. maximum* cv. Aruana com 220,22 e 205,22 mg/kg⁻¹ respectivamente. As áreas sob pastagem *U. humidicola*, milho em sistema de monocultivo e em consórcio com *U. humidicola* apresentaram valores inferiores a 130 g/kg⁻¹ (Tabela 5.3), o que pode ter sido atribuído ao ambiente rizosférico das Braquiarias (gênero *Urochloa*) no solo, pois sabe-se que a microbiota do solo têm preferência por determinadas espécies vegetais, uma vez que depositam no solo diferentes compostos orgânicos (exsudados) em quantidades e qualidades distintas, além de depositarem substâncias alelopáticas que diminuem a população da microbiota do solo (MOREIRA & SIQUEIRA, 2006).

Tabela 5.3 Atributos microbiológicos do solo: carbono da biomassa microbiana (Cmic); quociente microbiano (qMic) e proteína do solo relacionada à glomalina – facilmente extraível (PSRG-FE) em diferentes sistemas de manejo: milho em sistema monocultivo (M); milho em consórcio com *P. maximum* cv. Aruana (MA); milho em consórcio com *U. humidicola* (MB); área sob pastagem *P. maximum* cv. Aruana (A); área sob pastagem *U. humidicola* (B) e área nativa de Cerrado (C) como área de referência. Em solo Latossolo Vermelho distrófico típico no Cerrado, DF.

ATRIBUTOS MICROBIOLÓGICOS			
Atributos	Cmic	qMic	PSRG – FE
TRATAMENTOS	mg kg ⁻¹	%	(mg/g)
M	118,21 ± 23,2 a	0,39 ± 0,1 a	2,43 ± 0,1 a
MA	220,74 ± 114,1 a	0,79 ± 0,4 a	2,34 ± 0,2 a
MB	125,91 ± 22,3 a	0,47 ± 0,1 a	2,30 ± 0,2 a
A	205,22 ± 55,9 a	0,80 ± 0,2 a	2,15 ± 0,3 a
B	111,02 ± 64,8 a	0,40 ± 0,2 a	2,38 ± 0,3 a
Média	172,35 ± 76,3	0,63 ± 0,3	2,61 ± 0,7
CV (%)	38,15	38,88	10,45
ÁREA DE REFERÊNCIA	Cmic	qMic	PSRG – FE
	mg kg ⁻¹	%	(mg/g)
C	253,01 ± 0,0	0,88 ± 0,1	4,04 ± 0,0

Os dados representam a média de três repetições ± Desvio padrão. Letras iguais dentro da coluna não diferem significativamente pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$).

Diversos estudos mostram que em áreas agrícolas (PEREZ et al., 2004), culturas anuais (RAMBO et al., 2014) e áreas sob pastagem (D'ANDRÉA et al., 2002), são encontrados teores baixos do carbono da biomassa microbiana (Cmic), quando comparados com áreas nativas, no entanto se observa que as áreas de milho em consórcio com *P. maximum* cv. Aruana e área sob pastagem *P. maximum* cv. Aruana apresentaram dados similares quando comparadas com a área de referencia (área de Cerrado).

Em um trabalho conduzido por Santos et al. (2015) em um Latossolo Vermelho distrófico, na entressafra, após a cultura de soja, observou-se teores de Cmic similares em áreas de milho, milho em consórcio com *U. ruziziensis* e área sob pastagem *U. brizantha*. Em outro trabalho feito por Araújo et al. (2007), em um Latossolo Vermelho Amarelo distrófico típico observou-se similaridade entre a área sob pastagem *U. decumbens* e área nativa do Cerrado quando estabelecido durante vários anos, sendo os valores encontrados para a área de Cerrado e para a área sob pastagem de 532,07 e 400,79 mg/kg⁻¹ respectivamente, isto foi observado na camada superficial de 0-5 cm. No entanto, em áreas sob pastagens estabelecidas com manejo contínuo durante vários anos, os teores de Cmic podem se igualar com áreas nativas (ARAÚJO et al., 2007), inclusive serem maiores que áreas preservadas (RAMBO et al., 2014).

Segundo o histórico do experimento na coleta da safra 2007/2008 e 2009/2010 (CARMO, 2011) as parcelas sob diferentes sistemas de manejo aumentaram para a segunda safra apresentando variabilidade alta, observando que a área de milho consorciado com *P. maximum* cv. Aruana não apresentou alta variabilidade sendo os valores encontrados para essas safras de 221,32 e 262,83 mg/kg⁻¹, esse mesmo autor também realizou uma coleta na entressafra em novembro de 2011 obtendo

valores de 224,05 mg/kg⁻¹ e, observando para o presente estudo (safra 2014/2015) o valor de 220,74 mg/kg⁻¹ é possível que para esta, a comunidade microbiana não é alterada pelo sistema de manejo adotado.

5.2.2.2 Quociente microbiano

Os valores encontrados do quociente microbiano (qMic) não apresentaram diferenças significativas (Tukey, $p \leq 0,05$) variando de 0,80 a 0,39 %, sendo o maior valor para a sob pastagem *P. maximum* cv. Aruana e o menor para área de milho em sistema monocultivo, mas observando que estes valores foram inferiores à área de referência Cerrado (Tabela 5.3).

Geralmente os solos das áreas preservadas apresentam maiores valores deste índice em comparação às áreas agrícolas no Cerrado (D'ANDRÉA et al., 2002; SILVA et al., 2007). No entanto, em um estudo de efeito nas atividades microbianas do solo a diferentes resíduos orgânicos durante 20 dias sob condições controladas em solo Latossolo Vermelho conduzido por Belo et al. (2012), observaram que os resíduos de origem de pastagem braquiária (*U. ruziziensis*) depositados no solo aumentaram os valores deste índice (0,7%) em comparação com palhada de milho depositado no solo (0,5%), inclusive da serapilheira (0,2%) concluindo que os resíduos desta pastagem (braquiária) promovem incrementos na atividade microbiana.

Embora não foram encontradas diferenças entre as áreas sob diferentes sistemas de manejo, pode-se observar que a presença da pastagem *P. maximum* cv. Aruana apresentam variações leves comparadas com a área de Cerrado.

Muito possivelmente, a biomassa microbiana foi estimulada pela presença das gramíneas, principalmente as áreas com presença de *P. maximum* cv. Aruana, pois estas possuem um sistema radicular denso e em constante renovação e pela liberação de diversas substâncias orgânicas (exsudados, mucilagens e secreções) depositados no solo, o qual disponibiliza nutrientes para a microbiota do solo (D'ANDRÉA et al., 2002).

5.2.2.3 Proteína do solo relacionada à glomalina - facilmente extraível (PSRG-FE)

Neste estudo a PSRG – FE não apresentou diferenças significativas (Tukey, $p \leq 0,05$) entre as áreas de cultura (milho em sistema monocultivo), áreas sob consórcio (milho em consórcio com pastagens (*P. maximum* cv. Aruana e *U. humidicola*)) e áreas sob pastagens (*P. maximum* cv. Aruana e *U. humidicola*) quando comparadas entre si. No entanto, observa-se que a área de Cerrado apresentaram diferenças significativas, sendo que a área preservada (Cerrado) apresentou os maiores teores (4,04 mg/g) e as áreas sob diferentes sistemas de manejo apresentaram valores variando de 2,15 a 2,43 mg/g (Tabela 5.3).

Os menores teores da PSRG-FE encontrados nas áreas sob diferentes manejos do solo podem ser justificados pela montagem das parcelas no início do experimento (safra 2007/2008), que ocasionou alterações no solo devido às práticas utilizadas durante a implantação das culturas e das pastagens. Considerando-se que a área foi arada, gradeada e calcareada antes da semeadura alterando a estrutura do solo e, conseqüentemente alterando também a estrutura e a dinâmica da comunidade micorrízica (MIRANDA et al., 2007). Já em ambientes naturais, a

ausência de intervenções antrópicas promove condições favoráveis para o crescimento das estruturas fúngicas e, por conseguinte a produção e conservação dessa proteína (SOUSA et al., 2012).

A PSRG-FE por ser produzida em grandes quantidades pelos FMAs, é aderida às partículas do solo contribuindo para a formação dos agregados e permanecendo durante muito tempo no solo devido à sua característica de recalcitrância e a insolubilidade em água que possui (MOREIRA & SIQUEIRA, 2006), portanto na área do Cerrado (área não perturbada), os teores de PSRG-FE foram maiores já que a estrutura do solo não foi alterada. Já nas áreas sob diferentes sistemas de manejo do solo, que foram submetidas à aração e gradagem, esta proteína provavelmente pode ter sido deslocada para as camadas inferiores, pois as camadas de solo foram revolvidas alterando a camada superficial (camada de coleta 0-10 cm) e as camadas inferiores a esta, uma vez que os FMAs têm maior ocorrência e atividade nas camadas superficiais.

Em áreas de culturas convencionais são encontrados menores teores dessa proteína quando comparados com áreas nativas ou áreas de baixo revolvimento do solo, como o sistema de plantio direto, uma vez que o revolvimento do solo destrói as hifas fúngicas, o que influencia negativamente na produção dessa proteína (SOUSA et al., 2012). Purin & Klauberg Filho (2010) mencionam algumas justificativas possíveis sobre a dinâmica da PSRG-FE nas áreas agrícolas: o revolvimento do solo acelera a decomposição da fração orgânica do solo; o revolvimento do solo rompe o micélio fúngico, reduzindo a produção dessa proteína e o revolvimento seleciona espécies de FMAs dominantes do sistema, as quais possuem baixa produção de PSRG-FE. Outra hipótese é que a maior produção de biomassa de uma área pode resultar em aumentos na taxa fotossintética e, por

consequente a alocação de fotossintatos para as raízes, estimulando desta maneira uma multiplicação das estruturas fúngicas e a produção de glomalina pelos FMAs associados à planta (SOUSA et al., 2012).

Diversos estudos também relacionam os teores de PSRG-FE com as características físicas e químicas do solo (ARAÚJO et al., 2011), principalmente com o COT do solo (PURIN et al., 2006; SILVA et al., 2012). Neste estudo, foi observada uma correlação de Pearson positiva (0,3356) entre os teores de PSRG-FE e o carbono orgânico total do solo (COT) entre os sistemas de manejo adotados e a área de Cerrado (Tabela 5.4).

Tabela 5.4 Correlação de Pearson dos atributos do solo nas diferentes áreas de estudo em Latossolo Vermelho distrófico típico no Cerrado, DF.

ATRIBUTOS	Cmic	COT	PSRG-FE	Ca+Mg	K	P	pH
pH	-0.4467	-0.2983	-0.892*	0.8639	0.4039	0.2046	1
P	-0.386	0.3186	-0.318	0.1541	0.4938	1	
K	-0.278	0.1835	-0.4513	0.6043	1		
Ca+Mg	-0.4206	-0.125	-0.832*	1			
PSRG-FE	0.3574	0.3356	1				
COT	-0.0571*	1					
Cmic	1						

Atributos do solo: potencial de Hidrógeno (pH); fósforo (P); potássio (K); cálcio+magnésio (Ca+Mg); proteína do solo relacionada à glomalina – facilmente extraível (PSRG-FE); carbono orgânico total (COT) e carbono da biomassa microbiana (Cmic). * significativo a 5% ($p < 0,05$).

Os maiores teores de PSRG-FE foram encontrados nas áreas onde o COT também apresentaram os maiores teores, embora não foram encontradas diferenças entre estes sistemas de manejo. Isso se deve provavelmente à palhada depositada no solo que contribui na dinâmica dos FMAs e conseqüentemente na produção de abundantes estruturas fúngicas (micélio e esporos) que aumentam a quantidade de

PSRG-FE no solo, como demonstrado por Angelini et al. (2011). Estes autores observaram correlação positiva de PSRG-FE e COT em um estudo da dinâmica de PSRG sob diferentes volumes de palhada de cana de açúcar em um Latossolo Vermelho no Cerrado e, argumentaram que esta relação poderia estar ligada à alteração dos fatores bióticos e abióticos proporcionados pelo aumento matéria orgânica no solo, já que nos maiores volumes de palhada depositada se encontraram maiores teores da PSRG-FE e PSRG-T (proteína do solo relacionada à glomalina - total) e também concluíram que a PSRG poderia ser um indicador de qualidade do solo. Outra justificativa a esta relação é o conteúdo total de carbono que esta proteína contém, já que aproximadamente oscila em torno de 27% (MIRANDA et al., 2007) e dependendo do método de extração da PSRG poderia representar de 28 a 45% de carbono do solo (RILLIG et al., 2003; LOVELOCK et al., 2004; NICHOLS & WRIGHT, 2006).

5.2.3 Relação dos atributos químicos e biológicos do solo cultivado em sistema de monocultivo de milho e em consorcio com forrageiras

Para entender melhor o comportamento dos atributos químicos e biológicos do solo nas áreas sob diferentes sistemas de manejo e área de Cerrado foi realizado uma análise de componentes principais (PCA) apresentado na Figura 5.1.

Os dois primeiros eixos explicam 70,6% de variabilidade total dos dados, sendo 50,5% do eixo 1 e 20,1% no eixo 2. Observa-se que a componente principal 1 separa a área de Cerrado das áreas sob diferentes sistemas de manejo, sendo que os atributos que apresentaram as maiores diferenças entre as áreas foram os elevados teores de Al^{3+} , PSRG-FT, Cmic, qMic e COT, menores valores de pH e

baixos teores de Ca+Mg. Cabe ressaltar que a área de milho solteiro apresentou o maior teor de COT, seguido da área de Cerrado. Observa-se também que as áreas sob consórcio se encontram mais próximo do centro do gráfico, o que indica que apresentaram valores próximos à média dos atributos (Figura 5.1).

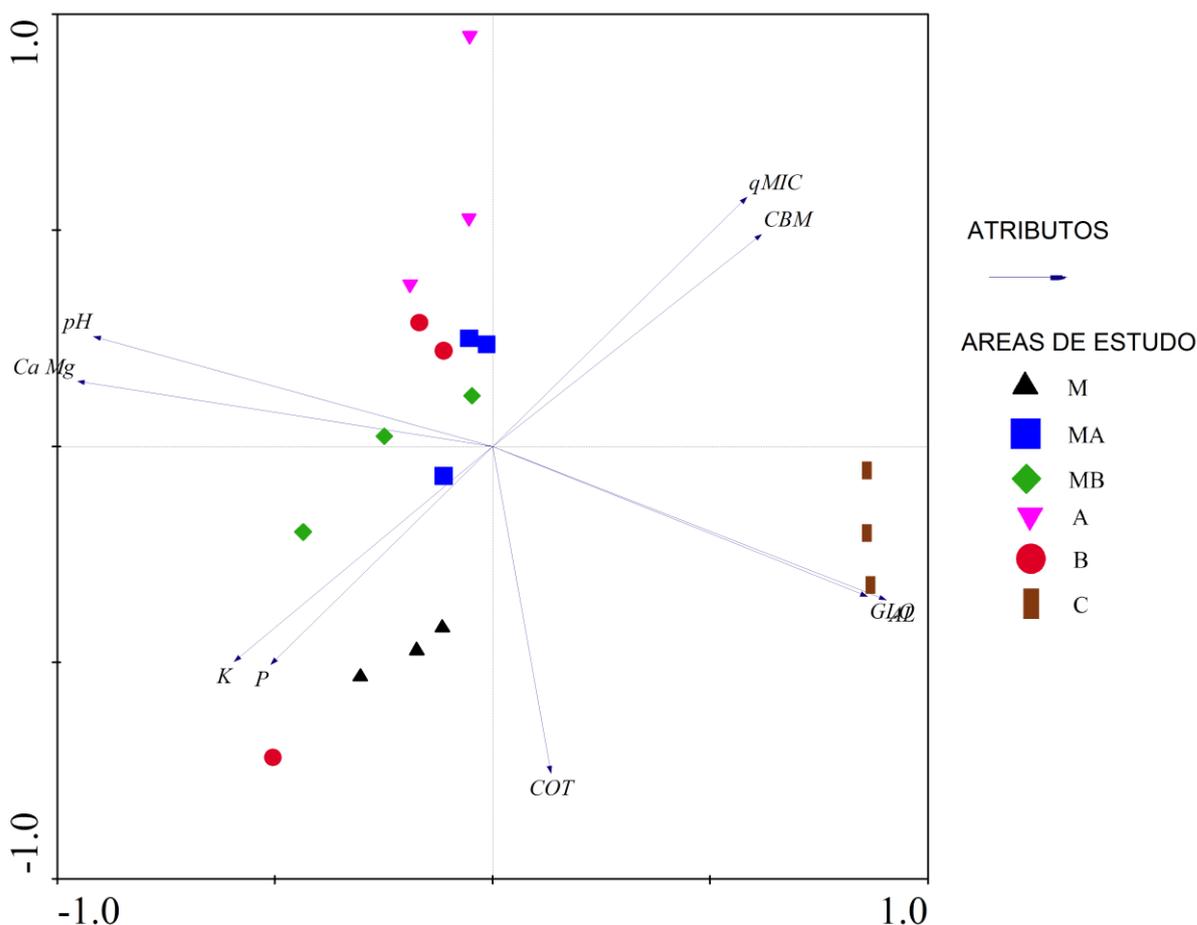


Figura 5.1 Relação dos atributos químicos e microbiológicos: pH (pH); alumínio trocável (Al^{3+}); cálcio+magnésio (Ca+Mg); fósforo (P); potássio (K); carbono orgânico total (COT); matéria orgânica (MO) carbono da biomassa microbiana (Cmic); quociente microbiano (qMic) e proteína do solo relacionada à glomalina – facilmente extraível (GLO) com as áreas de estudo pela análise de componentes principais (ACP). Diferentes sistemas de manejo em tres repetições milho em sistema monocultivo (M); milho em consórcio com *P. maximum* cv. Aruana (MA); milho em consórcio com *U. humidicola* (MB); área sob pastagem *P. maximum* cv. Aruana (A); área sob pastagem *U. humidicola* (B) e área nativa de Cerrado (C). Em solo Latossolo Vermelho distrófico típico no Cerrado, DF.

5.3 Colonização micorrízica e densidade de esporos de fungos micorrízicos arbusculares em sistema de monocultivo de milho e em consórcio com forrageiras

5.3.1 Colonização micorrízica

Os FMAs têm certa preferência na colonização de hospedeiros (MOREIRA & SIQUEIRA, 2006), especialmente com relação às plantas cultivadas, sobretudo em solos de baixa fertilidade como o Cerrado (MIRANDA, 2012), apesar de colonizarem a maioria das espécies.

Neste estudo a taxa de colonização micorrízica apresentou diferenças significativas (Tukey, $p \leq 0,05$) entre os sistemas de manejo utilizados, sendo os sistemas que apresentaram maior taxa de colonização: milho em sistema monocultivo, milho em consórcio com pastagens (*P. maximum* cv. Aruana e *U. humidicola*) e área sob pastagem *U. humidicola* com taxa de colonização de 54,7; 51,8; 48,1 e 39,4% respectivamente, sendo que estas duas últimas áreas também foram similares com a área sob pastagem *P. maximum* cv. Aruana que apresentou taxa de colonização micorrízica baixa (24,3%) (Figura 5.2; **Error! No se encuentra el origen de la referencia.**).

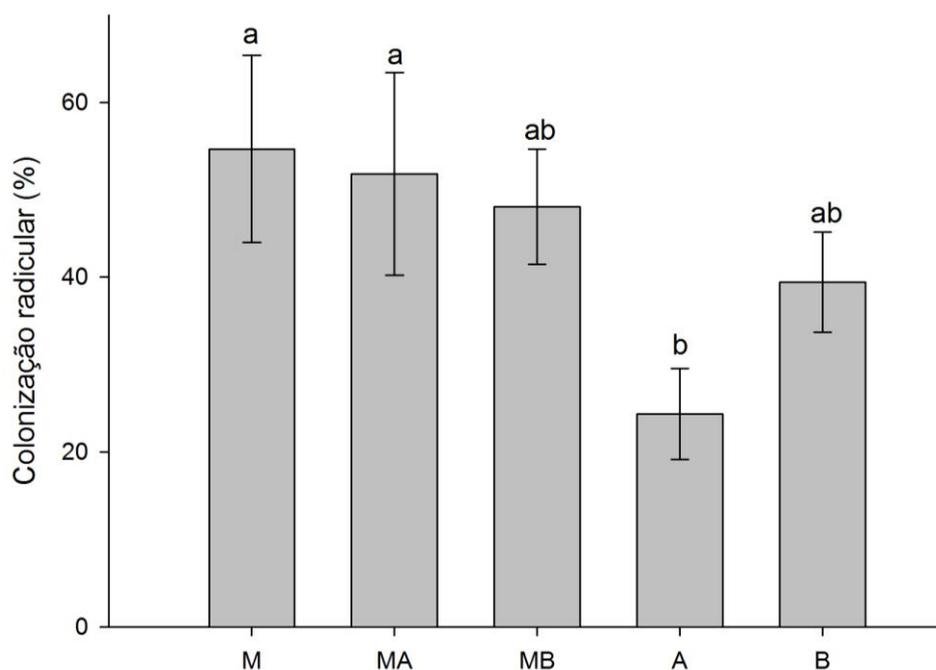


Figura 5.2 Colonização micorrízica de plantas submetidas a diferentes sistemas de manejo: milho em sistema monocultivo (M); milho em consórcio com *P. maximum* cv. Aruana (MA); milho em consórcio com *U. humidicola* (MB); área sob pastagem *P. maximum* cv. Aruana (A); e área sob pastagem *U. humidicola* (B). Em solo Latossolo vermelho distrófico típico no Cerrado, DF. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste Tukey a 5%. Barra representa o desvio padrão de três repetições.

Estas gramíneas, principalmente o milho e a *U. humidicola*, são reconhecidas como boas hospedeiras de FMAs porque possuem um amplo sistema radicular, alta capacidade fotossintética e elevada demanda de P (CARRENHO et al., 2010).

Pode-se observar que a inclusão das pastagens na cultura do milho não altera a colonização micorrízica do milho. É observada uma leve diminuição na taxa de colonização micorrízica do milho consorciado com *U. humidicola* em comparação do milho consorciado com *P. maximum* cv. Aruana. De acordo com Ramos et al. (2012) no primeiro estabelecido o experimento, encontraram menores taxas de colonização micorrízica (39,62%) em milho quando consorciado com *U. humidicola*, e quando

comparado com milho consorciado com *P. maximum* cv. Aruana a taxa de colonização foi aumentada (74,43%). Para as outras áreas sob diferentes sistemas de manejo é observado que esses autores encontraram taxas de colonização mais altas do que encontradas neste estudo, segundo Miranda et al. (2005) a taxa de colonização micorrízica é maior no primeiro ano de estabelecidas e diminui com o tempo de cultivo.

Nas áreas sob pastagens, apesar de não terem sido encontradas diferenças, observa-se uma diminuição da taxa (-15%) em *P. maximum* cv. Aruana comparado com *U. humidicola*. Ramos et al., (2012) não encontraram diferença na taxa de colonização das espécies forrageiras (pastagens) *P. maximum* cv. Aruana (51,16%) e da *U. humidicola* (60,42%), e também verificou-se que a espécie *U. humidicola* apresentou maiores taxas de colonização micorrízica. Novais et al. (2009) realizaram um estudo da colonização micorrízica de *U. decumbens* por diferentes espécies de FMAs e observaram que existe uma variação na taxa micorrízica com as diferentes espécies de FMAs, encontrando valores em média de 52%. Da mesma forma, Costa et al. (2012) encontraram diferentes taxas de colonização micorrízica em *Urochloa brizanta* cv. Marandu em um estudo com doses de P, as taxas variaram de 61,6 a 38,5%.

Cordeiro et al. (2005) em solo Latossolo Vermelho no Cerrado encontraram em *Urochloa decumbens* taxas (40%) similares aos encontrados em *U. humidicola* neste experimento, e quando comparado com culturas anuais (soja e sorgo) em sistema plantio direto apresentaram similaridade entre si, demonstrando que as áreas sob pastagens e as áreas de cultura apresentam similaridade na taxa de colonização micorrízica.

5.3.2 Densidade de esporos de fungos micorrízicos arbusculares

Fatores climáticos e antrópicos como a perturbação de uma área, manejo do solo e tipos de culturas influenciam na comunidade dos fungos micorrízicos arbusculares. O manejo adequado de uma área pode favorecer qualitativa e quantitativamente (riqueza de espécies, colonização micorrízica, abundância de esporos) a comunidade micorrízica (MIRANDA, 2012).

Neste estudo, a densidade de esporos dos fungos micorrízicos arbusculares não apresentou diferenças significativas (Tukey, $p \leq 0,05$) em função dos manejos do solo, variando de 584 a 427 esporos recuperados em 50 mL de solo. Os valores das densidades recuperadas para as áreas de milho em sistema de monocultivo, milho em consórcio com pastagens (*Panicum maximum* cv. Aruana e *Urachiaria humidicola*), área sob pastagem *Panicum maximum* cv. Aruana e a área sob pastagem *Urachiaria humidicola* foram 517, 584, 547, 541 e 427 esporos/50 mL respectivamente, observando também que estes valores foram maiores à área do Cerrado apresentando densidade de 151 esporos/50 mL (Figura 5.3).

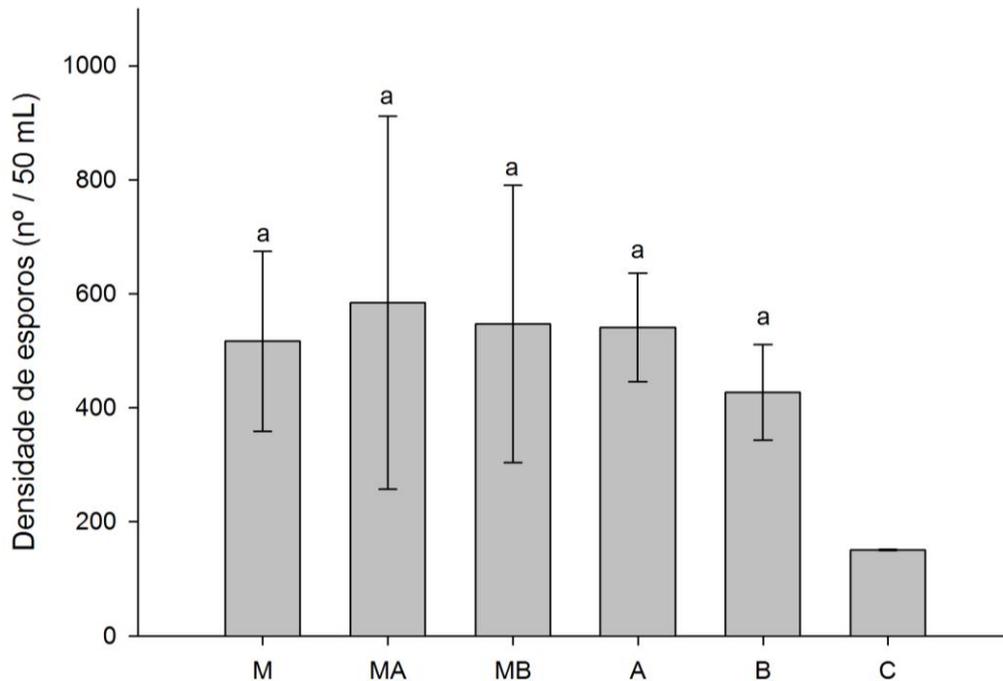


Figura 5.3 Densidade de esporos de FMAs recuperados em 50 mL de solo em diferentes sistemas de manejo: milho em sistema monocultivo (M); milho em consórcio com *P. maximum* cv. Aruana (MA); milho em consórcio com *U. humidicola* (MB); área sob pastagem *P. maximum* cv. Aruana (A); área sob pastagem *U. humidicola* (B) e área de Cerrado (C). Em solo Latossolo Vermelho distrófico típico no Cerrado, DF. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste Tukey a 5 %. Barra representa o desvio padrão de tres repetições.

O estudo realizado por Ramos et al. (2012) na safra 2007/2008 nas mesmas áreas agrícolas antes da implantação das culturas (pousio) foi encontrado uma densidade média de 14 esporos/50 mL na camada de 0 - 10 cm. Após a implantação das culturas, durante a floração (janeiro 2008) foi encontrado densidade média de 119 esporos/50mL, sendo a soja estabelecida como cultura anual em sistema de monocultivo. No presente estudo, após sete anos do estabelecimento das parcelas, foram recuperados em média 461 esporos/50mL, destacando-se, diversos fatores que podem ter influenciado na densidade de esporos como mencionado por Moreira; Siqueira, (2006a) tais como o solo, planta, ambiente e manejo (Tabela 2.2).

Este trabalho corrobora com os dados encontrados por Angelini et al. (2012) que em área sob pousio (sem cultivo do solo) encontram-se menor densidade de esporos e durante o estabelecimento de culturas sob plantio direto são encontrados densidades altas de esporos no solo, na camada superficial (0-5 cm). Cordeiro et al. (2005) verificaram também, que em áreas sem lavoura (Cerrado *Stricto sensu*) encontra-se menor densidade de esporos (368) que em áreas sob culturas anuais (soja, milho e sorgo) e sob pastagem em sistemas de rotação de culturas com uma média de 626 esporos/50 mL em um Latossolo Vermelho.

No presente estudo, a presença de raízes das culturas e das pastagens aumentou em média 3,46 vezes a densidade de esporos comparada com a área do Cerrado. As culturas com intenso ou pouco revolvimento do solo (plantio direto), áreas sob pastagem contínua e áreas de consórcio de pastagens com culturas anuais promovem a produção de esporos dos FMAs (MIRANDA et al., 2007), principalmente nas áreas com presença de pastagens (FERREIRA et al., 2012).

Isso pode ser justificado devido às áreas estudadas possuírem presença de gramíneas, que são caracterizadas por apresentarem um sistema radicular fasciculado e abundante com maior exploração da área no solo. Dessa forma, as gramíneas podem estimular os FMAs a explorarem, junto com as raízes, maior área no solo, visto que são biotróficos obrigatórios (MOREIRA & SIQUEIRA, 2006) e precisam de um hospedeiro para completar o seu ciclo. Haja vista que quanto maior a quantidade de raízes no solo, maior é a quantidade de raízes colonizadas e, conseqüentemente há uma maior quantidade de estruturas fúngicas no solo, fato que não foi observado na área de coleta para o Cerrado, pois nesta área foi observada a presença de arvores que possuem menor volume de raízes nas camadas superficiais onde foi realizada a coleta.

5.4 Avaliação da diversidade de fungos micorrízicos arbusculares pela ocorrência de esporos e pela técnica de PCR-DGGE em sistema de monocultivo de milho e em consórcio com forrageiras

5.4.1. Diversidade de fungos micorrízicos arbusculares avaliada pela ocorrência de esporos

Ao avaliar a diversidade dos fungos micorrízicos arbusculares (riqueza) não se constatou diferenças significativas (Tukey, $p \leq 0,05$) entre os diferentes sistemas de manejo e na área do Cerrado. Foram encontrados 15 morfotipos identificados por meio da recuperação de esporos extraídos em solo coletado no campo e posterior observação de suas características morfológicas, 13 foram identificados a nível espécie e 2 em nível gênero e, finalmente estes dois últimos foram identificados a partir da recuperação de esporos em cultivo armadilha e com isto também foi corroborado a presença de algumas espécies já identificadas anteriormente pelos esporos extraídos diretamente das amostras provenientes das parcelas em campo.

A identificação dos esporos extraídos do solo proveniente do campo e do cultivo armadilha obtém-se maior eficiência no estudo da diversidade dos fungos micorrízicos arbusculares na caracterização morfológica dos esporos (BARTZ et al. 2008), uma vez que foram identificadas em sua totalidade as espécies presentes em forma de esporos nas diferentes áreas de estudo.

Dentre os esporos recuperados em campo e em cultivo armadilha foram encontradas as espécies: *Glomus macrocarpum*, *Claroideoglomus etunicatum*, *Paraglomus brasilianum*, *Diversispora tortuosa*, *Scutellospora cerradensis*, *Acaulospora scrobiculata*, *Acaulospora mellea*, *Acaulospora rehmi*, *Gigaspora sp.*,

Glomus microaggregatum, *Ambispora leptoticha*, *Dentiscutata heterogama*, *Glomus clavisporum*, *Rhizophagus fasciculatus* e *Acaulospora foveata*, sendo a espécie *P. brasilianum* e *D. heterogama* identificadas a partir da recuperação de esporos na cultura armadilha. Algumas espécies são apresentadas na Figura 5.4.

Com relação à distribuição das espécies nos diferentes sistemas de manejo avaliados e na área do Cerrado, 14 espécies foram encontradas na área de milho em sistema monocultivo e milho em consórcio com forrageiras (*P. maximum* cv. Aruana e *B. humidicola*), 13 espécies na área sob pastagem *U. humidicola*, 11 espécies na área sob pastagem *P. maximum* cv. Aruana e 10 espécies na área de Cerrado (Tabela 5.5).

Tabela 5.5 Ocorrência e riqueza de espécies de FMAs recuperadas em 50 mL de solo coletado na camada de 0-10 cm em diferentes sistemas de manejo: milho em sistema monocultivo (M); milho em consórcio com *P. maximum* cv. Aruana (MA); milho em consórcio com *U. humidicola* (MB); área sob pastagem *P. maximum* cv. Aruana (A); área sob pastagem *U. humidicola* (B) e área nativa de Cerrado (C). Em Latossolo Vermelho distrófico típico no Cerrado, DF.

Espécies	Sistemas de manejo do solo					
	M	MA	MB	A	B	C
<i>Glomus macrocarpum</i>	+	+	+	+	+	+
<i>Claroideoglomus etunicatum</i>	+	+	+	+	+	+
<i>Paraglomus brasilianum</i>	+	+	+	+	+	+
<i>Diversispora tortuosa</i>	+	+	+	+	+	+
<i>Scutellospora cerradensis</i>	+	+	+	+	+	+
<i>Acaulospora scrobiculata</i>	+	+	+	+	+	+
<i>Acaulospora mellea</i>	+	+	+	+	+	+
<i>Acaulospora rehmsii</i>	+	+	+	+	+	
<i>Gigaspora sp.</i>	+	+	+	+	+	+
<i>Glomus microaggregatum</i>	+	+	+	+	+	
<i>Ambispora Leptoticha</i>	+	+	+	+	+	+
<i>Dentiscutata heterogama</i>	+	+	+			+
<i>Glomus clavisporum</i>	+		+		+	
<i>Rhizophagus fasciculatus</i>	+	+	+			
<i>Acaulospora foveata</i>		+			+	
Riqueza de espécies	14	14	14	11	13	10

+ocorrência de espécies encontradas nos tratamentos a partir da média de repetições nas diferentes áreas sob diferentes sistemas de manejo e na área de Cerrado.

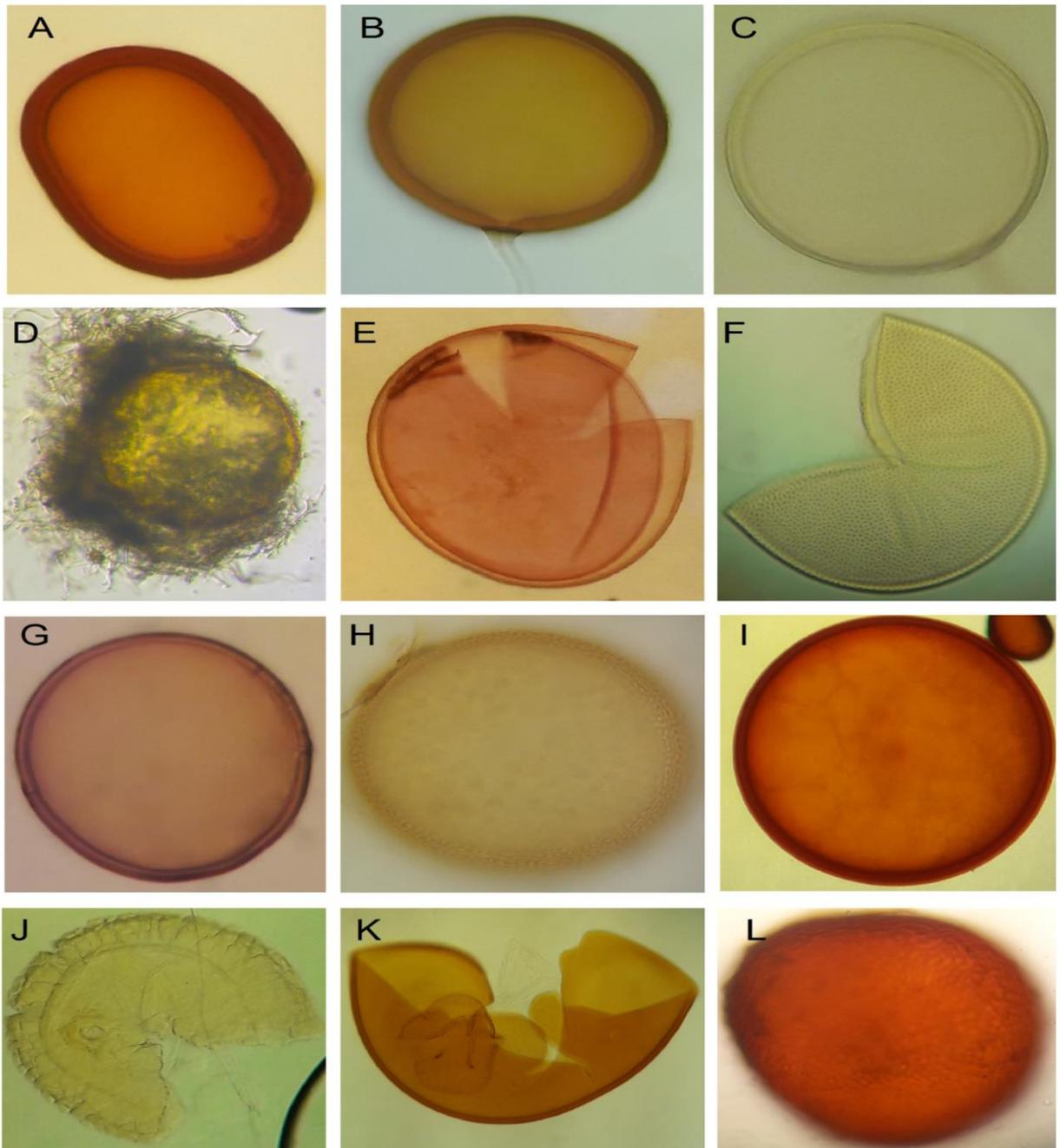


Figura 5.4 Esporos de fungos micorrízicos arbusculares identificados nas diferentes áreas de estudo: (A) *Glomus macrocarpum*; (B) *Claroideoglomus etunicatum*; (C) *Paraglomus brasilianum*; (D) *Diversispora tortuosa*; (E) *Scutellospora cerradensis*; (F) *Acaulospora scrobiculata*; (G) *Acaulospora mellea*; (H) *Acaulospora rehmi*; (I) *Gigaspora* sp.; (J) *Ambispora leptoticha*; (K) *Dentiscutata heterogama*; (L) *Acaulospora foveata*.

Apesar de não ter sido encontrada diferença na riqueza de espécies entre os as diferentes áreas de estudo, observa-se que a área de Cerrado apresentou a menor diversidade de espécies, isto atribuído a fatores edafoclimáticos, práticas agrícolas utilizadas, perturbações do solo como o revolvimento, mesmo em menor escala no caso do sistema plantio direto, promove o aumento da riqueza de espécies (MIRANDA & MIRANDA, 2007).

As espécies encontradas neste estudo já foram relatadas em alguns estudos em diversos sistemas de manejo do solo no Cerrado, observado em uma revisão de estudos relacionados a fungos micorrízicos arbusculares em diferentes usos do solo no Cerrado conduzido por Miranda et al. (2012).

Dentre os ecossistemas brasileiros, as espécies encontradas neste estudo são classificadas, de acordo a sua ocorrência, como generalistas (*A. scrobiculata*, *A. mellea*, *C. etunicatum*, *D. heterogama*, *R. fasciculatus* e *Amb. leptoticha*) intermediárias (*G. microaggregatum*, *Div. tortuosa*) e raras (*P. brasilianum*, *G. macrocarpum*, *S. cerradensis*, *A. rehmi*, *G. clavisporum*, *A. foveata*) (MOREIRA & SIQUEIRA, 2006).

Para o bioma Cerrado as espécies de maior ocorrência são *A. scrobiculata* e *P. brasilianum* sendo esta última classificada como uma das mais agressivas com a capacidade de contaminar facilmente áreas adjacentes e esporular em grandes quantidades (MIRANDA, 2012), fato que foi percebido durante a multiplicação dos esporos no cultivo de armadilha.

Foram recuperados esporos de 10 gêneros nos diferentes sistemas de manejo e na área do Cerrado, sendo os gêneros *Glomus*, *Claroideoglomus* e *Acaulospora* com maior ocorrência de esporos, (43,9; 21 e 10,9 % respectivamente) e os gêneros

com menor densidade foram: *Gigaspora*, *Dentiscutata*, *Ambispora* e *Rhizophagus* com média de 1; 0,3; 0,3 e 0,2 % do total dos esporos recuperados e identificados para este estudo (Figura 5.5).

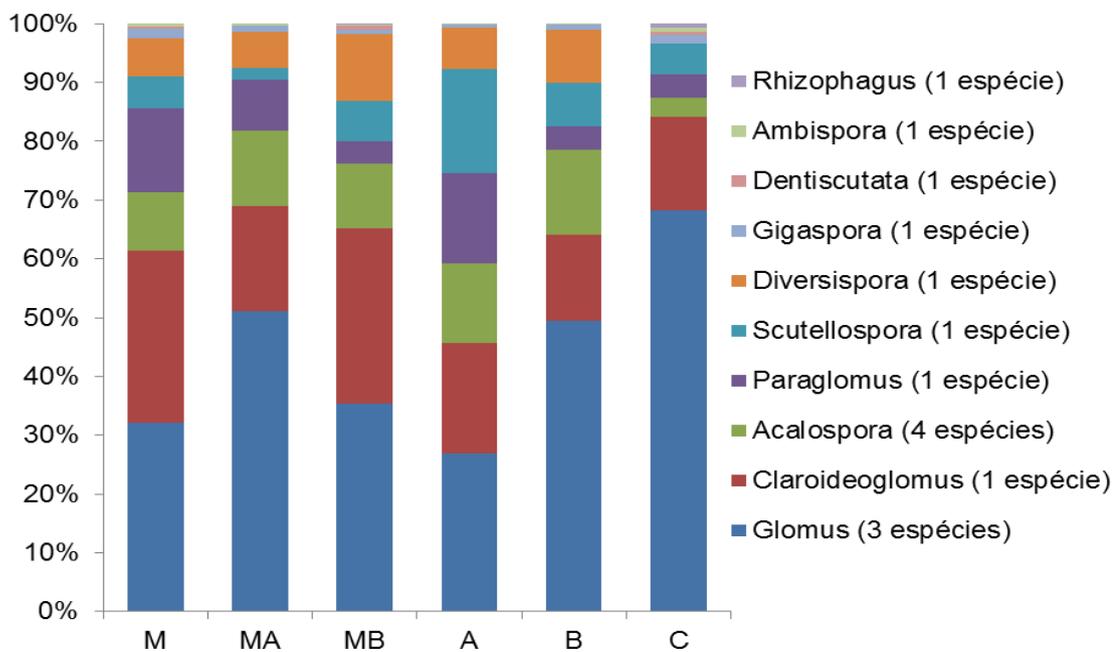


Figura 5.5 Frequência relativa (%) por gêneros de FMAs recuperados em 50 mL de solo coletado na camada de 0 - 10 cm em diferentes sistemas de manejo: milho em sistema monocultivo (M); milho em consórcio com *P. maximum* cv. Aruana (MA); milho em consórcio com *U. humidicola* (MB); área sob pastagem *P. maximum* cv. Aruana (A); área sob pastagem *U. humidicola* (B) e área nativa de Cerrado (C). Em solo Latossolo Vermelho distrófico típico no Cerrado, DF.

A maior frequência dos gêneros *Glomus*, *Claroideoglomus* e *Acaulospora* poderia ser influenciados pelo pH do solo, uma vez que estas são encontradas em maior frequência em solos ácidos (SUTUMER et al., 2006; SILVA et al., 2015), além de que os dois primeiros gêneros apresentam o maior número de espécies (JANUSZ BLASZKOWSKI, 2016) (ressaltando que este autor ainda mantém a espécie *Claroideoglomus etunicatum* dentro o gênero *Glomus*). As espécies de FMAs identificadas e a densidade de esporos por espécie recuperada nos diferentes sistemas de manejo e na área de Cerrado são apresentadas na Tabela 5.6.

Tabela 5.6 Densidade de esporos e densidade média de ocorrência de espécies de FMAs recuperadas em 50 mL de solo coletado na camada de 0 - 10 cm em diferentes sistemas de manejo: milho em sistema monocultivo (M); milho em consórcio com *P. maximum* cv. Aruana (MA); milho em consórcio com *U. humidicola* (MB); área sob pastagem *P. maximum* cv. Aruana (A); área sob pastagem *U. humidicola* (B) e área nativa de Cerrado (C). Em solo Latossolo Vermelho distrófico típico no Cerrado, DF.

Espécies	Sistemas de manejo						Média	Média (%)
	M	MA	MB	A	B	C		
<i>Glomus macrocarpum</i>	176.7	306.7	182	148	202.7	103	186.5	40.4
<i>Claroideoglomus etunicatum</i>	158	100.3	163	103.3	64.7	24	102.2	22.2
<i>Paraglomus brasilianum</i>	57.3	39.7	19.3	83.3	17.7	6	37.2	8.1
<i>Diversispora tortuosa</i>	33.3	33.7	69.7	36	41.3	1	35.8	7.8
<i>Scutellospora cerradensis</i>	28.3	10.3	37	93	30	8	34.4	7.5
<i>Acaulospora scrobiculata</i>	23	35.7	33.7	64.3	46.3	1	34.0	7.4
<i>Acaulospora mellea</i>	16.7	33	23.7	3	7.7	4	14.7	3.2
<i>Acaulospora rehmsii</i>	7	11.3	4.3	4.3	6.7	-	5.6	1.2
<i>Gigaspora</i> sp.	7.7	7	3.3	2.7	4	2	4.4	1.0
<i>Glomus microaggregatum</i>	3	3.7	2.7	2	5.3	-	2.8	0.6
<i>Ambispora leptoticha</i>	2.7	2	1.3	1	0.3	1	1.4	0.3
<i>Dentiscutata heterogama</i>	2.3	0.3	4.3	-	-	1	1.3	0.3
<i>Glomus clavisporum</i>	0.3	-	1.7	-	0.3	-	0.4	0.1
<i>Rhizophagus fasciculatus</i>	0.3	0.3	1.3	-	-	-	0.3	0.1
<i>Acaulospora foveata</i>	-	0.3	-	-	0.3	-	0.1	0.0
TOTAL	516.7	584.3	547.3	541	427.3	151	461.3	100.0

Observa-se que o aumento do número de espécies nos diferentes sistemas de manejo aumentou também o número de esporos no solo. Áreas sob sistemas integrados beneficiaram a comunidade micorrízica nos sistemas integrados geralmente as pastagens estimulam a produção dos esporos e as culturas aumentam o número de espécies, o qual tende a aumentar com o tempo de cultivo (MIRANDA et al., 2008).

Foram encontradas nove espécies presentes em todas as áreas de estudo e onze espécies presentes somente nas áreas sob diferentes sistemas de manejo. Miranda & Miranda (2007b) encontraram 11 espécies em áreas de milho em sistema plantio direto e no Cerrado encontraram apenas 8 espécies.

No levantamento feito por Ramos et al. (2012) também observaram que quando estabelecidas sistemas agrícolas (soja, milho em consórcio com pastagens e áreas sob pastagens), o número de espécies e a densidade de esporos aumentou em comparação com as mesmas áreas que se encontravam sob pousio (antes da implantação dos sistemas agrícolas). Estes autores observaram três espécies de maior ocorrência nas áreas de estudo: *S. cerradensis*, *Glomus* sp. e *Acaulospora* sp. Nessas áreas encontraram 13 espécies, observando que 5 delas coincidiram com as encontradas no presente estudo: *Scutellospora cerradensis*, *Ambispora leptoticha*, *Dentiscutata heterogama*, *Paraglomus brasilianum* e *Claroideoglomus etunicatum*. Com isto pode se afirmar que existem mais espécies presentes na área de estudo, mas em menores concentrações que não foram possíveis recuperar por meio desta técnica.

As espécies consideradas como raras para este estudo (média \leq 1% de ocorrência de esporos) são *Gigaspora* sp, *G. microaggregatum*, *Amb. leptoticha*, *D. heterogama*, *G. clavisorum*, *R. fasciculatus* e *A. foveata*.

Fatores como a época (período chuvoso e período seco) e profundidade de coleta poderiam ter influenciado na ocorrência destas espécies para este estudo já que alguma espécies já foram relacionadas a sua maior ocorrência em maiores profundidades variando de 0 a 45 cm em ecossistemas da Mata Atlântica (BONFIM, 2011), além de que as espécies da família Gigasporaceae (para as espécies: *Gigaspora* sp, e *D. heterogama* encontrados neste estudo) podem não ter apresentado maior número de esporos, já que estas espécies geram esporos de grande tamanho e em menor quantidade em contrario com as outras espécies encontradas neste estudo que produzem esporos em menor tamanho e maior quantidade (SOUZA et al., 2005).

As espécies com maior densidade de esporos (média $>$ 100 esporos/50mL) nos diferentes sistemas de manejo e na área do Cerrado são *Glomus macrocarpum* e *Claroideoglomus etunicatum*.

As alterações do solo e as espécies das plantas estabelecidas no sistema pode estimular a seleção de certas espécies de FMAs que resultam dominantes na área devido a sua grande capacidade de adaptação a distúrbios do solo (PURIN & KLAUBERG FILHO, 2010), estas espécies (*Glomus macrocarpum* e *Claroideoglomus etunicatum*), assim também como a *Acaulospora scrobiculata* são consideradas como generalistas para o bioma Cerrado devido a que apresentam alta capacidade de esporulação e alta adaptabilidade em solos agrícolas (CORDEIRO et al., 2005; FERREIRA et al., 2012). No entanto, para as outras

espécies de FMAs identificadas é difícil determinar a sua ocorrência nas diferentes áreas de estudo, podendo serem influenciados por fatores edáficos ou ambientais (STÜRMER & SIQUEIRA, 2008).

Para entender a dinâmica da riqueza dos FMAs a partir de esporos identificados nas diferentes áreas de estudo realizou-se uma análise de similaridade (Figura 5.6), sendo analisado em separado cada repetição das áreas de estudo. Com essa análise buscou-se compreender se os fatores estudados neste trabalho estão influenciando a dinâmica da comunidade de FMAs.

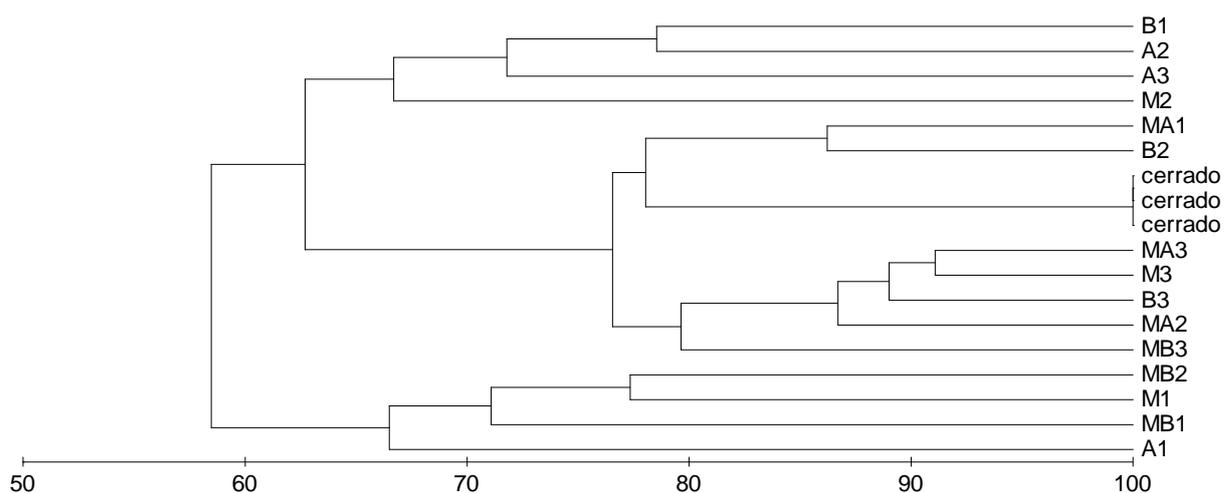


Figura 5.6 Dendrograma de similaridade da comunidade de FMAs a partir da avaliação morfológica dos esporos, construído com o índice de Bray-Curtis. Método de agrupamento UPGMA, mostrando os agrupamentos de diferentes sistemas de manejo em três repetições: milho em sistema monocultivo (M1, M2, M3); milho em consórcio com *P. maximum* cv. Aruana (MA1, MA2, MA3); milho em consórcio com *U. humidicola* (MB1, MB2, MB3); área sob pastagem *P. maximum* cv. Aruana (A1, A2, A3); área sob pastagem *U. humidicola* (B1, B2, B3) e área nativa de Cerrado (cerrado), em solo Latossolo Vermelho distrófico típico no Cerrado, DF.

Na análise de agrupamento houve a formação de 2 grupos distintos, com cerca de 60% de similaridade entre si. Em uma avaliação geral da análise de

agrupamento, é possível observar que os sistemas de manejo adotado, sejam eles: milho em sistema de plantio direto sob monocultivo, milho consorciado com pastagens e as áreas sob pastagens não foram os fatores governantes na distinção dos grupos, sendo as dissimilaridades pontuadas pelas unidades experimentais, em detrimento ao efeito de manejo. A exceção se observa apenas para a área de Cerrado, que formou um grupo com 100% de similaridade, porém associado a uma área de milho sob monocultivo e uma área de *U. humidicola*.

Variabilidade espacial da distribuição das espécies de FMAs, ainda refletindo um efeito predominante da distribuição espacial desses fungos anteriormente a introdução dos manejos agrícolas na área, em detrimento ao efeito da presença das diferentes espécies de plantas, pode ser uma das justificativas para o resultado obtido na análise de agrupamento. É possível também que a variação da ocorrência de espécies nas áreas de estudo esteja relacionada pelo modo de dispersão dos propágulos destes fungos, já que estes possuem hábito hipógeo, em que os esporos se encontram abaixo da superfície do solo, e dificultando assim a dispersão às áreas de um mesmo sistema de manejo (repetição) (LOVERA & CUENCA, 2007) e aos microambientes do solo relacionados a atributos que resultam a expressão das espécies de FMAs em forma de esporos (SOTI et al., 2016), principalmente em condições de estresse (MIRANDA, 2012).

5.4.2. Estrutura da diversidade de fungos micorrízicos arbusculares avaliada pela técnica de PCR-DGGE

Apesar de serem identificadas 15 espécies e a diversidade não ter diferido entre as áreas avaliadas, quando utilizadas técnicas morfológicas para identificação

dos fungos micorrízicos arbusculares, a diversidade real de FMAs pode ter sido subestimada, já que nem sempre a estrutura da comunidade micorrízica encontra-se em forma de esporos no momento da amostragem (BARTZ et al., 2008). Em complementação à informação obtida pela avaliação da diversidade de fungos micorrízicos arbusculares por meio da identificação morfológica de esporos recuperados do solo, buscou-se avaliar a estrutura da comunidade de FMAs adotando a técnica de PCR-DGGE (reação da polimerase em cadeia – eletroforese em gel com gradiente desnaturante).

Para isto foram utilizadas todas as áreas de estudo (milho em sistema de monocultivo, milho em consórcio com pastagens, áreas sob pastagens e área de Cerrado) com as suas respectivas repetições. Em estudos de ecologia de solo, as repetições do presente trabalho são consideradas como áreas de estudo, portanto, optou-se avaliar a estrutura de cada área (tratamentos e repetições).

Por meio da imagem gerada pelo gel foram observados os diferentes posicionamentos dos UTO's (unidades taxonômicas operacionais) e gerado um dendograma para a estimativa da similaridade entre as áreas de estudo. O resultado da avaliação da estrutura da diversidade de FMAs pelo método PCR-DGGE apresenta-se na figura (Figura 5.7).

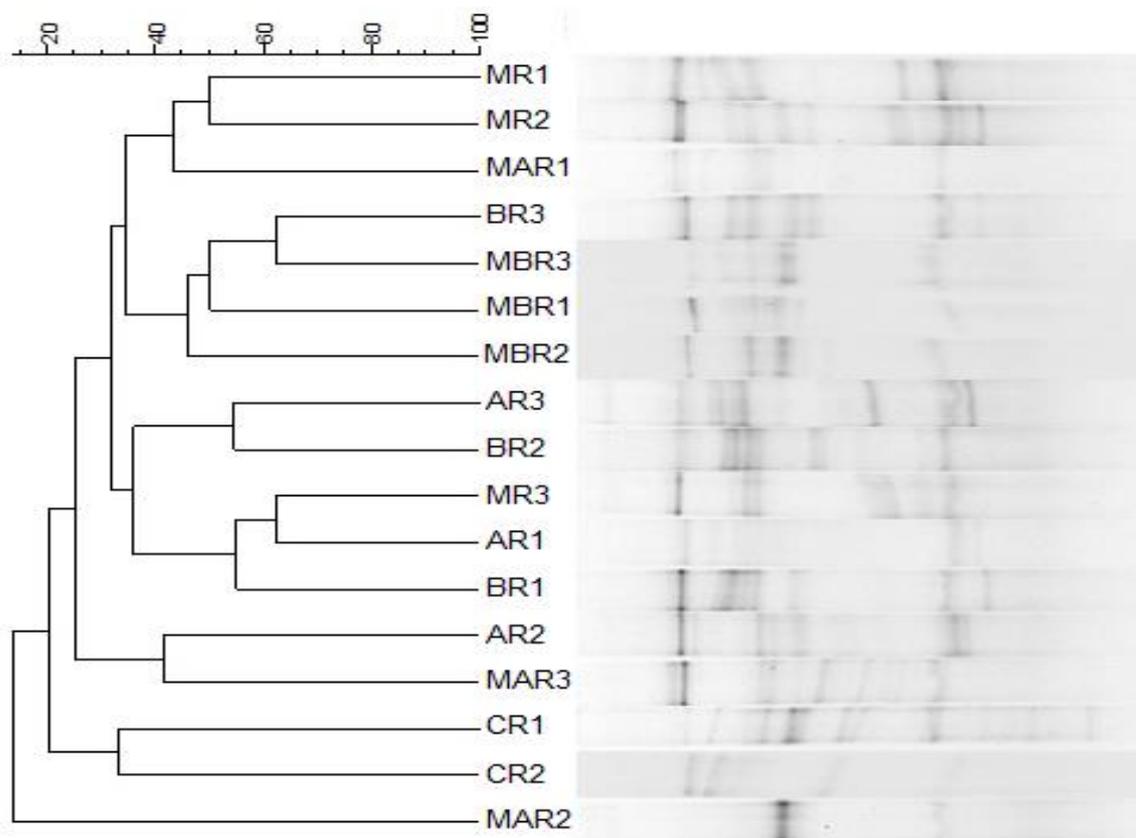


Figura 5.7 Dendrograma de similaridade genética da comunidade de FMAs construído com o índice de Jaccard. Método de agrupamento UPGMA, mostrando os agrupamentos de diferentes sistemas de manejo em três repetições: milho em sistema monocultivo (M1, M2, M3); milho em consórcio com *P. maximum* cv. Aruana (MA1, MA2, MA3); milho em consórcio com *U. humidicola* (MB1, MB2, MB3); área sob pastagem *P. maximum* cv. Aruana (A1, A2, A3); área sob pastagem *U. humidicola* (B1, B2, B3) e área nativa de Cerrado (CR1 e CR2), em solo Latossolo Vermelho distrófico típico no Cerrado, DF. Números indicam a repetição do experimento.

A avaliação da estrutura da comunidade de FMAs pela técnica de PCR-DGGE evidenciou uma tendência semelhante ao que foi observado pela avaliação da comunidade de FMAs por meio da diversidade morfológica de esporos recuperados pelo solo (Figura 5.6). Na análise de PCR-DGGE é possível observar que há uma grande dissimilaridade entre as repetições de cada uma das áreas de estudo, com apenas a formação de um grupo entre as repetições do mesmo tratamento (sistemas de manejo) com cerca de apenas 45% de similaridade verificada para as

três repetições do tratamento de milho em consórcio com *Urochloa humidicola* (MBR1, MBR2 e MBR3).

As áreas de estudo que apresentaram similaridade maior que 50% foram área sob pastagem *U. humidicola* repetição três com a área de milho em consórcio com *U. humidicola* repetição três e a área de milho em sistema de monocultivo repetição três com a área sob pastagem *P. maximum* cv. Aruana repetição um, evidenciando assim a grande dissimilaridade entre o conjunto das parcelas estudadas. A variabilidade da similaridade mesmo entre áreas sob mesmo sistema de manejo é resultado da variabilidade de morfotipos de FMAs encontrados com esta técnica de estudo. Observa-se que o número de bandas (táxons) para as diferentes áreas de estudo variou de 3 a 14 (Figura 5.8).

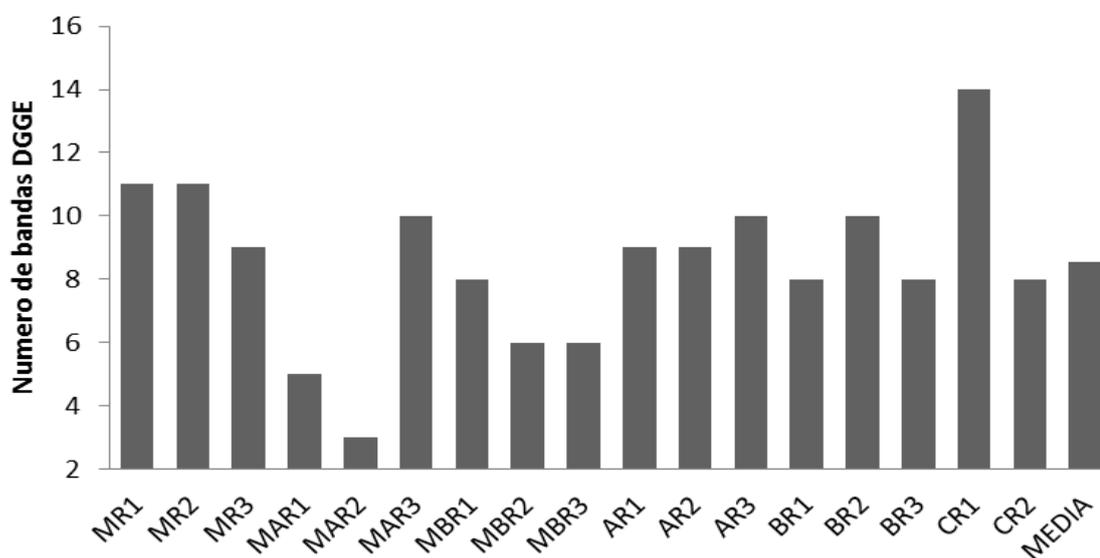


Figura 5.8 Número de bandas visualizados nos géis com gradiente desnaturante (DGGE) nos diferentes sistemas de manejo em três repetições: milho em sistema monocultivo (M1, M2, M3); milho em consórcio com *P. maximum* cv. Aruana (MA1, MA2, MA3); milho em consórcio com *U. humidicola* (MB1, MB2, MB3); área sob pastagem *P. maximum* cv. Aruana (A1, A2, A3); área sob pastagem *U. Humidicola* (B1, B2, B3) e área nativa de Cerrado (CR1 e CR2), em solo Latossolo Vermelho distrófico típico no Cerrado, DF.

A área de milho em consórcio com pastagem *P. maximum* repetição dois (MAR2) destacou-se das demais áreas por apresentar similaridade quase nula (<15%), pois esta área mostrou menor número de bandas obtidas no DGGE.

As áreas de Cerrado (CR1 e CR2) se diferenciaram das áreas sob diferentes sistemas de manejo apresentando similaridade de aproximadamente 20% e estas, quando comparadas entre si observa-se que apresentam pouca similaridade (30%), esperava-se encontrar similaridade maior, já que as amostras de solo foram coletadas no mesmo perímetro.

Na Tabela 5.5 é observado que em média a área de Cerrado apresentou a menor diversidade de espécies, quando avaliada pela técnica de identificação morfológica dos esporos de FMAs, no entanto, com a técnica de PCR-DGGE verificou-se que a área de Cerrado CR1 apresentou maior número de táxons de FMAs (14) em relação às outras áreas. Esse fato indica que há possibilidade da área de Cerrado apresente maior riqueza de espécies que não foram recuperadas em formas de esporos para a sua identificação pela técnica de descrição morfológica das espécies. Possivelmente, a identificação de maior número de táxons para a área de Cerrado seja atribuído ao maior número de espécies vegetais presentes na área, já que é relatado que em ecossistemas com maior diversidade de plantas, ocorre maior diversificação de FMAs (CARRENHO et al., 2010).

Comumente, para os agroecossistemas é discutido que práticas agrícolas aumentam a riqueza de espécies em comparação com as áreas preservadas (CORDEIRO et al., 2005; MIRANDA et al., 2007; FERREIRA et al., 2012) e outros autores afirmam que a comunidade de FMAs é afetada negativamente pela mudança das áreas preservadas a áreas agrícolas (ASSIS et al., 2014), ressaltando

que estes estudos estão baseados na caracterização morfológica a partir da recuperação dos esporos no solo.

Cabe ressaltar que a especificidade do *primer* AM1 não amplifica as sequencias de todas as espécies de FMAs, sendo que para esta análise foram amplificadas as sequencias das espécies dos ordens Glomerales e Diversisporales e não para Archaeosporales e Paraglomerales (MA et al., 2005). Assim, a comunidade de FMAs nas áreas de estudo foram subestimadas, já que foram identificadas espécies de FMAs pertencentes a estes ordens pela técnica morfológica a partir da recuperação dos esporos nas áreas de coleta.

Com os resultados obtidos nos perfis dos géis de DGGE observa-se que comunidade de fungos micorrízicos arbusculares não é influenciada simplesmente pelos sistemas de manejo do solo aqui apresentados. A dissimilaridade entre as diferentes áreas de estudo pode estar associados à variabilidade espacial das características químicas do solo (GOMIDE et al., 2014) e ao padrão de distribuição dos propágulos dos FMAs, assim também como às condições ambientais vigentes, tipo do solo, disponibilidade de nutrientes (LEKBERG & WALLER, 2016) e pela competição mesmo entre espécies de FMAs na planta hospedeira na área amostrada (BERBARA et al., 2006)

5.5 Relação entre atributos químicos e microbiológicos do solo com a ocorrência de fungos micorrízicos arbusculares em sistema de monocultivo de milho e em consorcio com forrageiras

As espécies de FMAs possivelmente possuem relações com determinados atributos do solo, apesar das áreas de estudo não terem apresentado diferenças na maioria dos atributos solo analisados (ver Tabelas 5.2 e 5.3). Para isto, também foi realizado uma análise de componentes principais (ACP) relacionando as variáveis ambientais (atributos químicos e microbiológicos) com as espécies de FMAs identificadas a partir da técnica morfológica, apresentado na Figura 5.9.

As variáveis ambientais explicaram 58,4% de variabilidade total das espécies de FMAs presentes nas áreas de estudo, dessa variabilidade 41,8% é explicada pela componente principal do eixo 1 e 16,6% é explicada pela componente principal do eixo 2.

Observa-se que a componente principal 1 separa a área de Cerrado das demais áreas sob manejo agrícola, em especial as áreas sob pastagens. As áreas de consórcio de milho com pastagens encontra-se próxima ao centro do gráfico, indicando que a comunidade de FMAs dessas áreas apresentaram uma abundância de indivíduos muito próximo da média de todas as áreas avaliadas.

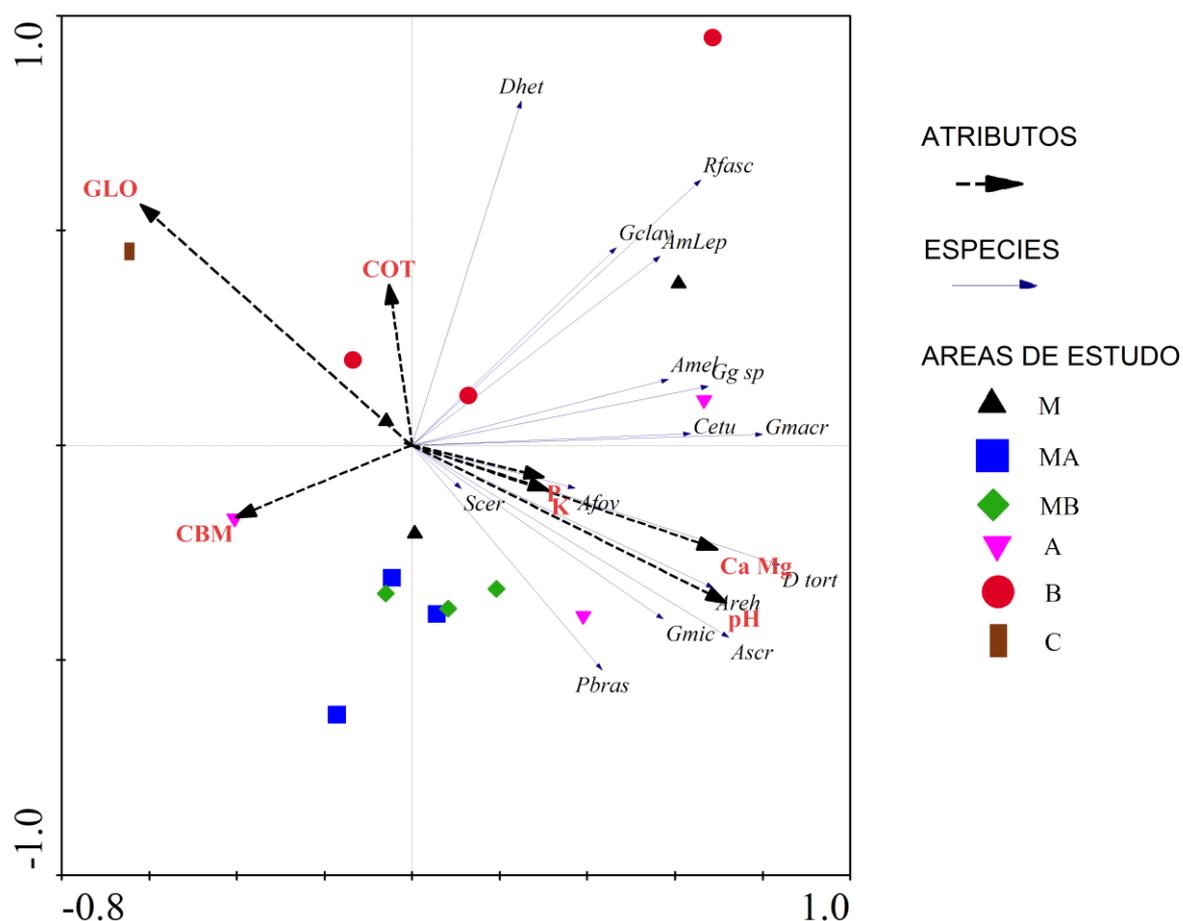


Figura 5.9 Relação de espécies de FMAs: *Glomus macrocarpum* (*Gmacr*); *Claroideoglossum etunicatum* (*Cetu*); *Paraglossum brasilianum* (*Pbras*); *Diversispora tortuosa* (*D tort*); *Scutellospora cerradensis* (*Scer*); *Acaulospora scrobiculata* (*Ascr*); *Acaulospora mellea* (*Amel*); *Acaulospora rehmi* (*Areh*); *Gigaspora sp.* (*Gg sp*); *Glomus microaggregatum* (*Gmic*); *Ambispora leptoticha* (*AmLep*); *Denticutata heterogama* (*Dhet*); *Glomus clavisporum* (*Gclav*); *Rhizophagus fasciculatus* (*Rfasc*) e *Acaulospora foveata* (*Afov*), atributos do solo e áreas de estudo da análise de componentes principais. Variáveis selecionadas: carbono orgânico total (COT); carbono da biomassa microbiana (CBM); proteína do solo relacionada à glomalina – facilmente extraível (GLO); Acidez trocável (ACID); fósforo (P); potássio (K); cátions (Ca Mg) e pH (pH) em diferentes sistemas de manejo: milho em sistema monocultivo (M); milho em consórcio com *P. maximum* cv. Aruana (MA); milho em consórcio com *U. humidicola* (MB); área sob pastagem *P. maximum* cv. Aruana (A); área sob pastagem *U. humidicola* (B) e área nativa de Cerrado (C). Em Latossolo Vermelho distrófico típico no Cerrado, DF.

É sabido que as práticas agrícolas, especialmente com a correção da acidez do solo por meio de calagem, a dinâmica e a riqueza de espécies é altamente

estimulada, sendo mais acentuado em sistemas agrícolas sob plantio direto (MIRANDA et al.,2007; SCHNEIDER et al., 2011).

No presente trabalho é observado que as espécies *G. microaggregatum*, *A. rehmi*, *A. scrobiculata* e *Div. tortuosa* tiveram maior ocorrência nas áreas que apresentaram os maiores valores de pH, sendo as duas primeiras ausentes unicamente na área de Cerrado (pH 4,4).

Silva et al. (2015) observaram em áreas agrícolas em Latossolo no sul do Brasil que o gênero *Glomus* teve correlação positiva em áreas que apresentam os maiores teores de pH variando de 5,7 (área de pastagem intensiva) a 6,6 (área pomar de laranja). Estes mesmos autores observaram que o gênero *Acaulospora* teve maior correlação em área com pH 5 (área sob pousio), já em áreas agrícolas com maiores valores de pH não encontraram correlações positivas. Stürmer e Bellei. (1994) observaram em solos de dunas que o gênero *Acaulospora* é frequentemente encontrado em pH menores a 6,2.

Fernandes et al. (2009) em um estudo sob diferentes sistemas de manejo do solo no Cerrado relacionou a ocorrência de FMAs com a implantação de áreas agrícolas e a diversidade de plantas hospedeiras cultivadas e os gêneros *Gigaspora*, *Scutellospora* e *Entrophospora* às condições de fertilidade do solo e os gêneros *Glomus* e *Acaulospora* predominaram em todas as áreas de estudo.

Quanto ao fósforo presente nos diferentes teores nas diferentes áreas de estudo, parece não ter influenciado a comunidade de FMAs. Segundo Oliveira et al. (2009) em um estudo da influência de fósforo em diferente níveis em milho com eficiências de absorção de P, concluiu que as plantas são as responsáveis para

estimular ou inibir o desenvolvimento de certas espécies de FMAs, pois esta libera sinais que são detectados pelo fungo.

A espécie *Acaulospora foveata*, lembrando que foi considerada como espécie rara devido a sua pouca ocorrência nas áreas de estudo, teve mais relação com o aumento de Ca+Mg. Fernandes (2011) também observou a pouca ocorrência dessa espécie em diferentes áreas agrícolas no Cerrado, sendo que esta esteve presente em áreas de cana de açúcar contendo $3,9 \text{ cmol}_c \text{ dm}^{-3}$ de Ca e Mg e, no presente estudo, esta espécie (*A. foveata*) foi encontrada nas áreas de milho em consórcio com *P. maximum* cv. Aruana e em área sob pastagem *U. humidicola* (Tabela 5.6) com valores de próximos de Ca+Mg aos encontrados por estes autores (ver Tabela 5.2).

Em um trabalho avaliando a estrutura da comunidade de FMAs em diferentes plantas de cobertura (crotalária, milheto, capim-sudão e lablab) Soti et al. (2016) observaram que estas plantas não influenciaram na diversidade de FMAs, mas a densidade de esporos foi influenciada na área de crotalária, estes autores correlacionam que a esporulação dos fungos foi influenciado pelos maiores valores de Mg (35 mg dm^{-3}) e B ($0,9 \text{ mg dm}^{-3}$) encontrados nessa área apresentando correlações de 0,96 e 0,92 respectivamente. Estes autores não encontraram correlação com os teores de matéria orgânica, nitrato e fósforo.

As espécies *D. heterogama*, *R. fasciculatus*, *G. clavisporum*, *Amb. leptoticha*, *A. mellea*, *Gig. sp.*, *C. etunicatum* e *G. macrocarpum* parecem não terem sido influenciados pelos atributos químicos e microbiológicos do solo.

A predominância dos gêneros *Glomus* e *Acaulospora* em áreas sob diferentes sistemas de manejo do solo foi observada por Fernandes (2011). O autor observou

que os gêneros *Glomus*, *Acaulospora*, *Gigaspora*, *Scutellospora* e *Entrophospora* ocorrem em diferentes áreas agrícolas, sob diferentes sistemas de manejo do solo no Cerrado, principalmente em áreas de rotação de culturas (ressaltando que a espécie *C. etunicatum* pertencia ao gênero *Glomus* nesses estudos).

FERREIRA et al. (2012) observaram que as famílias Acaulosporaceae, Glomeraceae e Gigasporaceae têm maior ocorrência tanto em sistemas naturais como em sistemas agrícolas. Estes autores observaram que as espécies *A. scrobiculata*, *G. macrocarpum* e *A. tuberculata* são dominantes independentemente da área de estudo. Como observado no presente trabalho as espécies *A. scrobiculata* e *G. macrocarpum* também ocorreram em todas as áreas de estudo, de igual forma foi observado que as espécies *C. etunicatum*, *Gig. sp.* e *A. mellea* não apresentaram muita variabilidade na abundância e na frequência quando as áreas de estudo foram convertidas em áreas agrícolas.

A presença das espécies em forma de esporos apresenta um parâmetro bastante variável, já que a esporulação das espécies de FMAs pode diferir em função do genótipo dos fungos, estágio fenológico das plantas e estresses tanto ambientais como culturais, por isso, são necessários estudos da dinâmica e ocorrência dos FMAs ao longo do ciclo de vida da cultura avaliada (CARRENHO et al., 2010).

6. CONCLUSÕES

A inclusão de pastagens *P. maximum* cv. Aruana e *U. humidicola* na cultura de milho não alterou significativamente a produtividade de grãos de milho.

Os sistemas de manejo avaliados promoveram para o solo resíduos vegetais em quantidade e qualidade susceptível a decomposição pela biomassa microbiana do solo, sendo mais acentuado nas áreas com presença da pastagem *P. maximum* cv. Aruana tornando-o similar à área do Cerrado com o cultivo contínuo.

A integração de pastagens na cultura de milho não alterou a colonização micorrízica.

A modificação da área de Cerrado a áreas agrícolas favoreceu a produção de esporos de FMAs.

O estudo da comunidade de FMAs pelo método de caracterização morfológica mostrou que a riqueza de espécies de FMAs é aumentada pelos sistemas de manejo agrícolas.

A técnica de PCR-DGGE revelou que a área de Cerrado apresenta maior número de táxons e que no momento da amostragem não são recuperadas em totalidade as espécies de FMAs em forma de esporos para identificação morfológica.

As espécies *G. macrocarpum* e *C. etunicatum* apresentaram frequência e ocorrência tanto na área de Cerrado como nas áreas sob diferentes sistemas de manejo agrícola, consideradas como espécies dominantes.

As espécies *G. microaggregatum*, *A. rehmsii*, *A. scrobiculata* e *Div. tortuosa* apresentaram maior ocorrência com o aumento do pH do solo.

As espécies *D. heterogama*, *P. brasilianum*, *R. fasciculatus*, *G. clavisporum*, *Amb. leptoticha*, *A. mellea*, *A. foveata*, *Gig. sp.*, *S. cerradensis*, *C. etunicatum* e *G. macrocarpum* não foram influenciadas pelos atributos do solo em áreas de Cerrado como nas áreas sob diferentes sistemas de manejo agrícola.

7. REFERENCIA BIBLIOGRAFICA

AMADO, T. J. C.; BAYER, C.; ELTZ, F. L. F.; BRUM, A. C. R. Potencial de culturas de cobertura em acumular carbono e citrogênio no solo no plantio direto e a melhoria da qualidade ambiental. **Revista Brasileira de Ciencia do Solo**, v. 25, n. 1, p. 189–197, 2001.

ANGELINI, G. A. R.; SAGGIN-JUNIOR, O. J.; BALIEIRO, F. C.; FRANCO, A. A. Manejo da palha da cana de açúcar altera os teores de glomalina de Latossolo Vermelho do Cerrado, em Dourados (MS). **XI semana científica - Johanana Dobereiner**:, p. 4, 2011.

ANGELINI, G. A. R.; LOSS, A.; PEREIRA, M. G.; TORRES, J. L. R.; JÚNIOR, O. J. S. Colonização micorrízica, densidade de esporos e diversidade de fungos micorrízicos arbusculares em solo de Cerrado sob plantio direto e convencional. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 33, n. 1, p. 115–130, 2012.

ANGHINONI, I. Fertilidade do solo e seu manejo em sistema plantio direto. In: NOVAIS, R. F.; ALVAREZ V., V. H.; BARROS, N. F.; FONTES, R. L. F.; CANTARUTTI, R. B.; NEVES, J. C. L. (Ed.). **Fertilidade do solo**. 1. ed. Viçosa, MG: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2007. p. 873–928.

ARAÚJO, R.; GOEDERT, W. J.; LACERDA, M. P. C. Qualidade de um solo sob diferentes usos e sob Cerrado ntivo. **Revista Brasileira de ciência do solo**, v. 31, p. 1099–1108, 2007.

ARAÚJO, A. F.; SOUSA, C. S.; LOPES, P. L.; PRADO, I. G. O.; MAMÉDIO, I. M. P.; SOARES, A. C. F. Diversidade de fungos micorrízicos arbusculares e teores de glomalina em cultivos de sisal (*Agave sisalana*) na região semi-árida da Bahia. In: **Congresso Brasileiro de Ciência Do Solo**, 33., 2011, Uberlândia. Anais... Uberlândia: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2011.

ASSIS, P. C. R.; SAGGIN-JUNIOR, O. J.; PAULINO, H. B.; STÜRMER, S. L.; SIQUEIRA, J. O.; CARNEIRO, M. A. C. FUNGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES EM CAMPOS DE MURUNDUS APÓS A CONVERSÃO PARA

SISTEMAS. **Revista Brasileira de ciência do solo**, v. 38, n. 1, p. 1703–1711, 2014.

BARTZ, M. L. C.; CARRENHO, R.; GOMES-DA-COSTA, S. M.; COLOZZI, A.; TORMENTA, C. A. Comparação entre as técnicas de amostragem direta em campo e cultura-armadilha para mensuração da diversidade de espécies de fungos micorrízicos arbusculares. **Hoehnea**, v. 35, n. 1, p. 159–164, 2008.

BELO, E. dos S.; TERRA, F. D.; ROTTA, L. R.; VILELA, L. A.; PAULINO, H. B.; SOUZA, E. D. da; VILELA, L. A. F.; CARNEIRO, A. M. C. Decomposição de diferentes resíduos orgânicos e efeito na atividade microbiana em um latossolo vermelho de cerrado. **Global science and technology**, v. 5, n. 3, p. 107–116, 2012.

BERBARA, R. L.; SOUZA, F.; FONSECA, H. M. A. C. Fungos Micorrízicos Arbusculares: Muito além da Nutrição. In: FERNANDES, M. S. (Ed.). **Nutrição mineral de plantas**. p. 85. 2006.

BONFIM, J. A. Diversidade de fungos micorrízicos arbusculares em áreas restauradas de Mata Atlântica. 2011. 92 p. Dissertação (Mestrado em solos e nutrição de plantas) - Universidade de São Paulo Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, 2011.

BORGHI, E.; CRUSCIOL, C. A. C. Produtividade de milho, espaçamento e modalidade de consorciação com *Brachiaria brizantha* em sistema plantio direto. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 42, n. 2, p. 163–171, 2007.

Bray, J. R. & J. T. Curtis. 1957. An ordination of the upland forest communities of southern Wisconsin. **Ecological Monographs**, v 27: 325-49.

CANTARELLA, H.; CORRÊA, L. A.; PRIMAVESI, O.; PRIMAVESI, A. C. 2002. Fertilidade do solo em sistemas intensivos de manejo de pastagens (p.99-131), In: Peixoto, A.M.; Moura, J.C.; Pedreira, C.G.S.; Faria, V.P. (eds) Inovações Tecnológicas no Manejo de Pastagens. Anais do 19º Simpósio sobre Manejo de Pastagens. Piracicaba: FEALQ. 231p.

CARMO, F. F. do; FIGUEIREDO, C. C. de; RAMOS, M. L. G.; VIVALDI, L. J.; ARAÚJO, L. G. Frações granulométricas da matéria orgânica em latossolo sob

plantio direto com gramíneas. **Bioscience Journal**, v. 28, n. 3, p. 420–431, 2012.

CARNEIRO, A. M. C.; ASSIS, P. C. R.; LIDIANNE, B. D. C. M.; PEREIRA, H. S.; PAULINO, H. B.; NETO, A. N. da S. Atributos bioquímicos em dois solos de Cerrado sob diferentes sistemas de manejo e uso. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 38, n. 4, p. 276–283, 2008.

CARRENHO, R.; GOMES DA COSTA, S. M.; BALOTA, E. L.; COLOZZI-FILHO, A. Fungos micorrízicos arbusculares em agroecossistemas Brasileiros. In: SIQUEIRA, J. O.; DE SOUZA, F. A.; ELKE, J. B.; TSAI, SIU MUI (Ed.). **Micorrizas: 30 anos de pesquisa no Brasil**. 7. ed. [s.l: s.n.].- Lavras: UFLA, 2010 p. 215–278.

CECCON, G. **Milho Safrinha com Braquiária em Consórcio**. Dourados, MS: Embrapa Agropecuária Oeste, 2008. 7p. (Embrapa Agropecuária Oeste. Comunicado Técnico, 140).

CECCON, G. Modalidades e Métodos de Implantação de Consórcio Milho-Braquiária. In: CECCON, G.; BORGHI, É.; CRUSCIOL, C. A. C. (Ed.). **Consórcio Milho-Braquiária**. 1. ed. Brasília, DF: Embrapa Agropecuária Oeste, 2013. p. 25–46.

COLOZZI-FILHO, A.; BALOTA, E. Micorrizas Arbusculares. In: HUNGRIA, M.; ARAUJO, R. S. (Ed.). **Manual de métodos empregados em estudos de microbiologia agrícola**. [s.l: s.n.]. 1994. p. 383–418.

CORDEIRO, L. A. M.; VILELA, L.; MARCHÃO, R. L.; KLUTHCOUSKI, J.; GERALDO B. M. J. Integração Lavoura-Pecuária E Integração Lavoura-Pecuária-Floresta: Estratégias para intensificação sustentável do uso do solo. **Cadernos de Ciência & Tecnologia**, v. 32, p. 15–43, 2015.

CORDEIRO, M. A. S.; CARNEIRO, M. A. C.; PAULINO, H. B.; SAGGIN-JÚNIOR, O. J. Colonização e densidade de esporos de fungos micorrízicos em dois solos do cerrado sob diferentes sistemas de manejo. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 35, n. 3, p. 147–153, 2005.

COSER, T. R.; FIGUEIREDO, C. C. De; RAMOS, M. L. G.; JANNUZZI, H.;

MARCHÃO, R. L. Recuperação de carbono obtida por três métodos em frações da matéria orgânica de Latossolo, sob consórcio milho-forrageiras, no Cerrado. **Bioscience Journal**, v. 28, p. 91–97, 2012.

COSER, T. R. **Eficiência do uso de nitrogênio e propriedades do solo em milho sob sistemas de monocultura e consorciado com forrageiras**. 2013. 133p. Tese (Doutor em Agronomia) - Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, Brasília, 2013.

COSTA, N. D. L.; PAULINO, V. T.; COSTA, R. S. C. Da; PEREIRA, R. G. D. A.; TOWNSEND, C. R.; MAGALHÃES, J. A. Efeito de micorrizas arbusculares sobre o crescimento e nutrição mineral de *Brachiaria rizantha* CV. Marandu. **Ciencia Animal Brasileira**, v. 13, n. 4, p. 406–411, 2012.

CRUSCIOL, C. A. C.; PERES SORATTO, R.; BORGHI, É.; MATEUS, G. P. Integração lavoura-pecuária: benefícios das gramíneas perenes nos sistemas de produção. **International Plant Nutrition Institute-Brasil**, p. 02–15, 2009.

D'ANDRÉA, A. F.; SILVA, M. L. N.; CURI, N.; SIQUEIRA, J. O.; CARNEIRO, M. A. C. Atributos biológicos indicadores da qualidade do solo em sistemas de manejo na região do cerrado no sul do estado de Goiás. **Revista Brasileira de Ciencia do Solo**, v. 26, p. 913–923, 2002.

DA SILVA, R. F. .; DE MARCO, R. .; BERTOLLO, G. M. .; MATSOUKA, M. .; MENEGOL, D. R. . The influence of soil use on the occurrence and diversity of AMFs in a oxisol from Southern Brazil. **Semina:Ciencias Agrarias**, v. 36, n. 3, p. 1851–1862, 2015.

DE NOVAIS, C. B.; DE SOUZA, F. A.; SIQUEIRA, J. O. Caracterização fenotípica e molecular de esporos de fungos micorrízicos arbusculares mantidos em banco de germoplasma. **Pesquisa Agropecuaria Brasileira**, v. 45, n. 8, p. 886–896, 2010.

DORAN, J. W., PARKIN, T. U. Defining and assessing soil quality. In: DORAN, J.W., COLEMAN, D. C., BEZDICEK, D. F., STEWARD, U. A(eds.).Defining soil quality for a sustainable environment. Madison: SSSA. American Society of Agronomy,1994, p. 3-21(Spec.Public,35).

DUARTE, A. P.; KIEHL, J. D. C.; DE CAMARGO, M. A. F.; RECO, P. C. Acumulo de materia seca e nutrientes em cultivares de milho originárias de Clima Tropical E Introduzidas De Clima Temperado. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v. 2, n. 3, p. 1–20, 2003.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de solos. **Manual de métodos de análise do solo**. 2. ed. 1997.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de solos. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. 2. ed. 2006.

FERNANDES, S. G. **Fertilidade do solo e atividade micorrízica em áreas de agricultores familiares no norte de Minas Gerais**. 2011. Universidade Federal de Minas Gerais, 2011.

FERNANDES, S. G.; MACHADO, C. T. de T.; CORREIA, J. A. Fertilidade dos solos em propriedades familiares na comunidade Água Boa 2 em Rio Pardo de Minas (MG): Relação com o Manejo e Práticas Agroecológicas. **Revista Brasileira de Agroecologia**, v. 4, n. 2, p. 1066–1070, 2009

FERREIRA, D. F. **SISVAR** (versão 5.6): um programa para análises e ensino de estatística. *Revista Symposium (Lavras)*, v. 6, p. 36-41, 2010.

FERREIRA, D. A.; CARNEIRO, M. A. C.; SAGGIN-JUNIOR, O. J. Fungos micorrízicos arbusculares em um latossolo vermelho sob manejos e usos no Cerrado. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 36, n. 1, p. 51–61, 2012.

GARCIA, C. M. de P.; ANDREOTTI, M.; TEIXEIRA FILHO, M. C. M.; BUZETTI, S.; CELESTRINO, T. de S.; LOPES, K. S. M. Desempenho agrônomo da cultura do milho e espécies forrageiras em sistema de Integração Lavoura-Pecuária no Cerrado. **Ciência Rural**, v. 43, n. 4, p. 589–595, abr. 2013.

GASPAROTTO, F. A. NAVARRETE, A. A.; SOUZA, F. A.; TSAI, S. M. Técnicas moleculares aplicadas ao estudo das micorrizas. In: SIQUEIRA, J. O.; DE SOUZA, F.

A.; CARDOSO, E. J. B. N.; TSAI, S. MUI (Ed.). **Micorrizas: 30 anos de pesquisa no Brasil**. [s.l: s.n.].- Lavras: UFLA, 2010p. 551–582.

GERDEMANN, J. W.; NICOLSON, T. H. spores of mycorrhizal endogone species extracted from soil by wet sieving and decanting. **Transactions of the British Mycological society London**, v. 46, p. 234–244, 1963.

GIONVANETTI, M.; MOSSE, B. An evaluation of techniques to measuring vesicular arbuscular mycorrhizal infections in roots. **New Phytologist**, v. 84, p. 489–500, 1980.

GOMES, E. A.; SOARES, F. A. O.; LANA, U. G. D. P.; SOUZA, F. A. De. Caracterização Molecular de Fungos Micorrízicos Arbusculares Associados a Genótipos de Milho Contrastantes para Eficiência no Uso de Fósforo. **Anais...FertBio**, 6p., 2010.

GOMIDE, P. H. O.; SILVA, M. L. N.; SOARES, C. R. F. S.; CARDOSO, E. L.; CARVALHO, F.; LEAL, P. L.; MARQUES, R. M.; STÜRMER, S. L. Fungos micorrízicos arbusculares em fitofisionomias do Pantanal da Nhecolândia, Mato Grosso do Sul. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 38, n. 4, p. 1114–1127, ago. 2014.

HOFFMANN, L. V.; LUCENA, V. S. **Para entender micorrizas arbusculares**. Campina Grande, PB: Embrapa Algodão, 2006. 24p. (Embrapa Algodão. Documentos, 156).

HOOGLAND, D. C.; ARNON, D. I. The water culture method of growing plants without soil. **Circular. California Agricultural Experiment Station**, v. 347, n. 2, p. 32, 1950.

INVAM. **International Culture Collection of Arbuscular and Vesicular-Arbuscular Mycorrhizal Fungi**. Disponível em: <<http://invam.wvu.edu/>>. Acesso em: 1 jan. 2016.

JANUSZ BLASZKOWSKI. **Arbuscular mycorrhizal fungi (Glomeromycota), Endogone and Complexipes species deposited in the Department of Plant**

Pathology, University of Agriculture in Szczecin, Poland. <Disponível em: <http://www.zor.zut.edu.pl/Glomeromycota/index.html>> Acesso em: 15 jun. 2016.

JÚNIOR, M.; VILELA, L. Pastagens no Cerrado: Baixa Produtividade pelo Pastagens no Cerrado : **Embrapa Cerrados**, p. 30, 2002.

KARLEN, D. L. ; MAUSBACH, M. J. ; DORAN, J. W. ; CLINE, R. G. ; HARRIS, R. F. ; SCHUMAN, G. E. Soil quality: a concept, definition, and framework for evaluation. **Soil Science Society American Journal**, v. 61, p. 4–10, 1997.

KLUTHCOUSKI, J.; COBUCCI, T.; AIDAR, H.; YOKOYAMA, L. P.; OLIVEIRA, I. P. de; COSTA, J. L. da S.; SILVA, J. G. da; VILELA, L.; BARCELLOS, A. de O.; MAGNABOSCO, C. U. **Sistema Santa Fé-Tecnologia Embrapa: integração lavoura-pecuária pelo consórcio de culturas anuais com forrageiras, em áreas de lavoura, nos sistemas direto e convencional.** Santo Antonio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2000. 28p. - (**Circular Técnica**, 38).

LEKBERG, Y.; WALLER, L. P. What drives differences in arbuscular mycorrhizal fungal communities among plant species? **Fungal Ecology**, v. xxx, p. 1–4, 2016.

LEPŠ, J.; ŠMILAUER, P. **Multivariate analysis of ecological data using CANOCO.** Cambridge: Cambridge University Press, 2003. 269p.

LIANG, Z.; LEE, D. J.; HARRIS, S. D. A DGGE-cloning method to characterize arbuscular mycorrhizal community structure in soil. **Soil Biology and Biochemistry**, p. 13, 2008.

LOVELOCK, C. E.; WRIGHT, S. F.; CLARK, D. A.; RUESS, R. W. Soil stocks of glomalin produced by arbuscular mycorrhizal fungal across a tropical rain forest landscape. **Journal of Ecology**, v. 92, n. 2, p. 278- 287, 2004.

LOVERA, M.; CUENCA, G. Diversidad de hongos micorrízicos arbusculares (HMA) y potencial micorrízico del suelo de una sabana natural y una sabana perturbada de la gran sabana, Venezuela. **Interciência, Caracas**, v. 32, p. 108-114, 2007.

MA. W. K. ; SICILIANO, S. D. GERMIDA, J. J. A PCR-DGGE method for detecting arbuscular mycorrhizal fungi in cultivated soils. *Soil Biology & Chemistry*, v 37, p. 1589-1597, 2005.

MATEUS, G. P.; SANTOS, N. C. B. Sistema plantio direto e a conservação dos recursos naturais. **Pesquisa & Tecnologia**, v. 9, n. 2, p. 5, 2012.

MATOSO, A. D. O.; SORATTO, R. P.; CECCON, G.; FIGUEIREDO, P. G.; NETO, A. L. N. Desempenho agrônomo de feijão-caupi e milho semeados em faixas na safrinha. **Pesquisa Agropecuaria Brasileira**, v. 48, n. 7, p. 722–730, 2013.

MELLO, L. M. M.; YANO, E. H.; NARIMATSU, K. C. P.; TAKAHASHI, C. M.; BORGHI, E. Integração Agricultura-Pecuária em Plantio Direto: Produção de forragem e resíduo de palha após pastejo. **Eng. Agric.**, v. 24, n. 1, p. 121–129, 2004.

MENDONÇA, V. Z.; MELLO, L. M. M.; ANDREOTTI, M.; PARIZ, C. M.; YANO, L. H.; PEREIRA, F. C. B. L. P. Liberação de nutrientes da palhada de forrageiras consorciadas com milho e sucessão com soja. **Revista Brasileira de Ciencia do Solo**, v. 39, n. 1, p. 183–193, 2015.

MERGULHÃO, A. C. E. S.; DA SILVA, M. V.; PEREIRA, C. C.; FIGUEIREDO, M. V. B.; BASTOS DA SILVA, M. L. R.; MAIA, L. C. Caracterização morfológica e molecular de fungos micorrízicos arbusculares isolados de áreas de mineração de gesso, Araripina, PE, Brasil. **Hoehnea**, v. 41, n. 3, p. 393–400, 2014.

MINISTERIO DE AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO - MAPA. **Plantio direto**. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/desenvolvimento-sustentavel/plantio-direto>>. Acesso em: 15 jun. 2016.

MIRANDA, J. C. C. de. **Cerrado micorríza arbuscular-ocorrência e manejo**. Embrapa 2012. 2. ed. 174p.

MIRANDA, J. C. C. DE; MIRANDA, L. N. **Contribuição da micorriza arbuscular para a produtividade e sustentabilidade nos sistemas de produção com plantio direto no cerrado**. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2007a. (Embrapa Cerrados.

Comunicado técnico, 134).

MIRANDA, J. C. C.; MIRANDA, L. N. **Impacto do sistema de plantio direto na diversidade de espécies de fungos micorrízicos arbusculares nativos em solo de cerrado**. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2007b. (Embrapa Cerrados. Comunicado técnico, 135).

MIRANDA, J. C. C.; VILELA, L.; MIRANDA, L. N.. **Manejo da Micorriza Arbuscular em Sistemas Integrados de Lavoura e Pastagens no Cerrado**. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2008. (Embrapa Cerrados. Comunicado técnico, 138).

MIRANDA, J. C. de C.; VILELA, L.; MIRANDA, L. N. de. Dinâmica e contribuição da micorriza arbuscular em sistemas de produção com rotação de culturas. **Pesquisa Agropecuaria Brasileira**, v. 40, n. 10, p. 1005–1014, 2005.

MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e Bioquímica do Solo**. 2. ed. [s.l: s.n.].- 2006. p. 543–661.

MULETA, D.; ASSEFA, F.; NEMOMISSA, S.; GRANHALL, U. Distribution of arbuscular mycorrhizal fungi spores in soils of smallholder agroforestry and monocultural coffee systems in southwestern Ethiopia. **Biology & Fertility of Soils**, v. 44, p. 653- 659, 2008.

NICHOLS, K. A.; WRIGHT, S. F. Carbon and nitrogen in operationally defined soil organic matter pools. *Biology & Fertility of Soils*, Germany, v. 43, n. 2, p. 215-220, 2006.

NOVAIS, C. B. de; SIQUEIRA, J. O. Aplicação de formononetina na colonização e esporulação de fungos micorrízicos em braquiária. **Pesquisa agropecuaria Brasileira**, v. 44, n. 5, p. 496–502, 2009.

OLIVEIRA, C. A.; SÁ, N. M. H.; GOMES, E. A.; MARRIEL, I. E.; SCOTTI, M. R.; GUIMARÃES, C. T.; SCHAFFERT, R. E.; ALVES, V. M. C. Assessment of the mycorrhizal community in the rhizosphere of maize (*Zea mays* L.) genotypes contrasting for phosphorus efficiency in the acid savannas of Brazil using denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE). **Applied Soil Ecology**, v. 41, n. 3, p. 249–258,

2009.

PEREZ, K. S. S.; RAMOS, M. L. G.; MCMANUS, C. Carbono da biomassa microbiana em solo cultivado com soja sob diferentes sistemas de manejo nos Cerrados. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 39, n. 6, p. 567–573, jun. 2004.

PHILLIPS, J. M.; HAYMAN, D. S. Improved procedures for cleaning roots and staining parasitic and vesicular arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. **Transactions of the British Mycological society London**, v. 55, p. 458–161, 1970.

POWLSON, D. S.; BROOKES, P. C.; CHRISTENSEN, U. T. Measurement of soil microbial biomass provides an early indications of changes in total organic matter due to straw incorporation. **Soil biology and biochemistry**, v. 19, p. 159-164, 1987.

PURIN, S.; FILHO, O. K.; STÜRMER, S. L. Mycorrhizae activity and diversity in conventional and organic apple orchards from Brazil. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 38, n. 7, p. 1831–1839, 2006.

PURIN, S.; KLAUBERG FILHO, O. Glomalina: nova abordagem para entendermos a biologia dos fungos micorrízicos arbusculares. In: SIQUEIRA, J. O.; DE SOUZA, F. A.; ELKE, J. B. N.; TSAI, SIU MUI (Ed.). **Micorrizas: 30 anos de pesquisa no Brasil**. [s.l: s.n.] .- Lavras: UFLA, 2010, p. 503–524.

RAMBO, J. R.; GOUVEIA, R. G. L. de; BEN, A. K. de A. N.; BAYER, C.; TOMAZI, M. Atributos Microbiológicos do Solo sob Distintos Sistemas de Manejo de Fertilidade. **Cadernos de Agroecologia**, v. 9, n. 4, p. 1–12, 2014.

RAMOS, L. M. G.; KONRAD, M. L. D. F.; SILVA, D. E.; RIBEIRO JÚNIOR, W. Q.; BATISTA, L. M. T. Diversidade de fungos micorrízicos e colonização radicular, em forrageiras solteiras e em consórcio com milho. **Bioscience Journal**, v. 28, n. 2, p. 235–244, 2012.

REDECKER, D.; SCHÜSSLE, A.; STOCKINGGER, H.; STÜRMER, S. L.; MORTON, J. B.; WALKER, C. An evidence-based consensus for the classification of arbuscular mycorrhizal fungi (Glomeromycota). **Mycorrhiza**, v. 23, p. 515–531, 2013.

RILLIG, M. C.; RAMSEY, P.; MORRIS, S.; PAUL, E. Glomalin, an arbuscular-mycorrhizal fungal soil protein, responds to soil-use change. **Plant and Soil, The Hague**, v. 253, n. 2, p. 293-299, 2003.

SAGGIN-JUNIOR, O. J.; BORGES, W. L.; NOVAIS, C. B.; SILVA, E. M. R. **Manual de curadores de germoplasma – micro-organismos: fungos micorrízicos arbusculares**. Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2011. 23p. (Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. – (Documentos / Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 334; Documentos / Embrapa Agrobiologia, 290; Documentos / Embrapa Amapá, 76).

SALLES, JOANA FALCÃO; SOUZA, F. A. **Revisões em micorriza I: técnicas moleculares aplicadas ao estudo dos fungos micorrízicos arbusculares**. Seropédica, RJ.: Embrapa Agrobiologia, 1998. 27p. (Embrapa-CNPAB. Série Documentos, 68).

SALTON, J. C.; TOMAZI, M. **Sistema Radicular de Plantas e Qualidade do Solo**. Dourados, MS.: Embrapa Agropecuária Oeste, 2014. 6p. (Comunicado Técnico 198).

SANTOS, F. L.; PAULINO, H. B.; CARNEIRO, M. A. C.; CAETANO, J. O.; BENITES, V. de M.; SOUZA, E. D.. Atributos bioquímicos do solo sob diferentes sistemas de produção no sudoeste Goiano. **Global science and technology**, v. 8, n. 2, p. 74–86, 2015.

SATO, J. H.; FIGUEIREDO, C. C. De; LEÃO, T. P.; RAMOS, M. L. G.; KATO, E. Matéria orgânica e infiltração da água em solo sob consórcio milho e forrageiras. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 16, n. 2, p. 189–193, 2012.

SCHNEIDER, J.; KLAUBERG FILHO, O.; FONTOURA, S. M. V.; ALVES, M. V. Influência de diferentes sistemas de manejo e calagem em experimeno de longa duração sobre fungos micorizicos arbusculares. **Ciência Agrotecnica**, v. 35, n. 4, p. 701–709, 2011.

SILVA, C. F. da; ARAÚJO, J. L. S. de; SILVA, E. M. R. Da; PEREIRA, M. G.;

FREITAS, M. S. M. de; JUNIOR, O. J. S.; MARTINS, M. A. Fungos micorrízicos arbusculares e proteína do solo relacionada à glomalina em área degradada por extração de argila e revegetada com eucalipto e acácia. **Ciência Florestal**, v. 22, n. 4, p. 749–761, 2012.

SILVA, E. T.; CUNHA, J. L. X. L.; MADALENA, J. A. S.; SILVA, J. A. C.; SILVA, W. T.. production of the maize (*Zea mays* L .) in trusts with grassy. **Revista Caatinga**, v. 21, n. 4, p. 29–34, 2008.

SILVA, M. B. da; KLIEMANN, H. J.; SILVEIRA, P. M. da; LANNA, A. C. Soil biological attributes influenced by cover crops and management sustems. **Pesquisa Agropecuaria Brasileira**, v. 42, n. 12, p. 1755–1761, 2007.

SILVA, D. V.; PEREIRA, G. A. M.; FREITAS, M. A.; SILVA, A. A.; SEDIYAMA, T.; SILVA, G. S.; FERREIRA, L. R.; CECON, P. R. Nutritional efficiency of maize in intercropping with signalgrass. **Ciência Rural**, v. 45, n.8, p. 1394–1400, 2015.

SOTI, P. G.; RUGG, S.; RACELIS, A. Potential of Cover Crops in Promoting Mycorrhizal Diversity and Soil Quality in Organic Farms. **Journal of Agricultural Science**, v. 8, n. 8, p. 42–47, 2016.

SOUSA, C. S.; MENEZES, R. S. C.; SAMPAIO, E. V. de S. B.; LIMA, F. S. Glomalina: características, produção, limitações e contribuição nos solos. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 33, n. 1, p. 3033–3044, 2012.

SOUZA, F.A.; DALPE, Y.; de la PROVIDENCIA, I; SESALON-DELMAS, N.; DECLERCK, S. Life history strategies in Gigasporaceae: insight from root organ culture. In: DECLERCK, S.; STRULLU, DÉSIÉ-GEORGES; FORTIN, J. ANDRÉ. (Org.). **In Vitro Culture of Mycorrhizas**. 1 Ed. Springer-Verlag: Heidelberg: Springer-Verlag, v. 4, p. 73-91, 2005.

SOUZA, F. A. DE; DA SILVA, I. C. L.; BERBARA, R. L. L. Fungos micorrízicos arbusculares : muito mais diversos do que se imaginava. In: MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. (Ed.). **Biodiversidade do solo em ecossistemas Brasileiros**. [s.l: s.n.].- 2008. p. 501–556.

SOUZA, F. A. DE; STÜRMER, S. L.; CARRENHO, R.; TRUFLEN, s. f. t. Classificação e taxonomia de Fungos Micorrízicos Arbusculares e sua Diversidade e ocorrência no Brasil. In: SIQUEIRA, J. O.; SOUSA, F. A. D. S.; CARDOSO, ELKE J. B. N.; SIU MUI TSAI (Ed.). **Micorrizas: 30 anos de pesquisa no Brasil**. [s.l: s.n.] - Lavras: UFLA, 2010p. 15–74.

STÜRMER, S. L.; BELLEI, M. M. Composition and seasonal variation of spore populations of arbuscular mycorrhizal fungi in dune soils on the Island of Santa Catarina, Brazil. *Canadian Journal of Botany*, v. 72, n. 3, p.359-363, 1994.

STÜRMER, S. L.; SIQUEIRA, J. O. Diversidade de fungos micorrízicos Arbusculares em ecossistemas Brasileiros. In: MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. (Ed.). **Biodiversidade do solo em ecossistemas Brasileiros**. 1. ed. [s.l: s.n.]- 2008. p. 537–584.

STÜRMER, S.L.; KLAUBERG FILHO, O.; QUEIROZ, M.H.D.; MENDONÇA, M.M.D. **Occurrence of arbuscular mycorrhizal fungi in soils of early stages of a secondary succession of Atlantic Forest in South Brazil**. *Acta Botânica Brasílica*, Feira de Santana, v. 20, p. 513-521, 2006.

TER BRAAK, C. J. F.; SMILAUER, P. Canoco. **Reference manual and user's guide to Canoco for windows: software for Canonical Community Ordination (Version 4)**. Microcomputer Power, Ithaca, NY, 1998.

VANCE, E. D.; BROOKES, P. C.; JENKINSON, D. S. An extraction method for measuring soil microbial biomass. *Soil Biol. Biochemic*, v. 1, p. 703–707, 1987.

WALKLEY, A.; BLACK, I. A. An examination of the Degtjareff method for determining soil organic matter and a proposed modification of the chromic acid titration method. *Soil Science*, v. 37, p. 29–38, 1934.

WARDLE, D. A. Metodologia para quantificação d biomassa microbiana do solo. In: HUNGRIA. M.; ARAUJO, R. S. (Eds.). **Manual de métodos empregados em estudos de microbiologia agrícola**. Brasília: Embrapa-SPI, 1994. P. 419-436.

WRIGHT, S. F.; UPADHYAYA, A. Extraction of an abundant and unusual protein

from soil and comparison with hyphal protein of arbuscular mycorrhizal fungi. **Soil Science**, v. 161, n. 09, p. 575–586, 1996.

ZAK, D. R.; HOLMES, W. E.; WHITE, D. C.; PEACOCK, A. D.; TILMAN, D. Plant diversity, soil microbial communities, and ecosystem function: Are there any links? **Ecology**, v. 84, n. 8, p. 2042–2050, 2003.

ZAMBROSI, F. C. B.; ALLEONI, L. R. F.; CAIRES, E. F. Teores de alumínio trocável e não trocável após calagem e gessagem em Latossolo sob plantio direto. **Bragantia**, v. 66, n. 3, p. 487–495, 2007.