

**Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”**

**Comunidade de fungos micorrízicos arbusculares em áreas de
manejo de milho (*Zea mays L.*) orgânico, natural e convencional**

Henrique Petry Feiler

Dissertação apresentada para obtenção do título de
Mestre em Ciências. Área de concentração: Solos e
Nutrição de Plantas

**Piracicaba
2020**

Henrique Petry Feiler
Engenheiro Agrônomo

**Comunidades de fungos micorrízicos arbusculares em milho (*Zea mays L.*) sob
manejo orgânico, natural e convencional**

versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 6018 de 2011

Orientadora:

Prof^a Dr^a **ELKE JURANDY BRAN NOGUEIRA
CARDOSO**

Dissertação apresentada para obtenção do título de
Mestre em Ciências. Área de concentração: Solos e
Nutrição de Plantas

Piracicaba
2020

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
DIVISÃO DE BIBLIOTECA – DIBD/ESALQ/USP**

Feiler, Henrique Petry

Comunidades de fungos micorrízicos arbusculares em milho (*Zea mays L.*) sob manejo orgânico, natural e convencional / Henrique Petry Feiler. - - versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 6018 de 2011. - - Piracicaba, 2020.

77 p.

Dissertação (Mestrado) - USP / Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz".

1. Microbiologia do solo 2. Milho 3. Micorrizas 4. Sistemas de Manejo I.
Título

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente e principalmente a minha família que sempre me apoiou em todas as decisões e que me forneceu as condições. Aos meus pais, Orlando e Isabel e à minha irmã Camila, nos quais me espelho.

Agradeço a minha orientadora, Elke Jurandy Bran Nogueira Cardoso, por guiar o meu caminho durante o mestrado, pela supervisão no desenvolvimento deste trabalho e por todos os ensinamentos e, especialmente, pela confiança que possibilitou o meu crescimento profissional e pessoal.

Agradeço à minha parceira, Patricia El Horr de Moraes, por ser sempre meu porto seguro em todos os momentos difíceis além de estar sempre presentes nos momentos felizes, sempre me servindo de inspiração.

Agradeço aos meus amigos Antonio, Marcos, Victor, Maiele e Bruna e a todos os membros do Laboratório de Microbiologia do Solo pela amizade durante a trajetória, por me acolherem tão bem e me divertirem em todos os momentos.

Agradeço aos técnicos Fernando e Denise por toda ajuda e apoio durante o desenvolvimento da pesquisa, especialmente durante todas as horas que passamos no microscópio.

Por fim, agradeço à Empresa Mokiti Okada e a toda sua equipe que permitiram a realização desse trabalho, assim como às agências de fomento CAPES e FAPESP (projeto número 16/18944-3).

"Unless the sun inside you is burning your gut, don't do it."

Charles Bukowski

SUMÁRIO

RESUMO	8
ABSTRACT	9
LISTA DE TABELAS.....	10
LISTA DE FIGURAS.....	11
1. INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA.....	13
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	15
2.1 A Cultura do Milho: Origem e importância econômica.....	15
2.2 Sistemas de Produção	15
2.3 Fenologia do Milho	17
2.4 Fungos Micorrízicos Arbusculares.....	19
2.5 Fungos Micorrízicos Arbusculares e Sistemas de Cultivo	20
3. HIPÓTESES E OBJETIVOS.....	23
3.1 Hipóteses	23
3.2 Objetivos	23
3.2.1 Geral	23
3.2.2 Específicos.....	23
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	25
4.1.1 Local, clima, classificação do solo.....	25
4.1.2 Caracterização das áreas em estudo	26
4.1.2.1 Manejo Orgânico (MO)	27
4.1.2.2 Manejo Natural (MN).....	27
4.1.2.3 Manejo Transição (MT).....	28
4.1.2.4 Manejo Convencional (MC).....	28
4.1.3 Estádios Fenológicos e Amostragem	29
4.1.4 Quantificação e identificação dos esporos de FMA	29
4.1.5 Avaliação de raízes colonizadas por FMA	30
4.1.6 Atividade Enzimática do Solo	30
4.1.7 Análise Químicas do Solo e Planta.....	31
4.1.8 Fracionamento do Fósforo (P)	31
4.1.9 Extração de DNA das amostras de solo e raízes	31
4.1.10 Sequenciamento da Comunidade de FMA.....	32
4.2 Análise Estatística.....	33
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	35

5.1.1 Análise Química do Solo	35
5.2 Atividade Enzimática do Solo	42
5.3 Colonização com Fungos Micorrízicos Arbusculares.....	45
5.4 Comunidade de FMA: Abordagem clássica	47
5.5 Comunidade de FMA: Abordagem molecular	50
5.6 Produtividade	59
6. CONCLUSÕES	65
REFERÊNCIAS.....	67
APÊNDICES.....	75
APÊNDICE A. <i>Teores de amônio, nitrato e nitrogênio total (amônio + nitrato) no solo nos manejos convencional (MC), transição (MT), orgânico (MO) e natural (MN) para os estádios fenológicos vegetativo 4 (V4), reprodutivo 1 (R1) e pós-colheita (PC).</i> .	75
APÊNDICE B. <i>Atividade enzimática das enzimas beta-glucosidase, fosfatase ácida e fosfatase alcalina nos manejos convencional (MC), transição (MT), orgânico (MO) e natural (MN) para os estádios fenológicos vegetativo 4 (V4), reprodutivo 1 (R1) e pós-colheita (PC).</i>	75
APÊNDICE C. <i>Teores de das frações obtidas no fracionamento do fósforo nos manejos convencional (MC), transição (MT), orgânico (MO) e natural (MN) para os estádios fenológicos vegetativo 4 (V4), reprodutivo 1 (R1) e pós-colheita (PC).</i>	76
APÊNDICE D. <i>Percentual de colonização micorrízica nos manejos convencional (MC), transição (MT), orgânico (MO) e natural (MN) para os estádios fenológicos vegetativo 4 (V4), reprodutivo 1 (R1).</i>	77
APÊNDICE E. <i>Análise de redundância baseada em distância com base nas comunidades de FMA e atributos químicos e biológicos do solo.</i>	77

RESUMO

Comunidade de fungos micorrízicos arbusculares em cultivo de milho (*Zea mays L.*) sob manejo orgânico, natural e convencional.

A produção agrícola brasileira vem se tornando cada vez mais importante no cenário mundial, entretanto é necessária uma adaptação neste modelo, que é baseado em sistemas convencionais, devido à demanda social e ambiental. Para atingir melhores produções com menor utilização de aporte externo, em sistemas menos intensivos, é necessário entender os processos do solo feito por microrganismos e, entre eles, principalmente os fungos micorrízicos arbusculares (FMA) que favorecem as plantas na absorção de nutrientes pouco móveis como o fósforo. Desta forma, o presente estudo tem como objetivo identificar as comunidades de FMA no solo e na planta nas áreas de cultivo orgânico (MO), natural (MN) e convencional (MC) de milho, nos estádios fenológicos V5 e R1 e no pós-colheita, buscando com esse entendimento aperfeiçoar a utilização de recursos naturais, principalmente a ciclagem de nutrientes, em sistemas de produção de milho. Para tanto, solos e raízes de milho foram amostrados em áreas com esses manejos e foram realizadas as análises químicas e de enzimas do solo, a colonização radicular por FMA e a estrutura da comunidade de fungos micorrízicos pela abordagem clássica (estrutura dos esporos) e molecular. A beta-glucosidase obteve um comportamento crescente em todos os manejos, contudo a maior expressão foi no MN. A fosfatase ácida demonstrou maior atividade no MC, revelando pouca influência frente a adubação fosfatada, diferentemente da fosfatase alcalina que foi anulada nesse manejo, porém essa fosfatase obteve uma atividade constante durante o ciclo no MN e MT, demonstrando uma atuação importante no suprimento de fósforo para a cultura. No estágio V4 a colonização radicular foi maior nos manejos MC, porém no estágio R1 ocorreu uma equiparação entre todos os manejos, todavia a colonização tardia não afetou negativamente o estado nutricional da planta. A comunidade de FMA se mostrou distinta, apesar da diversidade não ter diferença significativa entre os manejos, apenas no período pós-colheita, quando o MN foi o mais diversificado entre os manejos, indicando uma adaptação das espécies de FMA em cada manejo, levando a funcionalidades diferentes. Os atributos do solo que mais influenciaram a comunidade de FMA foram o alumínio, a fosfatase alcalina e o teor de nitrato do solo.

Palavras chaves: FMA, Sequenciamento, Solos tropicais, Taxa de colonização

ABSTRACT

Communities of arbuscular mycorrhizal fungi in maize (*Zea mays L.*) under organic, natural and conventional management

Brazilian agriculture has become increasingly important in the international scenario. However, an adaptation of its management model is necessary, since, so far, it has been based on conventional systems, according to social and environmental demands. To maintain or improve agricultural yields and, concurrently, to reduce external inputs, as synthetic fertilizers and pesticides, it is necessary to obtain a less intensive system, and to understand soil ecosystem services mediated by microorganisms, especially the arbuscular mycorrhizal fungi (AMF), which favor nutrient absorption by plants. Therefore, the present study aims to identify the diversity and functionality of the AMF community structure in a maize crop under organic (MO), natural (MN) and conventional cultivation (MC), in the phenological stages V5 and R1, focusing especially on Phosphorus (P) cycling. Therefore, we sampled soils under different management systems for chemical and enzyme analyses, and maize roots from each system for the evaluation of root colonization percentages by AMF and the structure of the mycorrhizal fungal community, according to the classical technique based on spore structure, and to the molecular approach. Beta-glucosidase had an increasing activity in all systems, although the greatest expression was in MN. Acid phosphatase showed greater activity in MC, with the lowest pH, revealing little influence when correlated with phosphate fertilization, alkaline phosphatase showed a constant activity during the entire maize growth cycle in MN and MT, demonstrating an important role in the supply of phosphorus for the culture. In stage V4, root colonization was greater in the MC management, but in stage R1, there was an equalization between all systems, while late root colonization did not negatively affect the nutritional status of the plant. The AMF community proved to be distinct but, despite its diversity, showed no significant differences between the treatments, which only appeared in the post-harvest period, when the MN was the most diversified among the treatments, indicating an adaptation of the AMF species to all kinds of management, leading to different functionality. The soil attributes that most influenced the AMF community were aluminum, alkaline phosphatase and nitrate content of the soil.

Keywords: AMF, Sequencing, Tropical soil, Colonization rates

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Granulometria do solo das áreas do Sítio Camaquã e do CPMO nas camadas de 0 - 10 e 10 – 20 cm de profundidade.....	25
Tabela 2. Extratores e respectivas frações da extração sequencial do fósforo.....	31
Tabela 3. Médias dos atributos químicos encontrados no solo. Letras maiúsculas comparam os estádios fenológicos dentro do mesmo tratamento e as minúsculas o mesmo estágio fenológico entre os tratamentos ($p \leq 0.1$). “-“ Representa ausência de diferença estatística significativas.....	40
Tabela 4. Valores médios dos teores nutricionais da parte aérea total da planta e massa seca. Letras maiúsculas comparam os estádios fenológicos dentro do mesmo tratamento e minúsculas os estádios fenológicos entre os tratamentos ($p \leq 0.1$). “-“ Representa ausência de diferença estatística significativas.....	47
Tabela 5. Índice de diversidade de Shannon e Simpson e dominância nos manejos convencional (MC), transição (MT), orgânico (MO) e natural (MN) para os estádios fenológicos vegetativo 4 (V4), reprodutivo 1 (R1). Letras maiúsculas comparam os estádios fenológicos dentro do mesmo tratamento e minúsculas os estádios fenológicos entre os tratamentos ($p \leq 0.1$). “-“ Representa ausência de diferença estatística significativas.....	48
Tabela 6. Média do número de esporos em 50 gramas de solo por espécies encontradas nas quatro parcelas experimentais.	49
Tabela 7. Porcentagem das UTO para o filo <i>Glomeromycota</i> e a porcentagem de UTO não identificadas/outros (Filos).	52
Tabela 8. Índice de diversidade do solo Observado, Chao1, ACE, Shannon e Simpson nos manejos convencional (MC), transição (MT), orgânico (MO) e natural (MN) para os estádios fenológicos vegetativo 4 (V4), reprodutivo 1 (R1). Letras maiúsculas comparam os estádios fenológicos dentro do mesmo tratamento e minúsculas os estádios fenológicos entre os tratamentos ($p \leq 0.1$). “-“ Representa ausência de diferença estatística significativas.....	55

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1. Precipitação média e temperatura média na Estação Climatológica localizada no Centro de Pesquisa Mokiti Okada, Ipeúna – São Paulo..... 26
- Figura 2. Teores de (A) Nitrato, (B) Amônio e (C) Nitrogênio Inorgânico Total (Nitrato + Amônio) nos manejos convencional (MC), transição (MT), orgânico (MO) e natural (MN) para os estádios fenológicos vegetativo 4 (V4), reprodutivo 1 (R1) e pós-colheita (PC). Letras maiúsculas comparam os estádios fenológicos dentro do mesmo tratamento e as minúsculas os estádios fenológicos entre os tratamentos ($p \leq 0.1$). “-“ Representa ausência de diferença estatística..... 39
- Figura 3. Teores de (A) Fósforo Inorgânico, (B) Fosforo Orgânico e (C) Fósforo Total (Inorgânico + Orgânico) nos manejos convencional (MC), transição (MT), orgânico (MO) e natural (MN) para os estádios fenológicos vegetativo 4 (V4), reprodutivo 1 (R1) e pós-colheita (PC)..... 41
- Figura 4. Atividade enzimática da (A) Fosfatase Alcalina, (B) Fosfatase Ácida e (C) Beta-glucosidase nos manejos convencional (MC), transição (MT), orgânico (MO) e natural (MN) para os estádios fenológicos vegetativo 4 (V4), reprodutivo 1 (R1) e pós-colheita (PC). Letras maiúsculas comparam os estádios fenológicos dentro do mesmo tratamento e minúsculas os estádios fenológicos entre os tratamentos ($p \leq 0.1$). “-“ Representa ausência de diferença estatística..... 43
- Figura 5. Colonização micorrízica (%) nos manejos convencional (MC), transição (MT), orgânico (MO) e natural (MN) para os estádios fenológicos vegetativo 4 (V4) e reprodutivo 1 (R1). Letras maiúscula comparam os estádios fenológicos dentro do mesmo tratamento e minúsculas os estádios fenológicos entre os tratamentos ($p \leq 0.1$). “-“ Representa ausência de diferença estatística significativas..... 46
- Figura 6. Esporoso de fungos micorrízicos arbusculares (A) *A. scrubiculata* (PVLG+Melzer) (B) Não identificado (C) *R. Clarus* (PVLG) (D) Não identificado (E) Escudo germinativo *Scutellospora cerradensis* (PVLG) (F) *Glomus rubiformis* (PVLG) (G) *A. leptoticha* (PVLG) (H) *G. decipiens* (PVLG) (I) Esporos glomóides inviáveis (PVLG) (J) *A. scrubiculata* (PVLG) (K) *A. callosa*..... 50
- Figura 7. Abundância relativa para gênero nos manejos convencional (MC), transição (MT), orgânico (MO) e natural (MN) e para os estádios fenológicos vegetativo 4 (V4), reprodutivo 1 (R1) e pós-colheita (PC). Para os locais solo e planta..... 53
- Figura 8. Coocorrência de UTO no solo nos manejos convencional (MC), transição (MT), orgânico (MO) e natural (MN) para os estádios fenológicos vegetativo 4 (V4), reprodutivo 1 (R1) e pós-colheita (PC)..... 57
- Figura 9. Coocorrência de UTO na raiz nos manejos convencional (MC), transição (MT), orgânico (MO) e natural (MN) para os estádios fenológicos vegetativo 4 (V4), reprodutivo 1 (R1) e pós-colheita (PC)..... 57

Figura 10. Análise de Redundância baseada em distância (dbRDA) da comunidade de FMA nos manejos convencional (MC), transição (MT), orgânico (MO) e natural (MN) para os estádios fenológicos vegetativo 4 (V4), reprodutivo 1 (R1). Os vetores representam as variáveis do modelo onde as cinzas são as que não apresentaram significância no modelo proposto e as pretas apresentaram significância. (NO3) nitrato, (BETA) beta-glucosidase (Fosf_Ac) Fosfatase Ácida (pH) pH (MO) Matéria Orgânica (P) fósforo do solo (K) potássio do solo (Ca) cálcio do solo (MG) magnésio do solo (Al) alumínio do solo (H_Al) acidez potencial (Pi_Labil) fósforo inorgânico lábil (Pi_Moderado) fósforo inorgânico moderadamente lábil (Pi_Nao_Labil) fósforo inorgânico não lábil (Po_Labil) fósforo orgânico lábil (P_Moderado) fósforo orgânico moderadamente lábil (Pi_Nao_Labil) fósforo orgânico não lábil (Fosfa_Alc) Fosfatase Alcalina.....58

Figura 11. Produtividade (Toneladas por Hectare) nos manejos convencional (MC), transição (MT), orgânico (MO) e natural (MN). Letras maiúsculas comparam os tratamentos ($p \leq 0.1$).....62

Figura 12. Análise dos componentes principais (PCA) para os manejos convencional (MC), transição (MT), orgânico (MO) e natural (MN) para os estádios fenológicos vegetativo 4 (V4), reprodutivo 1 (R1). (NO3) nitrato, (BETA) beta-glucosidase (Fosf_Ac) Fosfatase Ácida (pH) pH (MO) Matéria Orgânica (P) fósforo do solo (K) potássio do solo (Ca) cálcio do solo (MG) magnésio do solo (Al) alumínio do solo (H_Al) acidez potencial (Pi_Labil) fósforo inorgânico lábil (Pi_Moderado) fósforo inorgânico moderadamente lábil (Pi_Nao_Labil) fósforo inorgânico não lábil (Po_Labil) fósforo orgânico lábil (P_Moderado) fósforo orgânico moderadamente lábil (Pi_Nao_Labil) fósforo orgânico não lábil (Fosfa_Alc) Fosfatase Alcalina (Prod) produtividade (N Esporos) número de esporos de FMA (Simpson) índice de diversidade de Simpson (Shannon) índice de diversidade de Shannon (P_Planta) fósforo da planta (K_Planta) potássio da planta (Ca_Planta) cálcio da planta (Mg_Planta) magnésio da planta (N_Planta) nitrogênio da planta (Colonização) Colonização radicular por FMA (Dominância) índice de dominância de espécies (NH4) amônio.63

1. INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA

A produção agrícola brasileira cada vez mais está preenchendo um lugar de importância para a alimentação das populações crescentes no mundo, especialmente em grãos. Entretanto, com as mudanças climáticas eminentes e pressões sociais dos consumidores, adaptações nos modelos produtivos são necessárias, além do que a utilização desses insumos industriais é altamente dispendioso e com o tempo pode vir a causar a degradação do solo.

Os modelos intensivos, também conhecidos como convencionais, são de alta produtividade, porém são muito custosos financeiramente (IMEA, 2018) e ambientalmente (SEUFERT *et al.*, 2012), pois o aporte externo tem que ser muito elevado. Os sistemas menos intensivos, como os chamados naturais, ecológicos ou orgânicos buscam um equilíbrio na cadeia produtiva, tendo baixa dependência externa (SOARES; PORTO, 2009)

Embora já seja reconhecido que o aporte de matéria orgânica seja muito eficiente na agricultura (CARDOSO, 2019), os sistemas orgânicos ainda não possuem muitas validações científicas para otimização da produção e uso de *inputs*. O conhecimento sobre os processos que são influenciados pelo manejo agrícola já está avançando e sabe-se que a produção ecologicamente correta se sustenta no equilíbrio dos serviços ecossistêmicos, muitos deles provenientes dos microrganismos do solo em interação com as plantas (ZHANG *et al.*, 2016)

Entre esses serviços, as enzimas do solo, que contribuem para a ciclagem de nutrientes e da matéria orgânica, são importantes para manter o equilíbrio nutricional do solo, disponibilizando nutrientes durante todo o período produtivo (VAN DER HEIJDEN *et al.*, 2008). A interação entre os FMA e as enzimas do solo são especialmente intensas na hifosfera (a região que envolve as hifas do fungo) e são essenciais para a boa nutrição das plantas (AZAIZEH *et al.* 1995, NUCCIO *et al.*, 2015)

Fazendo simbiose com mais de 80% das plantas terrestres, a micorríza (raíz + FMA) favorece a planta para a absorção de quase todos os nutrientes (KLIRONOMOS *et al.*, 2000), especialmente aqueles pouco móveis no solo, como o fósforo (VAN DER HEIJDEN *et al.*, 2008), mas também na absorção de água, além de proteção contra contaminantes do solo.

Algumas técnicas podem desfavorecer as comunidades micorrízicas, como a adubação com elevadas taxas de nutrientes solúveis, especialmente fósforo e nitrogênio, o revolvimento do solo, a monocultura e a utilização de pesticidas, podendo ter um efeito deletério no número de esporo, viabilidade das hifas e taxas de colonização (OEHL *et al.*, 2010, SCHNEIDER *et al.*, 2015., GOTTSHALL *et al.*, 2017). Manejos menos intensivos podem intensificar a atividade micorrízica (MÄDER *et al.*, 2000), além de favorecer grupos raros de FMA que possuem benefícios mais acentuados para a planta (PURIN; KLAUBERG, STÜMER, 2008)

A dinâmica da comunidade de FMA frente aos manejos em solos tropicais tem sido pouco elucidada, apesar da significância que esse grupo possui na nutrição e produção das plantas. Além de identificar quais grupos estão presentes no solo, é necessário entender quais são os FMA que estão colonizando a cultura agrícola de interesse, para elucidar a dinâmica de colonização compreendendo assim a função específica que cada grupo possui na planta hospedeira.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 A Cultura do Milho: Origem e importância econômica

A história do milho moderno (*Zea mays L.*) começou com o cruzamento do Teosinto com o milho primitivo, sendo as duas provavelmente descendentes de um ancestral comum pertencente à tribo da Andropogone (MANGELSDORF, 1986). Com uma domesticação muito rápida, indícios da presença de resquícios de milho foram encontrados em ferramentas rústicas, no México, datadas de aproximadamente 9 mil anos atrás (RANERE *et al.*, 2009). Porém, o milho passou por diversas mudanças, especialmente no melhoramento genético, sendo espalhado pelo mundo, tornando-se uma das principais commodities cultivadas atualmente (SMITH; BETRÁN, 2004).

A agricultura brasileira tem se tornado cada vez mais significativa para a alimentação mundial, ocupando grande liderança na produção e exportação de alimentos, sendo o maior exportador de produtos agrícolas para a União Europeia (HUBBARD *et al.*, 2017). Contudo, a produção brasileira é baseada sobretudo em sistemas de agricultura intensiva, sendo que dos 282 milhões de hectares cultivados, apenas 750 mil hectares são de agricultura orgânica. No Brasil esse tipo de produção leva a uma alta dependência de insumos, ocupando a quarta posição como maior consumidor de adubos fosfáticos e nitrogenados, perdendo apenas para a China, a Índia e os Estados Unidos, e sendo o terceiro maior consumidor de potássio, ficando atrás somente de China e Estados Unidos (FAO, 2008).

Dentro deste cenário, o milho foi cultivado em 191 milhões de hectares mundialmente, na safra de 2018/2019, com uma produção de mais de 1,04 Mg toneladas. O Brasil é o terceiro maior produtor mundial, atrás dos EUA e China, porém é o segundo maior exportador, perdendo apenas para os EUA (USDA, 2019). O principal destino do milho é para a fabricação de rações, porém, desde 2015, o etanol obtido a partir do milho se tornou o biocombustível mais utilizado mundialmente, principalmente devido à sua produção e uso nos EUA (HOCHMAN; ZILBERMAN, 2018), aumentando ainda mais a procura e necessidade de estudos sobre a cultura.

2.2 Sistemas de Produção

Atualmente os manejos ecológicos das culturas buscam modificar as condições edafoclimáticas, tornando-as ideais para assegurar a produtividade e buscar o controle de pragas e doenças. Com a evolução da agricultura, diversas ferramentas

surgiram para melhorar o ambiente agrícola produtivo, como o uso da irrigação, a mecanização, a adubação para suprir a demanda nutricional das plantas, assim como diversos outros. Entretanto, para alcançar o mesmo objetivo, a forma como o manejo pode ser aplicado difere, todos com seus bônus e ônus.

Os cultivos convencionais (intensivos), apesar de normalmente alcançarem altas produtividades, são muito custosos para os agricultores, visto que os valores dos fertilizantes podem corresponder a 43% do valor total de insumos e 20% do custo total da produção de milho (IMEA, 2018). Além dos custos monetários existem outros efeitos nocivos, como eventuais danos à saúde dos agricultores e dos consumidores e efeitos deletérios ambientais, como a contaminação e eutrofização de rios e lagos, degradação do solo e a dependência de insumos externos (DA VEIGA, 1994; SOARES; PORTO, 2009). Diante desse cenário, outras opções podem e devem ser consideradas para benefício de uma sociedade que busca uma agricultura mais sensata, com melhor preservação e aproveitamento dos recursos ambientais, garantindo a saúde de homens e animais e com menores dispêndios financeiros (SIEGRIST *et al.*, 2015).

Os manejos orgânicos dependem de um menor *input* externo, favorecendo os métodos biológicos, culturais e mecânicos e a não utilização de produtos sintéticos (lei nº10.831 de 31/12/2003). A idealização do cultivo orgânico começou no período entre guerras, porque ocorreu a escassez de insumos industriais, a demanda social, além de maior aprendizado da biologia do solo depois das descobertas de microrganismos atuantes na agricultura, como os fungos micorrízicos arbusculares (1886) e as bactérias fixadoras de nitrogênio (1885) (LOCKERETZ, 2007). Contudo, o marco para a difusão das ideias sobre agricultura orgânica foi no ano de 1940 com a obra de Albert Howard (HECKMAN, 2006), que se mantém até a atualidade.

Embora não sejam predominantes no Brasil, os sistemas orgânicos geram maior retorno para o produtor, devido ao valor agregado, por causa de menores gastos e menores perdas e riscos, podendo apresentar produtividades semelhantes se forem bem manejados (PIMENTEL *et al.*, 2005) Porém, em média, os valores de produção têm sido menores (19%) (POUDEL *et al.*, 2002), pois as regras estipuladas para o manejo orgânico são originárias de longa data, sendo mais baseadas em práticas tradicionais do que em experiência científica. Apesar disso, essas melhores práticas de modo geral tornam os alimentos assim obtidos mais saudáveis, o que traz maiores

valores aos consumidores (PONISIO *et al.*, 2015) e faz que os ganhos se estendam além da produtividade.

Os solos cultivados com o manejo orgânico contêm maiores teores de matéria orgânica e de nitrogênio, melhor desempenho em épocas secas devido ao maior armazenamento de água, menores taxas de lixiviação de nitrato e perdas de fósforo, diminuição na liberação de gases do efeito estufa e menor dependência de combustíveis fósseis (SOARES, PORTO, 2009; MONDELAERS *et al.*, 2009; PIMENTEL *et al.*, 2009; GOMIERO *et al.*, 2011; SEUFERT *et al.*, 2012). Todavia, diversas barreiras devem ser superadas para otimizar e viabilizar os cultivos orgânicos, apesar da diferença produtiva com o cultivo convencional tenha diminuído na última década, principalmente devido a uma melhor eficiência do uso dos nutrientes (SCHRAMA *et al.*, 2018). No Brasil a produção de orgânicos segue a Lei Federal n.10.831 de 2003 (BRASIL, 2003) porém o que de fato falta é uma avaliação mais científica dos aportes orgânicos, de sua constituição e composição e de seus processos de obtenção e aplicação no solo.

Apesar da falta de suporte científico nos aportes orgânicos, sabe-se que em cultivos orgânicos o sistema “trabalha” para manter a eficiência no substrato de produção (ou seja, o solo) para a nutrição das plantas e o crescimento das plantas em áreas agrícolas (KREMEN; MILES, 2012). Esse “trabalho” é conhecido como um conjunto de serviços ecossistêmicos, podendo-se destacar a ciclagem de nutrientes, a produção e decomposição dos compostos orgânicos, a fixação biológica de nitrogênio, solubilização do fósforo entre outros, funções ligadas a grupos de microrganismos (CARDOSO; ANDREOTE, 2016; VAN DER HEIJDEN *et al.*, 2008).

2.3 Fenologia do Milho

O estado reprodutivo começa no florescimento e se encerra quando os grãos se desprendem fisiologicamente da planta mãe, caracterizado pela ausência de crescimento vegetativo e pelo aumento da massa dos grãos. De forma sucinta, serão apresentados os principais estádios fenológicos explicando suas características, de acordo com Fancelli (2011) e Fancelli (2015).

Após a absorção de água pela semente, ocorre a germinação/emergência (Estádio V0), o que torna essa fase altamente dependente de condições favoráveis de temperatura e umidade do solo. Primeiramente ocorre a emissão das raízes seminais, que tem a finalidade de absorver água e oxigênio do solo, que são

essenciais para as enzimas da semente transformarem as reservas em energia e nutriente. Entretanto, a duração dessa raiz é curta, sendo substituída pelas raízes adventícias que surgirão após os 15/20 dias. Além das condições de temperatura e umidade do solo, a profundidade de semeadura pode afetar o sucesso da lavoura.

Com quatro folhas totalmente abertas a planta atingirá o estágio V4. Nessa fase o meristema apical ainda está abaixo do nível do solo, logo, a umidade do solo (excesso/falta) pode danificar o ponto de crescimento do milho. As raízes estão com alta taxa de desenvolvimento e ramificações, processo que é dependente do suprimento com fotoassimilados que vão da parte aérea para a radicular, garantindo uma expansão e ocupação do solo satisfatórias. Portanto, a relação entre área foliar e área radicular são extremamente importantes. Durante esse estágio são definidos o potencial de produção (número máximo de grãos), devido à diferenciação floral.

Com oito folhas totalmente abertas, o estágio V8 também é caracterizado pelo crescimento do colmo em diâmetro e comprimento e elevada absorção de nutrientes. É importante ressaltar que o colmo não atua apenas como suporte para a planta, mas também como estrutura de armazenamento de sólidos solúveis, que posteriormente serão translocados para os grãos.

Com aproximadamente 90% da área foliar definida, o estágio V12 é caracterizado pela presença de 12 folhas. Ocorre o início da formação de raízes adventícias aéreas, crescimento do colmo, pendão e espiga superior. O período compreendido entre o estágio V12 e R1 é decisivo para a produtividade da cultura, principalmente quanto ao tamanho e número de espiga, logo o produtor deve se atentar na disponibilidade de água e nutrientes nesse período.

O último estágio vegetativo é o Vt, caracterizado pelo aparecimento do pendão. O próximo estágio já será reprodutivo (R1), com o florescimento da planta e posterior polinização, finalizando o crescimento do colmo e internódios.

Os estádios subsequentes, que irão do R2 até o R6 são caracterizados pela translocação de fotoassimilados da planta mãe para o grão, levando uma deposição de amido no grão, que ganhará peso. No estágio R6 ocorrerá a maturidade fisiológica dos grãos, com o desligamento da planta mãe dos grãos, caracterizado pela presença de camada negra no local de inserção do grão no sabugo. A planta entrará em senescência e os grãos estarão com o máximo vigor e matéria seca.

2.4 Fungos Micorrízicos Arbusculares

Os FMA, pertencentes ao filo *Glomeromycota*, contêm nove famílias denominadas: *Glomeraceae*, *Pacisporaceae*, *Acaulosporaceae*, *Diversisporaceae*, *Gigasporaceae*, *Claroideoglomeraceae*, *Paraglomeraceae*, *Archaeosporaceae* e *Ambisporaceae* (REDECKER *et al.*, 2013). Existem evidências de que esses fungos coevoluíram com as plantas, levando a uma dependência mútua (SCHÜßLER *et al.*, 2001). Assim, os fungos denominados FMA, para completarem seu ciclo de vida, precisam estar em simbiose com uma planta hospedeira (CARDOSO; NOGUEIRA; ZANGARO, 2017).

Durante a simbiose, as plantas são beneficiadas pela otimização dos recursos, uma vez que as hifas fúngicas crescem aumentando a área de cobertura das raízes das plantas, elevando a captação de água e nutrientes (KLIRONOMOS *et al.*, 2000), principalmente dos nutrientes pouco móveis, como o fósforo que, em algumas situações, dependem até em 90% do provimento pelos FMA (VAN DER HEIJDEN *et al.*, 2008). Além dessa expansão, os FMA liberam na hifosfera, a zona de atividade de suas hifas extrarradiciais, uma série de compostos orgânicos, entre os quais as fosfatases que ajudam a hidrolisar o P orgânico para uma forma solúvel que pode ser absorvida pela planta (SATO *et al.*, 2015), aumentando a atividade quando a concentração de fósforo disponível for menor (VAN AARLE *et al.*, 2002). Como esperado, num experimento de campo, quando se elevou a colonização das plantas pelos FMA, também foi observado o aumento da atividade das fosfatases ácida e alcalina (BINI *et al.*, 2018)

Entretanto, não apenas a presença dos FMA é importante para o benefício das plantas, mas também uma alta biodiversidade deste grupo, que leva a uma melhor estabilidade ecológica e produtividade (VAN DER HEIJDEN *et al.*, 1998). Todavia, os mecanismos envolvidos e a função de cada espécie nessa diversidade não são completamente entendidas, apesar da sua importância (OEHL *et al.*, 2010; SCHNEIDER *et al.*, 2015; GOTTSALL *et al.*, 2017). Dessa maneira, uma alta diversidade de FMA, que é diretamente relacionada com o manejo empregado, pode trazer maiores benefícios à área agrícola, podendo se sobressair até ao uso de inoculantes (MÄDER; *et al.*, 2000).

2.5 Fungos Micorrízicos Arbusculares e Sistemas de Cultivo

Cultivos convencionais intensivos utilizam revolvimento de solo, aplicação de fertilizantes químicos solúveis e de pesticidas além da monocultura, um conjunto de fatores que tende a diminuir o número de espécies e esporos de FMA, levando a uma perda funcional e seleção das poucas espécies mais adaptadas e tolerantes de FMA a essas perturbações ecológicas (SÄLE *et al.*, 2015; GOTTSALL *et al.*, 2017). Além disso, durante o revolvimento do solo, os implementos quebram a extensa rede de hifas presente e podem inviabilizar os propágulos (KABIR, 2005), diminuindo a colonização de raízes, o teor de glomalina nas raízes e a atividade da fosfatase (WANG *et al.*, 2011). Glomalina é uma substância orgânica produzida pelas hifas de FMA que se ligam às raízes colonizadas e que atua como agente de estruturação das partículas do solo. Por outro lado, os cultivos não-intensivos prezam por manejos que favorecem a comunidade de FMA, aumentando a diversidade (OEHL *et al.*, 2010). Conforme dito acima, a monocultura também afeta negativamente as comunidades de FMA, devido a menor variedade de plantas hospedeiras. A variedade vegetal é sempre maior em sistemas de rotação de cultura implicando em aumento do número de esporos e na diversidade de espécies de FMA (DE MIRANDA *et al.*, 2005; OEHL *et al.*, 2010; SCHNEIDER *et al.*, 2015). Portanto, a adoção de manejos não-intensivos, como os orgânicos e naturais, e práticas de rotação de cultura em áreas agrícolas, podem selecionar comunidades de fungos micorrízicos arbusculares com maior abundância, auxiliando em sua produtividade.

Estudos prévios já evidenciaram que os cultivos orgânicos favorecem a simbiose Planta-FMA, pois o milho cultivado nestas áreas teve maior colonização de raízes (VERBRUGGEN *et al.*, 2010). Além disso, os mesmos autores constataram que as mudanças na comunidade de FMA ocorrem desde o momento de conversão do convencional para o orgânico, aumentando com o tempo. As taxas de colonização em geral também são menores nos sistemas convencionais do que nos orgânicos devido aos maiores teores de P solúvel no solo (MÄDER *et al.*, 2000; OEHL *et al.*, 2004). O uso de fertilizantes sintéticos, especialmente o fósforo solúvel, leva a uma queda na diversidade, selecionando espécies mais agressivas (SCHNEIDER *et al.*, 2015). Na presença da adubação fosfatada as plantas podem alocar menos carbono para os FMA, absorvendo o nutriente disponível no solo pelas raízes, e quanto maiores as doses de adubação fosfatada, menor a diversidade de FMA e menor a colonização das raízes (DEL MAR ALGUACIL *et al.*, 2010; WILLIAMS *et al.*, 2017). Mas este é

apenas um dos fatores que afetam a ciclagem de nutrientes, visto que em concentrações similares de P, os sistemas orgânicos continuam tendo uma maior colonização de raízes (MÄDER; *et al.*, 2000).

As espécies podem ser classificadas quanto à sua habilidade de sobrevivência em cultivos agrícolas, as primeiras denominadas generalistas, ocorrendo em vários tipos de sistemas, independentemente do tipo de cultivo, na qual temos predominância de espécies do gênero *Glomus*. As espécies especialistas, por sua vez, necessitam de nichos mais estreitos, que são geralmente fornecidos em cultivos menos intensivos; contudo, essas espécies possuem às vezes outras capacidades que favorecem as plantas, como a maior eficiência em absorção de nutrientes (OEHL; *et al.*, 2004). Em áreas de solos agrícolas de clima temperado, os cultivos convencionais têm uma dominância de *Glomeraceae* e *Gigasporaceae*. Já nos cultivos orgânicos, que se assemelham mais a pastagens naturais, foi observado um maior número de *Gigasporaceae*, *Acaulosporaceae*, *Claroideoglomeraceae* e *Diversiporaaceae* (OEHL *et al.*, 2004; VERBRUGGEN *et al.*, 2010; SCHNEIDER *et al.*, 2015; MANOHARAN *et al.*, 2017).

No Brasil diversos estudos avaliando os diferentes tipos de manejo de solo e práticas agrícolas foram realizados, com ênfase para a interação fósforo-plantas-FMA, agregando o conhecimento sobre o comportamento dos FMA. Porém mais estudos são necessários para entender como os diferentes manejos interferem nas comunidades de FMA e como a manutenção dessas contribuem para os ecossistemas como um todo, buscando melhorar a produção agrícola (SIQUEIRA *et al.*, 2010).

Portanto, diferente daquilo que ocorre nos climas temperados, a relação das comunidades de FMA com o manejo em solos tropicais tem sido parcialmente ignorada (IGIEHON; BABALOLA, 2017), o que pode levar a um efeito negativo na produção devido a essa escassez de conhecimento. Solos tropicais são mais pobres nutricionalmente, em geral bastante lixiviados e pobres em relação ao fósforo que, mesmo quando presente em quantidades satisfatórias, não está completamente disponível, pois em sua maioria se encontra em formas complexadas e fixadas. Outra lacuna é saber quais são as espécies que de fato colonizam a planta, e como isso é afetado pelo manejo. Estudos demonstram que pode existir influência da planta na colonização, visto que na presença de um mesmo inoculante misto, a colonização foi menor em solos convencionais do que nos orgânicos (LOIT *et al.*, 2018) e diferentes espécies de FMA tiveram taxas de colonização discrepantes, dependendo das

condições edáficas (LAMBALIS; CARDOSO, 1993); ainda, experimentos nos quais a mesma mistura de esporos é inoculada em diferentes espécies de plantas mostram que cada uma seleciona preferencialmente uma ou várias espécies de FMA (VAN DER HEIJDEN *et al.*, 1998).

3. HIPÓTESES E OBJETIVOS

3.1 Hipóteses

- Em manejos menos intensivos, como o orgânico e natural, as comunidades de FMA apresentarão maior diversidade de espécies;

-O manejo agrícola influenciará as condições edáficas como os teores de nutrientes do solo, matéria orgânica, pH e umidade que, por sua vez, influenciarão a porcentagem de colonização radicular com espécies de FMA, favorecendo as espécies mais adaptadas para cada manejo.

3.2 Objetivos

3.2.1 Geral

O presente estudo tem como objetivo identificar a comunidade de FMA no solo e no interior da planta nas áreas de cultivo orgânico, natural e convencional de milho, utilizando a metodologia tradicional de morfologia de esporos e técnicas moleculares para sua identificação. Com base nas comunidades presentes no solo e na planta, poderá ser feita uma avaliação de eventuais padrões de colonização nos diferentes tipos de manejo.

3.2.2 Específicos

- Comparar a colonização micorrízica arbuscular entre os sistemas de manejo em milho;
- Comparar a colonização entre os estádios fenológicos do milho em cada tratamento;
- Comparar a abundância e diversidade de esporos de FMA entre os sistemas de manejo de milho;
- Avaliar a atividade das enzimas fosfatase ácida e alcalina e beta-glucosidase;
- Avaliar a comunidade de fungos micorrízicos utilizando sequenciamento de segunda geração (plataforma Illumina).

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1.1 Local, clima, classificação do solo

O experimento foi conduzido no município de Ipeúna, Estado de São Paulo. Com auxílio do Centro de Pesquisa Mokiti Okada (Korin), quatro áreas foram selecionadas sendo as do manejo orgânico e natural localizadas na Fazenda Serra Dourada, pertencente ao Centro de Pesquisa Mokiti Okada. As áreas com o cultivo convencional e transição estão localizadas próximo, na propriedade vizinha (Sítio Camaquã).

Apesar de apresentarem pequenas diferenças quanto à textura do solo (Tabela 1), as áreas foram escolhidas entre as disponíveis, pois eram as mais homogêneas possíveis de serem encontradas. O solo é classificado como Latossolo Vermelho (EMBRAPA, 2006) com textura Argilo-arenosa. O clima da região é Cwa (tropical úmido com seca no inverno e úmido no verão), segundo a classificação climática de Köppen.

Tabela 1. Granulometria do solo das áreas do Sítio Camaquã e do CPMO nas camadas de 0 - 10 e 10 - 20 cm de profundidade.

Manejo	Profundidade (cm)	Argila	Silte	Areia
		g.kg ⁻¹		
Convencional e Transição	0-10	430	154	416
	10-20	457	133	410
Orgânico	0-10	390	80	530
	10-20	460	60	480
Natural	0-10	440	90	535
	10-20	520	65	415

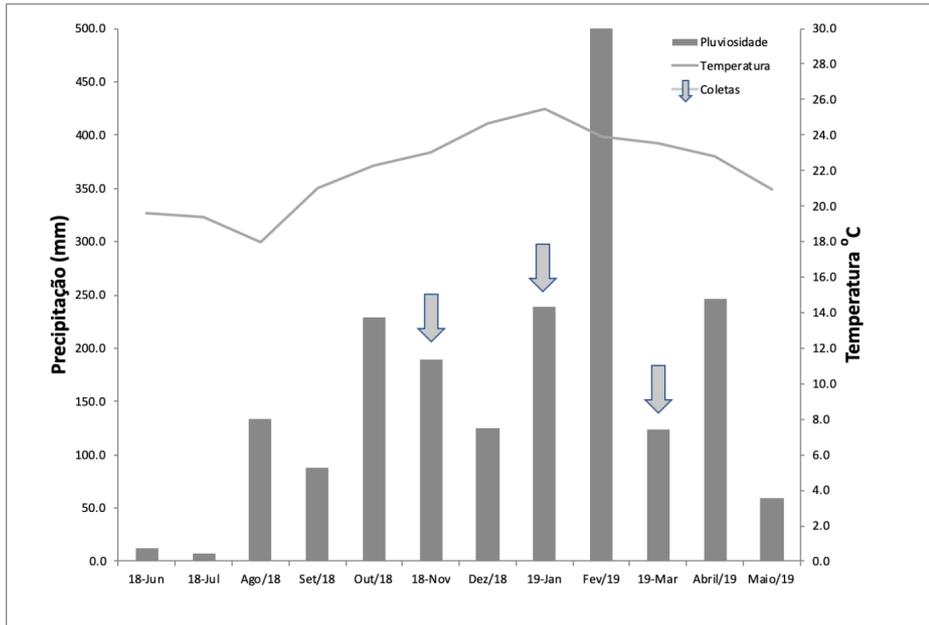


Figura 1. Precipitação média e temperatura média na Estação Climatológica localizada no Centro de Pesquisa Mokiti Okada, Ipeúna – São Paulo.

4.1.2 Caracterização das áreas em estudo

Na safra 2018/2019 todas as áreas foram plantadas no dia 23/10/2018 com o Milho Boliviano AGRI 340, que é um híbrido convencional sem utilização de transgenia, somente cruzamentos, para se enquadrar na lei do orgânico. No período entressafra foi feito o plantio de feijão.

Apesar do presente trabalho avaliar a safra de 2018/2019, o experimento começou na safra de 2017/2018 como parte do projeto temático “Mudanças climáticas e eficiência energética na agricultura: um enfoque em estresse hídrico, manejo orgânico e biologia do solo”, financiado pela FAPESP. Por pertencer a um projeto de maior abrangência, além do presente estudo da comunidade de fungos micorrízicos arbusculares, também foram realizadas pesquisas buscando entender a microbiota fúngica e bacteriana associada aos manejos, além da composição da mesofauna.

Antes do início desse projeto, o manejo natural recebeu apenas entre 1 a 2 Mg.ha⁻¹ de Bokashi, fermentado de farelo de soja, farelo de arroz e torta de mamona (2,5% N; 1% P; 1,5% K), até o ano de 2016. Nos manejos convencional, transição e orgânico foram aplicadas 2 toneladas por hectare de calcário, 200 Kg.ha⁻¹ de enxofre elementar e 500 Kg.ha⁻¹ de fosfato natural reativo em 2015. Em 2016, nos mesmos manejos, aplicaram-se 5 Mg.ha⁻¹ de calcário. Aqui é necessário esclarecer que o sistema de manejo denominado de transição significa que uma área agrícola com

manejo convencional é transformada durante um período de 5 anos para o sistema orgânico, paulatinamente diminuindo, ano a ano, as aplicações características do sistema convencional e instituindo tratamentos típicos do sistema orgânico. Após 5 anos considera-se que foi finalizada a transição. Ainda, Bokashi é um produto de origem japonesa, constituído de grãos fermentados por um certo tempo, e que é aplicado na lavoura não como fertilizante para as plantas, mas como fonte energética para os macro- e microrganismos que vivem abaixo do nível do solo, em interações com as plantas, fazendo parte dos serviços ecossistêmicos.

4.1.2.1 Manejo Orgânico (MO)

O manejo orgânico feito na área segue as recomendações da Lei nº 10.831 de 23 de dezembro de 2003 (BRASIL, 2003). Foram aplicadas 4 Mg.ha⁻¹ de esterco de cama de frango (3% N; 1,5% P; 3% K), que é levemente incorporado com uma grade aradora e depois nivelado com uma grade niveladora - esta aplicação e preparo do solo foi executada 6 dias antes da semeadura. Após 20 dias da semeadura (DAS), a próxima operação foi com o cultivador mecânico, buscando o controle das ervas espontâneas na entrelinha. Após 28 DAS foi feita uma pulverização com o inseticida Tracer, que possui certificação do IDB para uso em agricultura orgânica. A última operação antes da colheita foi a limpeza de manutenção manual (capina) do mato, realizada aos 114 DAS. Essa operação se fez necessária devido à grande dificuldade de controlar as ervas daninhas no cultivo orgânico.

4.1.2.2 Manejo Natural (MN)

O manejo natural feito na área obedece às recomendações da Lei nº número 10.831 de 23 de dezembro de 2003 (BRASIL, 2003) e também segue a agricultura natural idealizada por Mokiti Okada na década de 1930. Diferente do manejo orgânico, o *input* deste manejo é 100% vegetal com 1 Mg.ha⁻¹ de torta de mamona (2,5% N; 1% P; 1,5% K), e 200 Kg.ha⁻¹ de Bokashi (2,5% N; 1% P; 1,5% K), os quais foram levemente incorporados com uma grade aradora e depois nivelados com uma grade niveladora - esta aplicação e preparo do solo foi executada 6 dias antes da semeadura. As operações seguintes foram iguais às do manejo orgânico.

4.1.2.3 Manejo Transição (MT)

O manejo transição busca uma transição lenta do cultivo convencional para o orgânico, para que o sistema solo tenha tempo de se recuperar e se adaptar com a mudança, fornecendo os serviços ecossistêmicos necessários. O controle de pragas é igual ao realizado no convencional. Com uma transição lenta, uma parte da adubação foi adubo mineral, que é gradualmente trocada com o passar das safras por composto orgânico. Foram aplicados 3 Mg.ha⁻¹ de esterco de cama de frango, levemente incorporado com uma grade aradora e depois nivelado com a grade niveladora - esta aplicação e o preparo do solo foram feitos 6 dias antes da semeadura. Na semeadura foram aplicados 500 Kg ha⁻¹ de 04 – 14 – 08 na linha e após 13 DAS foi realizada a aplicação de herbicidas e inseticidas (Atrazina Nortox 500, Soberan, Connect e Assist). A adubação de cobertura foi realizada aos 18 DAS com aplicação de 350 Kg.ha⁻¹ de 20-05-20. A última operação antes da colheita ocorreu aos 20 DAS com a aplicação de Ampligo, Connect e Assist para o controle de insetos.

4.1.2.4 Manejo Convencional (MC)

O manejo convencional tem como principal *input* a adubação mineral e o controle de pragas com inseticidas sintéticos. Esse manejo foi feito sob cultivo mínimo, ou seja, revolvimento do solo só na linha de plantio, porém sem palha suficiente para ser considerado plantio direto. Antes da semeadura foi necessário realizar a dessecação das plantas espontâneas com Roundup, Aurora e Dual Gold, operação que foi feita 16 dias antes da semeadura. Na semeadura foram aplicados 500 Kg.ha⁻¹ de 08 – 30 – 10 na linha. 13 DAS foi realizada a aplicação de herbicidas e inseticidas (Atrazina Nortox 500, Soberan, Connect e Assist). A adubação de cobertura foi realizada 18 DAS com aplicação de 500 Kg.ha⁻¹ de 20-05-20. A última operação antes da colheita ocorreu 20 DAS com a aplicação de Ampligo, Connect e Assist para o controle de insetos.

4.1.3 Estádios Fenológicos e Amostragem

Para entender as flutuações temporais durante o crescimento do milho, as amostragens do solo foram feitas em dois estádios fenológicos do milho, V4/V5 (22 DAS), R1 (77 DAS) e cinco dias após a colheita (143 DAS). Foram instaladas 4 parcelas em cada área experimental, com aproximadamente 17 m². Em cada parcela foi coletada uma amostra composta de solo (6 subamostras) na camada 0-10 cm. Para as amostras vegetais foram coletadas 4 plantas em cada parcela, que formaram uma composta, tanto parte aérea quanto sistema radicular, na profundidade de 0-10 cm.

As amostras de solo foram peneiradas (0.2 mm) e separadas para análises químicas, biológicas (armazenadas em câmara fria) e moleculares (armazenadas no freezer -80°C).

As partes aéreas do milho foram acondicionadas em sacos de papel e colocadas para secar à 45°C até estabilização do peso. As raízes foram lavadas em água destilada até a remoção total de qualquer partícula de solo e foram separadas para quantificação da colonização micorrízica (armazenadas em álcool 70%) e para análises moleculares (armazenadas no freezer -80°C). Ao final do experimento os grãos da parcela experimental foram colhidos para quantificar a produtividade.

4.1.4 Quantificação e identificação dos esporos de FMA

Cinquenta gramas de solo seco ao ar foram agitados no liquidificador com água durante 15 segundos para a desestruturação do solo. A suspensão resultante passou por duas peneiras sobrepostas, a primeira de 0.71 mm para reter os materiais mais grosseiros e a segunda de 0.045 mm para reter os esporos, algumas partículas de solo e resíduos vegetais pequenos (GERDEMANN; NICOLSON, 1963). Para separar o solo restante dos esporos foi empregado o método de centrifugação em líquido de diferentes densidades. Para tanto, o material retido na última peneira foi transferido para um tubo de centrífuga com solução de sacarose 70% e centrifugado durante 3 minutos a 3000 rpm e o sobrenadante, contendo os esporos, passou novamente pela peneira de menor malha, lavando-se com água abundante para retirar a sacarose utilizada (Jenkins, 1964). Os esporos então foram contados em vidro de relógio com o auxílio de uma lupa (40x), separados em grupos de semelhança e transferidos a uma lâmina semipermanente com solução de polivinil lactoglicerol (PVLG) e reagente de Melzer (MORTON, 1988). Os esporos foram identificados

utilizando um microscópio para visualizar as estruturas, que foram comparadas com as descrições da literatura no Manual para Identificação de Fungos Micorrízicos Vesículo-arbusculares (SCHENCK; PÉREZ, 1990), as descrições da International Culture Collection of (Vesicular) Arbuscular Mycorrhizal Fungi (INVAM) e descrições de esporos encontradas na literatura.

4.1.5 Avaliação de raízes colonizadas por FMA

As raízes amostradas foram clareadas colocando-as em um tubo de centrífuga e cobrindo-as com KOH 10%, sendo aquecidas em banho-maria a 90 °C por 60 minutos. Depois do resfriamento, o KOH foi descartado e as raízes lavadas em água corrente. Após a descoloração das raízes, as estruturas internas dos FMA foram coloridas, e para tanto as raízes foram submersas em corante (Tinta Parker Quink Azul Lavável) e deixadas durante 1 minuto em banho-maria a 90 °C. Finalmente, com as raízes já coloridas, a solução corante foi descartada, e as raízes estocadas em solução de ácido láctico, glicerina e água (1:1:1) (VIERHEILIG *et al.*, 1999). Para avaliar a taxa de colonização das raízes, foram montadas lâminas com 60 fragmentos com aproximadamente meia polegada cada. Posteriormente foram analisadas ao microscópio (GIOVANNETTI, MOSSE, 1980).

4.1.6 Atividade Enzimática do Solo

Para medir a atividade da β -D-Glucosidase (BD) 1 g de solo previamente pesado foi incubado com 4 mL do tampão MUB (Modified Universal Buffer) pH 6.0 e 1 mL da solução de PNG (p-Nitrofenil- β -D-glucosídeo, 50 mM), a 37°C, por 1 hora. Após esse período, adicionaram-se 1 mL de CaCl₂ (0.5 M) e 4 mL do tampão THAM (0.1 M), pH 12. Então as amostras foram homogeneizadas, filtradas e avaliadas em espectrofotômetro a uma absorvância de 420 nm. Para determinar a cor derivada do solo e não da atividade da β -D-Glucosidase faz-se o controle que difere apenas na solução do PNG que é adicionada após a incubação (EIVAZI, TABATABAI, 1988).

A atividade da fosfatase ácida e alcalina foi determinada incubando 1 grama de solo com 4 mL de MUB (pH 6.5 para ácida e pH 11 para alcalina) e 1 mL de p-nitrofenol-fosfatase (PNF) 0.05 M por uma hora a 37°C. Após o período de incubação os controles receberam 1 mL de PNF, e foi adicionado em todos 1 mL de CaCl₂ e 4 mL de NaOH 0.5 M. Para determinar a cor que é do solo e não da atividade dessas

enzimas as amostras controles foram feitas da mesma maneira, sendo a única diferença que o PNF foi adicionado após a incubação. As amostras foram homogeneizadas, filtradas e lidas em espectrofotômetro 420 nm (TABATABAI, 1994).

4.1.7 Análise Químicas do Solo e Parte Aérea da Planta

A caracterização química do solo foi realizada segundo a metodologia proposta por Raij *et al.* (2001). Para a análise química das plantas, a parte aérea total seca foi moída e submetida à metodologia descrita por Malavolta *et al.* (1997).

4.1.8 Fracionamento do Fósforo (P)

0.5 g de solo previamente seco foi pesado e extraído sequencialmente (Tabela 2) segundo Hedley; Stewart e Chauhan (1982), com modificação de (CONDRON; GOH; NEWMAN, 1985). Nas primeiras cinco etapas, a suspensão foi agitada por 16 horas a 33 rpm. Para a sexta, o solo remanescente foi seco a 50 °C e macerado, para então se pesar 0.1 g que foi digerido para a extração do P residual (BROOKES; POWLSON; JENKINSON, 1982). Para a quantificação das frações, a inorgânica foi determinada diretamente do extrato, enquanto a orgânica foi pela diferença entre a respectiva fração inorgânica e o P total das frações, determinadas após a extração com $[(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8]$ e H_2SO_4 em autoclave por duas horas (KOPP, MCKEE, 1979).

Tabela 2. Extratores e respectivas frações da extração sequencial do fósforo.

Etapas	Extrator	Fração
1	Resina	Lábil
2	NaHCO_3 0,5 mol L ⁻¹	Lábil
3	NaOH 0,1 mol L ⁻¹	Moderadamente Lábil
4	HCl 1 mol L ⁻¹	Moderadamente Lábil
5	NaOH 0,5 mol L ⁻¹	Não Lábil
6	$\text{H}_2\text{SO}_4 + \text{H}_2\text{O} + \text{MgCl}_2$	Não Lábil

4.1.9 Extração de DNA das amostras de solo e raízes

Foram utilizadas 400 mg de cada amostra de solo e raiz para a extração do DNA genômico. A extração foi executada com o kit UltraClean™ Soil DNA Isolation KIT (MoBio, Carlsbad, EUA) para as amostras de solo e o kit UltraClean™ Plant DNA

Isolation Kit (MoBio, Carlsbad, EUA) para as amostras de raízes. As duas extrações foram realizadas seguindo as instruções do fabricante.

Para confirmação da extração, 5 µL da amostra do DNA genômico foram coradas com Gel RED™ (0.5 µg mL⁻¹) e aplicados em um gel de agarose 1.5% com buffer TAE 1x [40 mM Tris, 20 mM de ácido acético e 1 mM EDTA) para eletroforese. Por fim, o gel foi visualizado e foto-documentado em um transiluminador sob luz ultravioleta (DNR – Bio Imaging Systems/MiniBis Pro).

4.1.10 Sequenciamento da Comunidade de FMA

Buscando otimizar o sequenciamento das comunidades de fungos micorrízicos, foi feita uma reação “nested” para aumentar a efetividade do sequenciamento (Van geel *et al.*, 2014).

A primeira reação foi feita utilizando os *primers* NS31 (5'-TTGGAGGGCAAGTCTGGTGCC-3') (SIMON *et al.*, 1992) e reverse AML2 (5'-GAACCCAAACACTTTGGTTTCC-3') (LEE *et al.*, 2008). Para a segunda reação os *primers* utilizados foram o AMV4.5NF (5'- AAGCTCGTAGTTGAATTTTCG -3') e AMDGR (5'- CCAACTATCCCTATTAATCAT-3') (SATO *et al.*, 2005). No segundo conjunto de primers foram inseridos os pré-adaptadores para posterior ligação dos barcodes.

As reações de PCR foram feitas para um volume total de 25 uL onde 2,35 uL PCR buffer, 1,18 uL MgCl₂ (2,50 mM), 0,09 uL de BSA (0,20 mg.mL), 1,88 uL de dNTP's (0,20 mM), 0,05 uL de cada primer (0,10 pmol.uL) e 0,24 uL da Taq Platinum (0,05 U.uL) e 1uL de DNA genômico, para a primeira reação. A segunda reação foi idêntica à primeira, com exceção da ausência de BSA e o DNA ser proveniente da primeira reação que foi purificado com o kit ChargeSwitch PCR Clean-Up (Thermo Fischer) segundo as recomendações do fabricante.

O programa para a primeira reação foi um ciclo de 94 °C por 2 minutos, 33 ciclos de 30 segundos a 94 °C, 30 segundos a 65 °C e 40 segundos a 72 °C, seguido por uma elongação final de 72 °C por 10 minutos. A segunda foi idêntica à primeira, com exceção do número de ciclos (28) e a temperatura de anelamento (58 °C).

Subsequente à segunda PCR foram adicionados os *barcodes* Nextera (Illumina®) *forward* e *reverse* seguindo as instruções do fabricante. O material obtido foi submetido ao sequenciamento na plataforma MiSeq (Illumina®) utilizando-se o kit V3.

4.2 Análise Estatística

O delineamento utilizado foi o delineamento inteiramente aleatório. Os dados primeiramente foram submetidos ao teste de normalidade de *Shapiro-Wilk* seguido pelo teste de homogeneidade da variância de *Bartlett*. Cumprindo os critérios de normalidade e homogeneidade, a análise da variância (ANOVA) foi feita e quando o F era significativo o teste de *Tukey* foi aplicado, com a diferença mínima significativa em 10%. Para as análises utilizou-se o pacote *ExpDes* e o *RStudio* 1.2.1335 (R CORE TEAM, 2019).

Com os esporos resultantes da extração o número total de esporos foi calculado, assim como verificado o percentual de cada espécie. Riqueza de espécies (R), determinada pelo número de espécies contidas em 50 g de solo e Índice de diversidade de *Shannon* (H) [$H = -\sum (\pi \log \pi)$], no qual $\pi = n_i / N$ e n_i = número de esporos de cada espécie de fungo micorrízico arbuscular e N = número total de espécies (MAGURRAN, 1988). O Índice de diversidade de Simpson [$= -\sum p_i^2$], onde p_i é a proporção de espécies. (MAGURRAN, 1988)

Antes da análise de bioinformática dos dados do sequenciamento foi realizada a remoção dos *primers forward* e *reverse* com a ferramenta *Cutadapt* (MARTIN, 2011). Os seguintes passos foram feitos no QIIME 1.9.1 (CAPORASO *et al.*, 2010). Primeiro as leituras *forward* e *reverse* foram montadas utilizando o comando "*multiple_join_paired_ends.py*" para então ser montada a compilada em um único arquivo *fasta* com o comando "*multiple_split_libraries.py*", utilizando um filtro de qualidade de 20. Para a formação de UTO o algoritmo SUMACLUST foi usado. A atribuição da taxonomia foi realizada utilizando o comando "*assign_taxonomy.py*" utilizando como referência a base de dados *MaarjAM* (ÖPIK *et al.*, 2010). O próximo passo foi a confecção da tabela de UTO com o comando "*make_otu_table.py*" e dessas foram removidos os *singleton* ("*filter_otus_from_otu_table.py*") as sequências então foram alinhadas ("*parallel_align_seqs_pynest.py*") e filtradas ("*filter_alignment.py*") e finalmente a árvore filogenética dos dados foi montada ("*make_phylogeny.py*"). A tabela de UTO foi exportada para análise no *RStudio* 1.2.1335 (R CORE TEAM, 2019) com o pacote *Phyloseq* (MCMURDIE; HOLMES, 2013). A relação das variáveis ambientais com a comunidade de FMA foi examinada por análise de redundância baseada em distância (dbRDA) com o auxílio do pacote *Vegan*.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1.1 análise Química do Solo

O pH do solo é um dos fatores que influencia a produção agrícola, disponibilização de elementos no solo (LUCAS; DAVIS, 1961) e na dinâmica da comunidade microbiana do solo (CARDOSO; ANDREOTE, 2016). Os dados na análise química do campo (Tabela 3) mostram que o MC obteve valores muito ácidos para a cultura do milho, que devido ao melhoramento genético possui uma faixa de pH do solo ideal entre 5.8 e 7 (ESPINOZA; ROSS, 2003), diferentemente dos outros manejos mostraram um pH do solo dentro da faixa ideal.

Apesar do solo possuir valores de pH baixos (4.7), o sistema de manejo convencional mostrou aproximadamente 50% de saturação de bases (V%), que é indicada para o cultivo do milho na faixa de 50 a 60% (COELHO; DE REZENDE, 2011). Entretanto, estudando a reposta em diferentes cultivares, Prado (2001) observou que as cultivares de milho reagiram diferentemente frente à V% do solo, porém tendendo para maiores rendimentos de grãos no teor de 65% do que no de 45%.

Em solos com baixos teores de cálcio e magnésio, a calagem, além de aumentar o pH, também fornece Ca e Mg (VERGÜTZ; NOVAIS, 2015). Apesar da calagem ter sido realizada na área do cultivo MC, não foi suficiente para elevar o pH do solo e liberar Ca e Mg. O MC apresentou uma relação Ca/Mg de 2/1, abaixo da recomendada, que deve estar entre 3/1 e 4/1 (VERGÜTZ; NOVAIS, 2015). O MN, assim como o MC, também não apresentou uma relação Ca/Mg ideal. Essa relação muito baixa nesse manejo deve estar relacionada aos altos valores desses nutrientes no solo (Tabela 3), especialmente aos teores de Mg. O desequilíbrio dessas relações de nutrientes no solo pode levar a uma competição na absorção desses nutrientes, devido a uma relação antagônica dos cátions (MORTVEDT; KHASAWNEH, 1986), o que pode induzir deficiências dos nutrientes menos favorecidos.

Apesar do MN não ter recebido nenhuma prática para corrigir o pH do solo, os valores apresentados foram elevados. Estudos prévios demonstraram que a acidez do solo tende a diminuir em plantios orgânicos, principalmente por dois fatores, o não uso de adubos nitrogenados minerais, o que leva a uma entrada de prótons na planta,

e pelo aumento da concentração de cátions no solo (CLARK *et al.*, 1998; SUJA *et al.*, 2017).

O comportamento dos teores de nitrogênio total (Figura 2) no solo foi semelhante em todos os manejos, apesar dos seus valores diferirem. Todos os tratamentos tiveram a maior média significativa no estágio V4 com uma queda no R1 que praticamente se estabilizou até a colheita. Entre os tratamentos é possível observar no V4 que o MC mostrava a maior média, seguida do MT e com MO e MN com as menores médias. Isso deve ter sido ocasionado pelo tipo de adubação, no qual os manejos que receberam adubação mineral têm um *input* de nitrogênio muito maior do que os que tiveram adubação orgânica (MAEDER *et al.*, 2002).

No estágio R1, o MT se aproxima ao de MO e MN nos teores de nitrogênio do solo, mas o MC, apesar da perda, ainda possui a maior média. Após a colheita, entretanto, os teores de nitrogênio do solo não mostraram diferença estatística significativa entre os tratamentos. Os menores teores de N no solo, no final do ciclo, podem indicar que o nutriente foi absorvido pela planta, que perdas desse nutriente ocorreram por volatilização ou lixiviação ou ainda, que o N foi compartimentalizado para a biomassa. Diversos estudos demonstram que a perda de nitrogênio é maior em plantios convencionais do que em orgânicos, principalmente devido ao alto *input* de N realizado (POUDEL *et al.*, 2002; SCHRAMA *et al.*, 2018). Mesmo em cultivos com adubação mineral complementada com orgânica as perdas são maiores do que nos orgânicos puros, porém menores do que nos convencionais (PLOŠEK *et al.*, 2017), corroborando os dados desse trabalho.

As perdas de nitrogênio em todos os tipos de manejo, em especial no MC e MT, demonstram a necessidade de mais estudos e técnicas para melhorar a eficiência do uso dos nutrientes, em especial do nitrogênio (HIREL *et al.*, 2011). Nos manejos com *inputs* orgânicos, a qualidade do resíduo deve ser considerada. Para resíduos de baixa qualidade pode-se utilizar uma complementação mineral e resíduos de alta qualidade devem ser aplicados sozinhos (GENTILE *et al.*, 2008), otimizando a utilização do N para a cultura e diminuindo as perdas e as contaminações ambientais.

Os resultados do P inorgânico lábil (Figura 3) indicam uma queda muito acentuada na disponibilidade desse nutriente no MC. Apesar de ter as maiores médias no V4 e R1, com as quedas subsequentes, os níveis de P inorgânico lábil se igualam estatisticamente no PC e nos orgânicos. O MT também teve uma queda entre o V4 e R1, porém os teores se estabilizaram até o equivalente ao PC, obtendo a maior média

entre os tratamentos. O MN demonstrou comportamento parecido com o MT, porém com médias significativamente menores. Não demonstrando diferença significativa entre os estádios fenológicos, o MO obteve médias similares aos do MN que, por sua vez, foram mais baixas do que no MC e MT, respectivamente (estatística completa do fracionamento de fósforo no apêndice C).

Apesar de não ter a maior média numérica, tanto no fósforo orgânico como no inorgânico, o MO não diferiu estatisticamente em nenhuma fração (lábil, moderadamente lábil e não lábil) entre as épocas de amostragem, demonstrando uma estabilização no suprimento deste nutriente para a cultura. O uso de compostos orgânicos preconiza uma ciclagem do P mais eficiente, evitando perdas e transformações do P para formas mais estáveis e menos disponíveis (Xavier *et al.*, 2009). O MN não diferiu nas concentrações de fósforo orgânico entre os períodos de amostragem, entretanto o inorgânico obteve uma queda significativa nas frações lábil e não lábil entre os dois primeiros estádios fenológicos para uma posterior estabilização. Os cultivos orgânicos (MO e MN) diferem no *input* fornecido (composto de cama de frango e torta de mamona com bokashi). Uma maior disponibilidade de nutrientes no V4 no MN indica que a torta de mamona se decompôs com maior velocidade do que o composto, liberando e disponibilizando os nutrientes com maior velocidade do que o composto (SEVERINO *et al.*, 2005), que possui formas de carbono mais estáveis.

A perda expressiva do P inorgânico no MC está relacionada à alta concentração desse elemento no solo, o que aumenta a probabilidade de perda por erosão e escoamento superficial em solos mais argilosos (NOVAIS; SMYTH; NUNES, 2007). No estágio V4 temos uma concentração muito alta de P na fração lábil, e esse elemento foi se perdendo do sistema nos estádios posteriores, visto que não foi reparticionado para qualquer outra fração (Figura 3). As altas concentrações somadas à aplicação de cobertura (não incorporada) favorecem a perda desse nutriente (TARKALSON; MIKKELSEN, 2004)

O sistema de cultivo sem revolvimento do solo é atualmente apresentado como solução para a erosão e degradação do solo, porém, para a obtenção do efeito desejado, ela deve ser utilizada com outras práticas, como o uso de cobertura morta, alcançando um efeito protecionista mais eficiente (BERTOL *et al.*, 2007), pois aumenta a cobertura vegetal morta, que diminui o impacto da gota d'água e o escoamento superficial (BRAIDA; CASSOL, 1999), além de evitar as perdas de

nutrientes por lixiviação (BERTOL *et al.*, 2007). Em nosso experimento o sistema de cultivo mínimo utilizado no MC não possuía a cobertura de solo necessária para evitar os danos causados pelas intempéries ambientais, especialmente a chuva, apesar do uso de terraços e curvas de níveis, o que pode ajudar a explicar as perdas dos nutrientes supracitados, especialmente por escoamento superficial, que, além do P inorgânico lábil, também perdeu o P orgânico, indicando a perda de partículas do solo.

Em todos os tratamentos, a fração de P não lábil não diferiu significativamente entre as épocas de coleta com exceção da fração orgânica não lábil no MC onde ocorreu uma queda significativa sucessiva entre as épocas de amostragem. A fração não lábil é predominante em solos tropicais na fração inorgânica tornando a fração orgânica importante para a disponibilização de fósforo devido às condições climáticas que favorecem a atividade microbiana (TIESSEN, 2005). A fração orgânica lábil sofreu um aumento estatisticamente significativa nos tratamentos MC e MT do estágio V4 para o R1 e para o PC indicando a necessidade do suprimento da cultura com o fósforo orgânico, visto a queda do inorgânico, ou seja, o fósforo foi reparticionado. Os tratamentos MN e MO não apresentaram diferença significativa em nenhuma fração, evidenciando uma ciclagem eficiente do nutriente P (XAVIER *et al.*, 2009), o que também é evidenciado na maior estabilidade das enzimas fosfatase ácida e alcalina nos tratamentos MN e MO (Fig. 4).

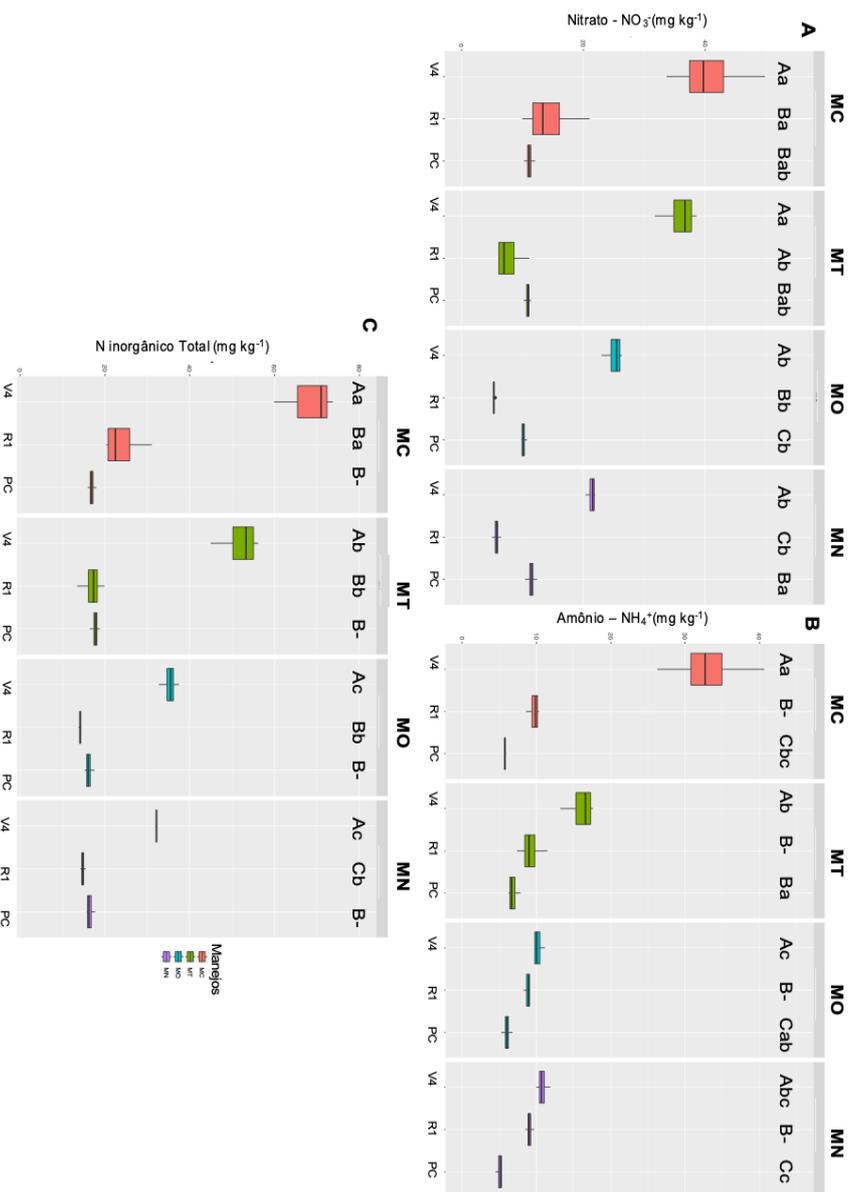


Figura 2. Teores de (A) Nitrato, (B) Amônio e (C) Nitrogênio Inorgânico Total (Nitrito + Amônio) nos manejos convencional (MC), transição (MT), orgânico (MO) e natural (MN) para os estádios fenológicos vegetativo 4 (V4), reprodutivo 1 (R1) e pós-colheita (PC). Letras maiúsculas compararam os estádios fenológicos dentro do mesmo tratamento e as minúsculas os estádios fenológicos entre os tratamentos ($p \leq 0.1$). (“-”) Representa ausência de diferença significativa.

Tabela 3. Médias dos atributos químicos encontrados no solo. Letras maiúsculas comparam os estádios fenológicos dentro do mesmo tratamento e as minúsculas o mesmo estádio fenológico entre os tratamentos ($p \leq 0.1$). “-” Representa ausência de diferença estatística significativas.

Manejo	pH	MO g.dm ⁻³	P mg.dm ⁻³	K	Ca	Mg mmolc.dm ⁻³	Al	H+Al	SB	CTC	V%											
MC V4	4.7	-c	28.5	A-	66.9	Aa	8.1	Ba	36.0	Ac	17.0	-b	2.5	-	49.8	-a	61.1	Ac	110	-b	55.3	-b
MC R1	4.7	-b	25.5	B-	38.5	Ba	8.5	ABa	29.3	ABb	13.5	-v	3.0	-	49.5	-a	51.3	ABb	100	-ab	50.8	-b
MC PC	4.7	-b	30.3	Aa	9.5	Cb	10.3	Aa	24.5	Bb	12.3	-v	3.0	-	51.0	-a	47.0	Bc	98	-ab	48.0	-b
MT V4	5.6	-b	28.3	--	34.0	Ab	8.5	Aa	70.0	-a	24.0	Ab	0.0	-	26.5	-b	102.5	Aa	129	Aa	79.3	-a
MT R1	5.6	-a	24.8	--	21.4	Bb	6.9	Ba	56.3	-a	18.5	Bb	0.0	-	27.3	-b	81.7	Ba	109	Ba	74.5	-a
MT PC	5.7	-a	26.0	-ab	15.1	Ba	6.6	Bb	57.5	-a	18.8	Bb	0.0	-	25.0	-b	82.9	Bab	108	Ba	76.8	-a
MO V4	5.9	-a	26.5	--	12.2	-c	6.2	Ab	56.0	Ab	18.0	Aa	0.0	-	20.0	-b	80.2	Ab	100	Ab	80.0	-a
MO R1	5.9	-a	24.8	--	10.0	-c	4.5	Bb	50.5	Aba	16.3	ABb	0.0	-	21.0	-c	71.2	Aba	92	ABb	77.3	-a
MO PC	5.9	-a	25.5	-b	8.7	-b	5.0	Bbc	46.0	Ba	14.3	Bbc	0.0	-	22.0	-b	65.3	Bb	87	Bb	74.5	-a
MN V4	5.8	-	26.8	A-	13.3	Ac	4.8	-b	58.3	-ab	25.5	-a	0.0	-	20.5	-b	88.6	-ab	109	-b	81.0	-a
MN R1	5.9	-a	24.3	B-	9.8	Bc	4.5	-b	55.0	-a	26.0	-a	0.0	-	21.5	-c	85.5	-a	107	-ab	79.8	-a
MN PC	5.9	-a	27.3	Aab	10.4	Bb	4.5	-c	51.5	-a	27.8	-a	0.0	-	20.5	-b	83.7	-a	104	-a	80.0	-a

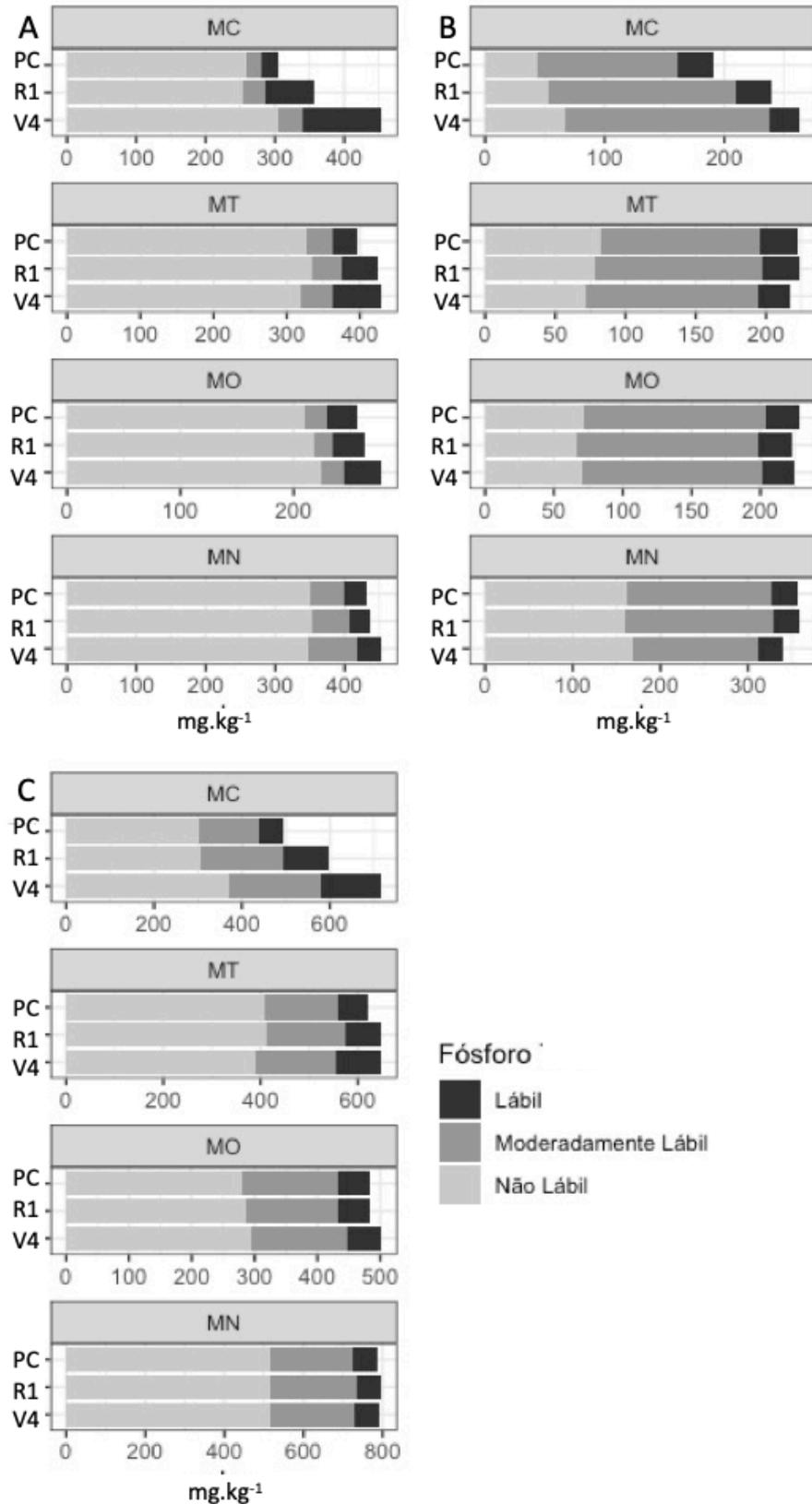


Figura 3. Teores de (A) Fósforo Inorgânico, (B) Fosforo Orgânico e (C) Fósforo Total (Inorgânico + Orgânico) nos manejos convencional (MC), transição (MT), orgânico (MO) e natural (MN) para os estádios fenológicos vegetativo 4 (V4), reprodutivo 1 (R1) e pós-colheita (PC).

5.2 Atividade Enzimática do Solo

As enzimas do solo, em sua grande maioria, são sintetizadas pelos microrganismos e plantas presentes no ambiente e desempenham um papel fundamental para a ciclagem de nutrientes (ANDREOTE; CARDOSO, 2016). Estas podem atuar dentro da célula (endoenzimas), quando o substrato pode ser absorvido pelo microrganismo devido ao seu baixo peso molecular, ou fora da célula (exoenzimas), quando têm um peso molecular muito grande (BALOTA et al., 2013), como as fosfatases (MARGON; FORNASIER, 2008). Além de que muitas enzimas são excretadas pelas células que as produzem, muitas delas também ficam livres no solo quando o organismo produtor morre e se decompõe no solo.

Apesar das enzimas estudadas nesse trabalho não apresentarem sempre uma constante de mudanças frente aos estádios fenológicos, diferindo por manejo, enfatiza-se a necessidade das coletas temporais que, neste trabalho, foram feitas por estádios fenológicos, para entender a variação dessas enzimas temporalmente (GARCÍA-RUIZ *et al.*, 2009).

Quando comparado dentro do manejo, ou seja, entre estádios fenológicos, a beta-glucosidase apresentou o mesmo comportamento em quase todos os tratamentos, sendo maior no período pós-colheita e menor no estágio V4, com exceção do tratamento MO, em que a menor média foi encontrada no período R1.

A comparação entre os tratamentos evidenciou que o estágio V4 mostrou maior atividade enzimática da beta-glucosidase no MN e MO, seguido pelo MC e por último o MT. No estágio R1 o MN continuou com a maior atividade, porém o MO se equiparou com o MC, sendo estes os tratamentos com menores expressões nesse estágio fenológico. No pós-colheita o MN continuou com a maior média significativa de todos os tratamentos, porém existiu um aumento expressivo na atividade no MC e MT, se equiparando ao MO. O MN apresentou uma maior atividade desta enzima, corroborando o tipo de *input* utilizado. Produtos de origem vegetal estimulam a atividade da beta-glucosidase, pois possuem uma concentração mais elevada de glicosídeos (UTOBO; TEWARI, 2015), por isso também estão relacionados com a etapa final da quebra da celulose, quebrando uma molécula intermediária em glucose, que será utilizada pelos microrganismos como fonte de carbono (SINGHANIA *et al.*, 2013). A atividade que a enzima desempenha na degradação vegetal explica o aumento da atividade da beta-glucosidase em todos os tratamentos no final do ciclo,

com o incremento da massa vegetal morta, ocorre um acúmulo de substratos para a enzima que conseqüentemente aumenta sua atividade.

Apesar do manejo transição receber uma parcela de adubação orgânica, o que deveria aumentar a atividade de beta-glucosidase, ela não foi tão alta quanto no convencional. Provavelmente a diferença significativa apresentada ocorra devido ao revolvimento no solo, que não foi feito no convencional, favorecendo a atividade da enzima (PANDEY; AGRAWAL; BOHRA, 2014).

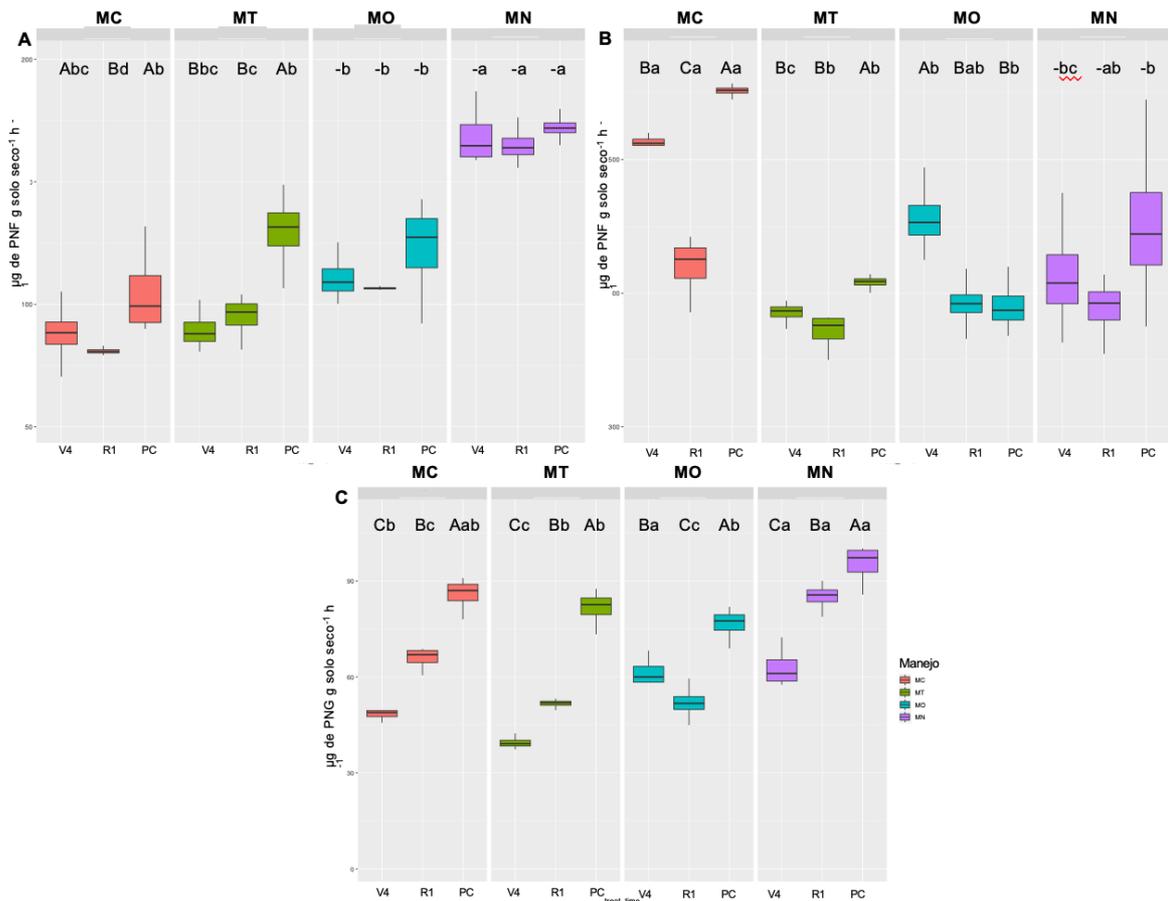


Figura 4. Atividade enzimática da (A) Fosfatase Alcalina, (B) Fosfatase Ácida e (C) Beta-glucosidase nos manejos convencional (MC), transição (MT), orgânico (MO) e natural (MN) para os estádios fenológicos vegetativo 4 (V4), reprodutivo 1 (R1) e pós-colheita (PC). Letras maiúsculas comparam os estádios fenológicos dentro do mesmo tratamento e minúsculas os estádios fenológicos entre os tratamentos ($p \leq 0.1$). (“-”) Representa ausência de diferença significativa.

Em todos os tipos de manejo, como era esperado, a fosfatase ácida apresentou maiores valores do que a fosfatase alcalina, devido ao baixo pH do solo (EIVAZI; TABATABAI, 1977). A Figura 4 mostra que a expressão da fosfatase ácida no MC é a proeminente entre todos os tratamentos, enquanto a alcalina, no mesmo tratamento

apresenta as menores médias, relacionada principalmente ao pH mais baixo encontrado nesse manejo. A fosfatase alcalina é fortemente inibida pela fertilização fosfatada, porém a atividade da fosfatase ácida não (SPOHN; KUZUYAKOV, 2013) explica sozinha a elevada atividade no MC, mesmo com a adubação fosfatada elevada.

O aumento da atividade das fosfatases no MT e MC no final do ciclo está relacionada à queda da concentração do P inorgânico no solo (Figura 3) (YU *et al.*, 2006). Esse aumento no MT se equipara estatisticamente ao MO no R1 após ter as menores médias no V4 junto com o MC. Diferentemente o MO apresentou uma queda na produção da fosfatase ácida com a evolução do ciclo do milho, apresentando uma maior atividade da fosfatase ácida no V4 para posterior queda significativa no R1 e estabilização até a colheita, o que pode indicar uma maior atividade microbiana devido a aplicação do esterco de cama de frango. Porém, a fosfatase alcalina não apresentou diferença significativa entre as épocas de coleta no MO.

O MN não diferiu significativamente entre as épocas de coleta nas duas fosfatases estudadas, apresentando uma estabilização e continuidade para suprir o elemento P para as plantas e microrganismos. Apesar de ter uma queda significativa na concentração de P inorgânico lábil do V4 para o R1 (Figura 3), ocorreu uma estabilização desse elemento no solo até o fim da cultura.

A atividade das fosfatases é largamente avaliada em diversos trabalhos, indicando que a utilização de fertilizantes orgânicos favorece a atividade dessa enzima (MARINARI *et al.*; 2006, CHANG; CHUNG; TSAI, 2007; GARCÍA-RUIZ *et al.*, 2008). Diferente da adubação fosfatada inorgânica, a orgânica não altera a afinidade da enzima com o substrato (SAHA *et al.*, 2008). Porém, os valores de atividade diferem frente ao tipo de adubo orgânico utilizado (KRISHNAKUMAR *et al.*, 2005), evidenciando a necessidade de entender cada substrato unitariamente, além de sua dose que, se for muito baixa, pode não ter o efeito biológico desejado no solo (ALBIACH *et al.*, 2000).

Esse trabalho, assim como os outros supracitados que buscam entender o efeito da agricultura orgânica nas atividades biológicas do solo, com ênfase nas enzimas, evidenciando a necessidade de estudar o efeito dos diferentes tipos de resíduos orgânicos, envolvendo dose e frequência, sobre a microbiota e suas funcionalidades.

5.3 Colonização Radicular dos Fungos Micorrízicos Arbusculares

A colonização por FMA (Figura 5), no estágio V4, foi maior no MC e MT seguido por MO e MN, porém no estágio R1 não houve diferença significativa nos tratamentos, indicando uma colonização mais tardia nos cultivos orgânicos. Não houve diferença significativa entre o estágio V4 e R1 para os MC e MT, porém o MN e MO obtiveram um aumento significativo entre os estádios fenológicos.

A colonização por FMA e sua relação com o teor de fósforo no solo tem sido largamente estudada, demonstrando uma influência negativa na simbiose em diversos hospedeiros quando os teores de P no solo são elevados (ANTUNES; CARDOSO, 1991; NOGUEIRA; CARDOSO, 2000; NOGUEIRA; CARDOSO, 2006). Entretanto, apesar da quantidade de fósforo no solo (Figura 3), no estágio V4, ser mais elevada no MC e MT, estes apresentaram uma maior taxa de colonização por FMA no primeiro estágio fenológico analisado.

A diferença na velocidade de colonização pode indicar estratégias empregadas distintamente pelas espécies, onde algumas colonizam preferencialmente a planta e pouco o solo e outras colonizam pouco a planta, porém a colonização do solo por hifas é maior (HART; READER, 2002). Além do efeito da simbiose micorrízica variar entre espécies de FMA frente as variações edafo-climáticas (LAMBAIS; CARDOSO, 1993), demonstrando que não apenas o índice de colonização é importante, mas seu efeito total sobre a planta.

As concentrações de P na parte aérea são normalmente maiores em plantas colonizadas do que não colonizadas por FMA, mesmo com baixas concentrações de P no solo, indicando uma maior absorção desse elemento pela planta (MELLONI *et al.*, 2000) pois as micorrizas exploram uma maior área de solo (KLIRONOMOS *et al.*, 2000). Todavia, quando a concentração de P no solo e nas hifas é alta, a planta prioriza a absorção radicular frente à absorção via FMA, visto que o gasto energético é menor, inibindo os transportadores de fosfato das FMA (NAGY *et al.*, 2009). As maiores colonizações no MC e MT (Figura 5) mesmo com alto teores de P inorgânico disponíveis no solo (Figura 3), podem indicar que as espécies que estão em simbiose com a planta, devido à velocidade e robustez da colonização, tenham caráter mais parasítico, ou seja, a simbiose não é eficiente para a absorção de P e outros nutrientes do solo, porém a planta ainda precisa suprir o fungo com fontes de carbono.

A colonização mais tardia nos cultivos orgânicos não demonstra nenhum prejuízo nutricional para a cultura no estágio R1. Os valores médios dos teores nutricionais foliares por planta (Tabela 4) demonstram que apesar de ter médias significativas menores no V5, os cultivos MO e MN se igualaram ou ultrapassaram os cultivos MC e MT, não apresentando prejuízo. A absorção relativa V5 é baixa, quando comparada com o ciclo inteiro, enquanto no estágio R1 a cultura absorveu mais da metade do P e quase todo o N utilizado no ciclo (ESPINOZA; ROSS, 2003).

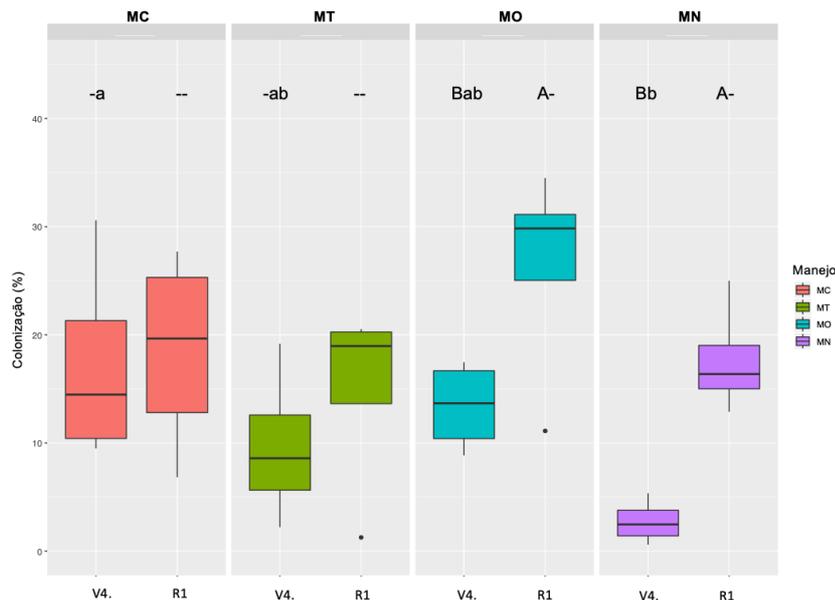


Figura 5. Colonização micorrízica (%) nos manejos convencional (MC), transição (MT), orgânico (MO) e natural (MN) para os estádios fenológicos vegetativo 4 (V4) e reprodutivo 1 (R1). Letras maiúscula comparam os estádios fenológicos dentro do mesmo tratamento e minúsculas os estádios fenológicos entre os tratamentos ($p \leq 0.1$). (“-”) Representa ausência de diferença significativa.

Diferente deste trabalho, estudos analisando a colonização micorrízica em diferentes tipos de manejo apresentaram maior colonização nos sistemas orgânicos frente aos convencionais (MÄDER *et al.*, 2000; OEHL *et al.*, 2004 e SMUKLER *et al.*, 2008).

Plantas avaliadas em manejos orgânicos e convencionas com os mesmos teores de nutrientes, foram mais sucedidas nos manejos orgânicos, demonstrando um maior benefício para a planta colonizada em plantios mesmo com menores *inputs* (KAHILUOTO; KETOJA; VESTBERG, 2012), indicando que a colonização micorrízica possui efeitos benéficos além da absorção de nutrientes. Além do teor nutricional do solo, diversos outros fatores precisam ser entendidos para elucidar o funcionamento

da simbiose em situações de campo, como a atividade biológica do solo, uso de pesticidas e as próprias características físicas do solo (MÄDER *et al.*, 2000).

Tabela 4. Valores médios dos teores nutricionais da parte aérea total da planta e massa seca. Letras maiúsculas comparam os estádios fenológicos dentro do mesmo tratamento e minúsculas os estádios fenológicos entre os tratamentos ($p \leq 0.1$). (“-“) Representa ausência de diferença significativa.

Manejo	N	P	K	Ca	Mg	S	Massa Seca
	----- Miligrama.Planta ⁻¹ -----						Gramas
Convencional V4	212.7 Ba	19.0 Ba	162.6 Ba	19.8 Bab	13.5 Bab	10.2 Ba	5.2 Ba
Convencional R1	2965.2 A-	288.9 Ab	1031.2 Ac	522.5 Ab	328.3 Ab	161.3 Ab	178 Ab
Transição V4	188.7 Bab	16.6 Ba	142.8 Ba	22.Ba	14.9 Ba	12.0 Ba	4.9 Ba
Transição R1	3694.5 A-	321.1 Aab	3280.2 Aa	554.3 Ab	349.8 Ab	180.6 Ab	182 Ab
Orgânico V4	143.4 Bbc	11.9 Bb	113.4 Bb	15.1 Bbc	10.4 Bbc	6.2 Bba	3.6 Bb
Orgânico R1	3825.6 A-	401.9 Aa	3660.5 Aa	796.1 Aa	520.8 Aa	236.5 Aa	282 Aa
Natural V4	110.4 Bc	9.5 Bb	86.1 Bb	13.0 Bbc	9.5 Bc	4.6 Bb	2.8 Bc
Natural R1	2391.9 A-	326.8 Aab	2612.0 Ab	750.4 Aa	584.2 Aa	195.1 Aab	252 Aa

5.4 Comunidade de FMA: Abordagem clássica

A diversidade encontrada nesse trabalho (Tabela 5) variou entre os tipos de manejo empregado e os períodos de coleta. No estágio fenológico V5 a maior diversidade foi encontrada no MN seguida pelo MO e por último se encontram os tratamentos MT e MC. Entretanto, no estágio R1 todas os tratamentos se igualaram e não apresentaram diferença estatística significativa entre si. Nos tratamentos MC e MN não houve diferença significativa entre os períodos de coleta, já nos tratamentos MO e MT ocorreu um aumento significativo na diversidade.

Trabalhos estudando a diversidade de esporos de FMA, tanto na parte de campo como em culturas armadilhas, em diferentes cultivos agrícolas encontraram uma maior diversidade nos cultivos orgânicos do que em convencionais (OEHL *et al.*, 2004), ou diferenças sutis na diversidade entre os tipos de manejo, porém com comunidades bem distintas (GOTTSHALL; COOPER; EMERY, 2017) a menores diversidades nos cultivos orgânicos e maiores nos convencionais (PURIN; KLAUBERG FILHO; STÜRMER, 2006). Nesse trabalho as maiores diversidades nos manejos orgânicos no primeiro estágio para posterior estabilização.

Tabela 5. Índice de diversidade de Shannon e Simpson e dominância nos manejos convencional (MC), transição (MT), orgânico (MO) e natural (MN) para os estádios fenológicos vegetativo 4 (V4), reprodutivo 1 (R1). Letras maiúsculas comparam os estádios fenológicos dentro do mesmo tratamento e minúsculas os estádios fenológicos entre os tratamentos ($p \leq 0.1$). (“-”) Representa ausência de diferença significativa.

	MC		MT		MO		MN	
	V5	R1	V5	R1	V5	R1	V5	R1
Índice de Shannon	0.8-b	1.2--	0.8Bb	1.2A-	1.0Bab	1.6A-	1.4-a	1.3--
Índice de Simpson	0.47-b	0.67--	0.47Bb	0.66A-	0.51Bab	0.73A-	0.73-a	0.70--
Número de Esporos de FMA	7.5-b	10-b	7.9-b	9-b	15.8Bab	23.2Aab	20.5-a	36-a

As espécies apresentadas nesse trabalho (Tabela 6) podem não compreender todas as espécies encontradas de fato no solo em condições de campo. Primeiro, que as espécies possuem tempo e dinâmica de esporulação diferentes (OEHL *et al.*, 2009), como é possível ver que algumas espécies aparecem em apenas alguns estágios fenológicos. Segundo que não é possível identificar todas as espécies de campo sem culturas armadilhas (OEHL *et al.*, 2004), pois características taxonômicas fundamentais podem não ser encontradas, o que é mais provável nas culturas armadilhas com um número maior de esporos. Assim, são necessárias culturas armadilhas sucessivas para englobar os esporos de todas as espécies de campo, contudo realizamos a avaliação da comunidade utilizando ferramentas moleculares (tópico 5.5) a fim de contornar esse problema.

Dentre os esporos encontrados no campo, as espécies do gênero *Ambispora* não foram encontradas no cultivo convencional enquanto os gêneros exclusivamente encontrados nesse cultivo foram *Archeospora* e *Paraglomus*. É importante ressaltar que no MC e MT foram encontrados diversos tipos esporos, com médias superiores a centenas, com características do gênero *Glomus* (esporos glomoides, medianos, marrons, com paredes espessas e algumas vezes encontrados em cachos (Figura 6 I)). Entretanto todos os esporos, quando observados no microscópio em maiores aumentos demonstravam-se inviáveis. Já nos cultivos orgânicos uma predominância de *Ambispora* e *Acaulospora* foram encontradas

Tabela 6. Média do número de esporos em 50 gramas de solo por espécies encontradas nas quatro parcelas experimentais.

Espécies	MC		MT		MO		MN	
	V5	R1	V5	R1	V5	R1	V5	R1
<i>Acaulospora laevis</i>	-	-	-	-	0.3	-	-	-
<i>Acaulospora rehmanii</i>	-	-	-	1.3	-	-	-	-
<i>Acaulospora scrobiculata</i>	-	0.5	1.3	1.0	1.5	2.3	0.7	0.3
<i>Acaulospora mellea</i>	0.8	0.5	-	-	0.3	0.5	-	-
<i>Acaulospora sp1</i>	-	-	-	-	0.3	-	-	-
<i>Ambispora callosa</i>	-	-	1.7	2.3	10.0	2.3	7.7	8.7
<i>Ambispora gerdemanni</i>	-	-	-	-	2.5	1.3	4.3	5.3
<i>Ambispora leptoticha</i>	-	-	-	0.3	0.8	0.8	-	-
<i>Ambispora sp2</i>	-	-	-	-	-	-	0.7	-
<i>Archaeospora trappei</i>	-	2.3	-	-	-	-	-	-
<i>Gigaspora decipiens</i>	2.8	1.5	-	-	-	1.0	0.3	-
<i>Gigaspora gigantea</i>	0.3	-	-	-	-	-	-	-
<i>Gigaspora margarita</i>	-	-	-	-	0.8	-	-	-
<i>Gigaspora sp 1</i>	0.8	-	-	-	0.3	-	-	-
<i>Gigaspora sp 2</i>	-	1.0	-	-	-	-	-	-
<i>Glomus etunicatum</i>	-	-	-	-	-	0.3	-	-
<i>Glomus rubiformis</i>	-	1.3	-	-	-	-	-	-
<i>Glomus sp 1</i>	-	-	-	-	-	0.5	-	-
<i>Glomus sp 2</i>	-	-	-	-	-	1.3	-	-
<i>Glomus sp 3</i>	-	-	1.8	1.3	-	3.8	4.3	3.7
<i>Glomus sp 4</i>	-	-	3.0	2.7	-	-	-	12.0
<i>Paraglomus sp</i>	-	0.3	-	-	-	-	-	-
<i>Racocetra fulgida</i>	-	-	-	-	0.3	-	-	-
<i>Racocetra intraornata</i>	-	-	-	-	-	0.3	-	-
<i>Racocetra persica</i>	-	0.8	-	-	-	-	-	-
<i>Rhizophagus fasciculatus</i>	1.8	-	-	-	0.8	-	-	-
<i>Rhizophagus clarus</i>	-	-	-	-	-	1.3	-	-
<i>Scutellospora calospora</i>	-	-	-	-	-	0.3	1.3	3.0
<i>Scutellospora cerradensis</i>	-	0.3	-	-	-	-	-	-
<i>Cetranspora pellucida</i>	0.3	-	-	-	0.3	0.3	-	-
<i>Scutellospora sp 1</i>	-	0.5	-	-	-	-	-	-
Não Identificadas	1.0	1.5	0.5	0.3	-	1.5	1.0	3.0
Total	7.5	10.3	7.8	9.3	17.8	17.3	20.3	36.0

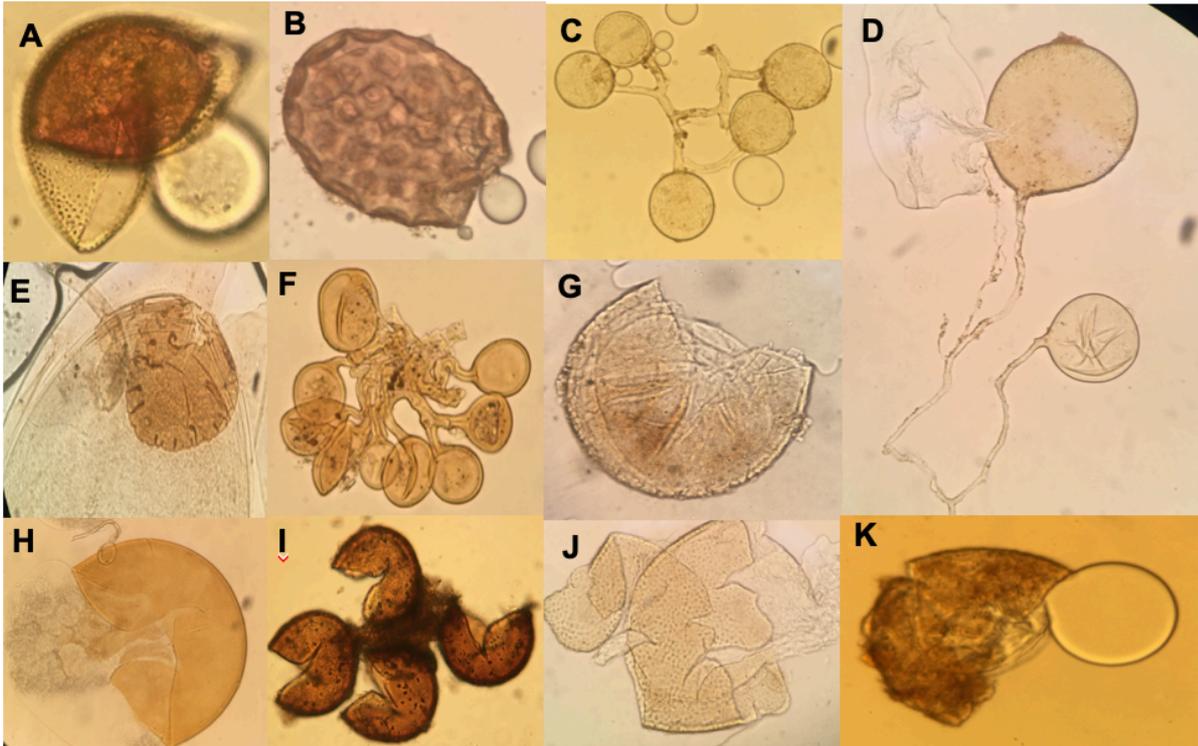


Figura 6. Esporos de fungos micorrízicos arbusculares (A) *A. scrobiculata* (PVLG+Melzer) (B) Não identificado (C) *R. clarus* (PVLG) (D) Não identificado (E) Escudo germinativo *Scutellospora cerradensis* (PVLG) (F) *Glomus rubiformis* (PVLG) (G) *A. leptoticha* (PVLG) (H) *G. decipiens* (PVLG) (I) Esporos glomóides inviáveis (PVLG) (J) *A. scrobiculata* (PVLG) (K) *A. callosa*

5.5 Comunidade de FMA: Abordagem molecular

A utilização de ferramentas moleculares contorna o problema da necessidade das culturas armadilha, porém a sua utilização visa complementar a identificação por esporos, e não excluir esta tarefa. Entretanto, a utilização do sequenciamento para identificação de comunidades de FMA pode criar vieses na identificação, visto que algumas espécies possuem seus esporos conhecidos por morfotipagem, o que pode levar a classificações erradas. Por outro lado, inclui a classificação taxonômica dos que estão presentes apenas na forma de micélio e hifas (BORRIELO *et al.*, 2012). Consequentemente, a utilização de técnicas moleculares pode ser uma aliada para o estudo de comunidades de FMA.

A porcentagem de UTOs (Tabela 7) obtidas no sequenciamento de segunda geração demonstra a eficiência da utilização da reação *nested* com *primers* específicos para fungos micorrízicos arbusculares, pois pelo menos 97% das sequências pertencem ao filo *Glomeromycota*. Resultados similares foram encontrados para os FMA que colonizam as plantas da cultura do milho, utilizando os *primers* AML1/AML2 e AMV4.5NF/AMDGR (ZENG *et al.*, 2019). Por outro lado,

trabalhos utilizando somente os *primers* AMV4.5NF/AMDGR tiveram uma porcentagem de UTOs variando de 30% (SONG *et al.*, 2015; XIANG *et al.*, 2015), 60% (XU *et al.*, 2017) a no máximo 80% (SUZUKI *et al.*, 2020). Apesar desse ganho da especificidade do *primer* a utilização do modelo nested PCR pode levar a uma perda de comunidades mais raras (SUZUKI *et al.*, 2020), diminuindo assim a abundância e diversidade de espécies estimadas (YU *et al.*, 2015).

A família *Glomeraceae* (*Funneliformis*, *Spetogloimus*, *Glomus* e *Rhizopagus*) foi a família mais abundante (fig. 7) em todos os tratamentos, locais e épocas, com o gênero *Glomus* sendo o mais abundante entre todos os gêneros, o que é esperado, por ser este conhecido por ser normalmente o mais abundante, representando mais de 50% da diversidade conhecida (SOUZA *et al.*, 2010).

A família *Gigasporaceae* (*Gigaspora*, *Dentiscutata*, *Cetraspora*, *Racocetra* e *Scutellospora*) no estágio V4, apresenta uma maior abundância relativa (25%) no MC, o que também reflete numa maior abundância colonizada na raiz no mesmo estágio. O revolvimento do solo afeta as estruturas reprodutivas, inviabilizando esporos (KABIR, 2005). A família das *Gigasporaceae* possui uma estratégia de infecção que é realizada apenas por esporos (BIERMANN; LINDERMAN, 1983, KLIRONOMOS; HART, 2002), logo o revolvimento do solo diminui as chances de infecção e a abundância dessa família no solo. Além do revolvimento, outros fatores podem afetar a possível dormência de esporos, o que afetaria a colonização (HART; READER, 2002). Assim, o revolvimento do solo realizado nos manejos MT, MO e MN pode ter afetado negativamente esta família, o que levou a uma menor abundância no solo no V4 e a uma colonização mais lenta.

A família *Acaulosporaceae* (*Acaulospora*), no estágio V4 no solo, apresenta uma quantidade mínima em todos os manejos, porém aumenta sua abundância consideravelmente no solo, nos manejos MO e MN. Já nos manejos MC e MT a abundância tanto no solo quanto na planta foram extremamente baixas. A abundância relativa de colonização por essa família foi baixa no estágio V4 para todos os tratamentos, com exceção do MN. Porém, o manejo MN possui uma das menores taxas de colonização (Figura 5), logo a quantidade colonizada por essa família também é baixa, visto que se apresenta a abundância relativa (quantidade em relação ao total da amostra). Já no estágio R1, para o MN e MO, tanto no solo quanto na planta, ocorre uma elevação na abundância dessa família. A lentidão da colonização

da família *Acaulosporaceae* corrobora os dados encontrados por Hart e Reader (2002).

Tabela 7. Porcentagem das UTOs para o filo *Glomeromycota* e a porcentagem de UTOs não identificadas/outros (Filos).

Local	Tratamento	Estádio Fen.	Não Identificadas/Outros	<i>Glomeromycota</i>
Solo	MC	V4	2.1%	97.9%
	MC	R1	1.8%	98.2%
	MC	PC	0.8%	99.2%
	MT	V4	0.9%	99.1%
	MT	R1	0.9%	99.1%
	MT	PC	0.4%	99.6%
	MO	V4	0.5%	99.5%
	MO	R1	1.1%	98.9%
	MO	PC	0.6%	99.4%
	MN	V4	0.7%	99.3%
	MN	R1	0.8%	99.2%
	MN	PC	1.1%	98.9%
Planta	MC	V4	1.1%	98.9%
	MC	R1	1.4%	98.6%
	MT	V4	0.6%	99.4%
	MT	R1	0.4%	99.6%
	MO	V4	0.6%	99.4%
	MO	R1	1.0%	99.0%
	MN	V4	0.6%	99.4%
	MN	R1	0.4%	99.6%

A maior abundância do gênero *Glomus* em todos os tratamentos demonstra que, além de ser o gênero mais abundante e com o maior número de espécies descrito, também é um gênero generalista (ocorre em vários ambientes) da mesma maneira que o gênero *Acaulospora*, preferindo nichos encontrados em manejos menos intensivos, ou seja, os orgânicos (MO e MN), corroborando o que foi proposto por Oehl *et al.* (2004).

No período pós-colheita é possível observar um aumento expressivo na abundância relativa do gênero *Glomus*, suprimindo os outros gêneros. Essa elevada expressão pode estar relacionada à estratégia utilizada, visto que algumas espécies de *Glomus* já foram indicadas como r-estrategistas (SÝKOROVÁ *et al.*, 2007) o que implica uma elevada colonização/abundância nos primeiros estádios fenológicos e no final produzem um elevado número de descendentes (estruturas germinativas ou hifas

para multiplicação) o que explicaria a elevada abundância de *Glomus* no período pós-colheita (PC).

Considerando que principalmente as *Acaulospora* tiveram uma colonização mais tardia, além de ocupar nichos mais específicos, estas poderiam ser classificadas de forma oposta com o *Glomus*, sendo assim possivelmente k-estrategistas. Por serem biográficos obrigatórios (CARDOSO; ANDREOTE, 2016), os estudos de FMA das estratégias são escassos e pouco elucidados. Entretanto as estratégias utilizadas podem ser os fatores que mais afetam a eficiência nos serviços ecossistêmicos prestados pelas FMA, que consequentemente podem otimizar a produtividade agrícola, com as espécies mais otimizadas para tais serviços.

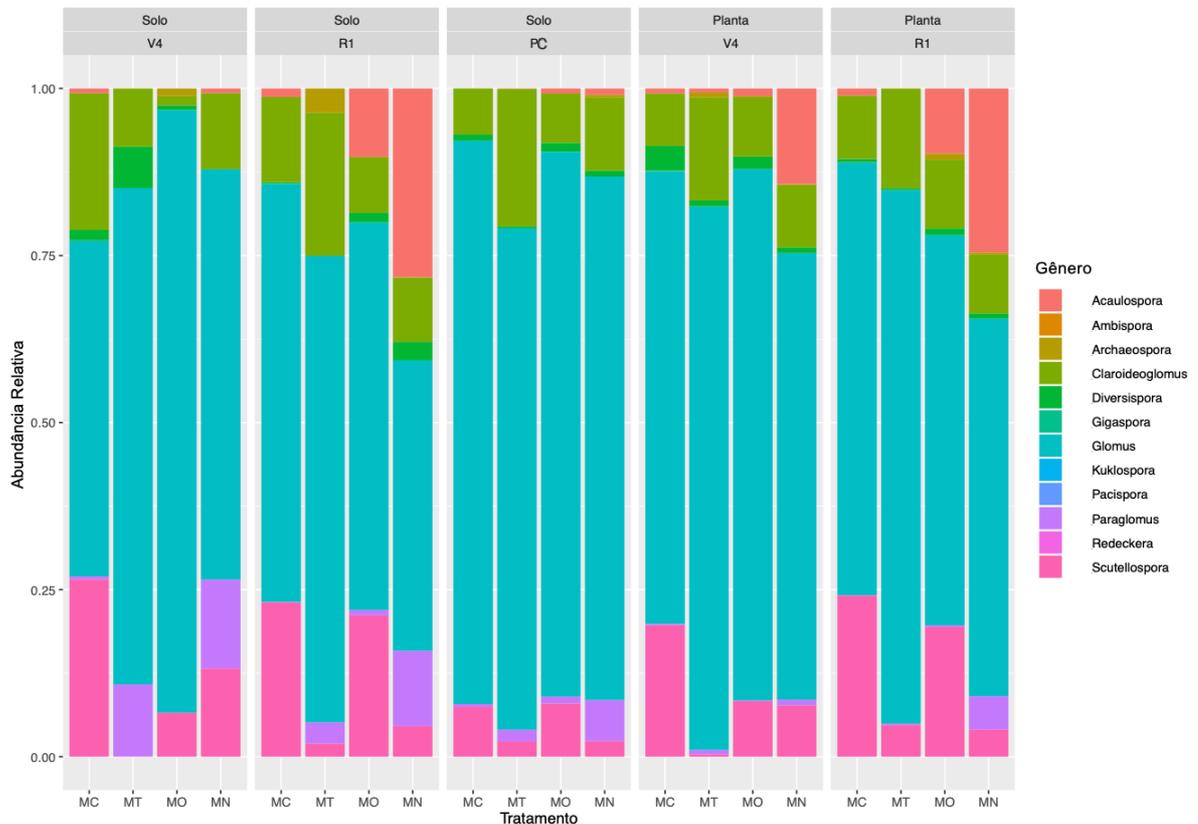


Figura 7. Abundância relativa para gênero nos manejos convencional (MC), transição (MT), orgânico (MO) e natural (MN) e para os estádios fenológicos vegetativo 4 (V4), reprodutivo 1 (R1) e pós-colheita (PC). Para os locais solo e planta.

A diversidade são índices que representam de forma matemática a abundância relativa de cada espécie (nesse tópico representado pelas UTO) na amostra (MELO, 2008). É possível na Tabela 8 que o índice de Simpson foi o menos sensível apresentando diferença significativa somente para o MT no estágio fenológico quando comparado dentro do mesmo manejo, porém com diferenças significativas quando

comparado o mesmo estágio entre os manejos. Nos estágios V4 e R1 as diversidades de FMA no solo se equiparam entre os tratamentos, porém no período pós-colheita o MN ultrapassa todos tratamentos mais diversos. Apesar da literatura indicar maiores diversidade nos manejos orgânicos, o que aconteceu apenas no final do ciclo do milho (DE MIRANDA *et al.*, 2005, OEHL *et al.*, 2010, SCHNEIDER *et al.*, 2015). O MC apesar da alta utilização de adubos fosfatados pode ter tido uma diversidade semelhante aos outros cultivos por ser o único a não ter o solo revolvido, que é uma prática conhecida por diminuir a diversidade de FMA no solo (KABIR, 2005). Além de evidenciar um ganho na diversidade os índices demonstram que sempre devemos buscar otimizar os manejos, visto que provavelmente o efeito negativo do revolvimento do solo pode ter diminuído a diversidade, que posteriormente foi mitigada no manejo natural devido as características do sistema.

Apesar de ser um índice ecológico muito importante, a diversidade demonstra de maneira matemática quão diversa é a comunidade, porém não demonstra a diversidade funcional. Existe uma maior chance de uma comunidade mais diversa ser mais funcional (CARDOSO; ANDREOTE, 2016), porém em manejos agrícolas a funcionalidade da comunidade deve convergir para melhorar o sistema para melhorar e assegurar a produtividade. Nas Figuras 8 e 9 é possível observar, nos diagramas de Venn, que as UTO formam uma comunidade distinta entre os tratamentos, com bastante UTO não compartilhadas, formando comunidades de FMA únicas em cada manejo. Esse dado reforça que além da diversidade, temos que saber quais são os principais grupos que contribuem com os serviços ecossistêmicos e de que maneira podemos otimizar, além de salientar a singularidade de cada manejo.

Tabela 8. Índice de diversidade do solo Observado, Chao1, ACE, Shannon e Simpson nos manejos convencional (MC), transição (MT), orgânico (MO) e natural (MN) para os estádios fenológicos vegetativo 4 (V4), reprodutivo 1 (R1). Letras maiúsculas comparam os estádios fenológicos dentro do mesmo tratamento e minúsculas os estádios fenológicos entre os tratamentos ($p \leq 0.1$). “-” Representa ausência de diferença estatística significativas.

Tratamento	Estádio Fen.	Observed	Chao1	ACE	Shannon	Simpson
MC	V4	171.0 --	313.3 --	315.3 --	3.0 --	0.89 --
MC	R1	182.8 --	345.0 --	355.0 --	3.0 --	0.90 --
MC	PC	144.5 -c	287.7 -b	282.5 -c	2.8 -b	0.89 -bc
MT	V4	80.3 B-	146.6 B-	149.1 B-	2.2 AB-	0.84 --
MT	R1	116.8 AB-	198.7 AB-	227.3 AB-	2.3 AB-	0.80 --
MT	PC	181.3 Abc	311.7 Ab	327.3 Abc	3.0 Ab	0.91 -ab
MO	V4	111.0 B-	186.2 B-	201.2 B-	2.4 B-	0.84 B-
MO	R1	223.0 A-	383.3 A-	404.7 A-	3.0 A-	0.88 B-
MO	PC	199.5 Ab	368.9 Ab	376.2 Ab	2.9 ABb	0.87 ABc
MN	V4	138.8 --	223.0 B-	221.3 B-	2.6 --	0.87 --
MN	R1	246.0 --	436.0 AB-	452.9 AB-	3.1 --	0.88 --
MN	PC	273.8 -a	520.5 Aa	521.1 Aa	3.6 -a	0.94 -a

Por fim a Figura 10 busca integrar os dados dos atributos químicos e biológicos do solo com a comunidade sequenciada de FMA do solo nos estágios V4 e R1. Os dois primeiros componentes da dbRDA (análise de Redundância baseada em distância) explicaram 92.46% da variação total. Os resultados mostraram que o teor de alumínio do solo foram ($P=0.684$) teor de nitrato do solo ($P= 0.020$) e a fosfatase alcalina do solo ($P=0.020$) foram os fatores que mais afetaram os resultados.

A acidez já foi descrita na literatura como tendo uma forte influência para moldar a comunidade de FMA (JANSA *et al.*, 2014, ALGUACIL, 2016), inclusive em solos brasileiros (DA SILVA *et al.*, 2014). Apesar da calagem realizada na área do MC, os dados de acidez potencial (Tabela 3) foram baixos, o que pode ter feito uma distinção maior dessa comunidade quando comparada com as dos outros manejos, representando um estresse não só para a planta, mas também para os microrganismos. Tal fator também pode influenciar na sua eficiência micorrízica visto que as hifas só irão se estender, partindo da raiz até o ponto onde o pH é tamponado pela rizosfera, parando onde o pH se torna inviável (HAYMAN; TAVARES, 1985). Entretanto o entendimento da faixa ideal para as espécies de FMA e o seu comportamento, especialmente em solos tropicais não está bem definida, visto que algumas espécies de FMA podem induzir uma maior resposta na planta mitigando os efeitos tóxicos do alumínio (LAMBAS; CARDOSO, 1993).

Os FMA auxiliam a planta na absorção não só de nutrientes pouco móveis, mas também de nutrientes móveis como o nitrogênio (GOVINDARAJULU *et al.*, 2003), principalmente quando na forma de NH^{+4} , mais móvel nessa forma do que quando na de NO^{-3} .

Porém, elevadas concentrações de nitrogênio antropogênico no solo são conhecidas por modular as comunidades de FMA (EGERTON-WARBURTON; ALLEN, 2000), alterando não só a comunidade, mas também diminuindo a quantidade de estruturas (hifas e esporos) (JOHNSON, 2003). Sabendo que os FMA são altamente eficientes para aprimorar a absorção de nitrogênio, o uso de práticas agrícolas deve ser convergido para melhorar a comunidade de FMA do solo a fim de melhorar o uso desse nutriente (VERZEAUX *et al.*, 2017)

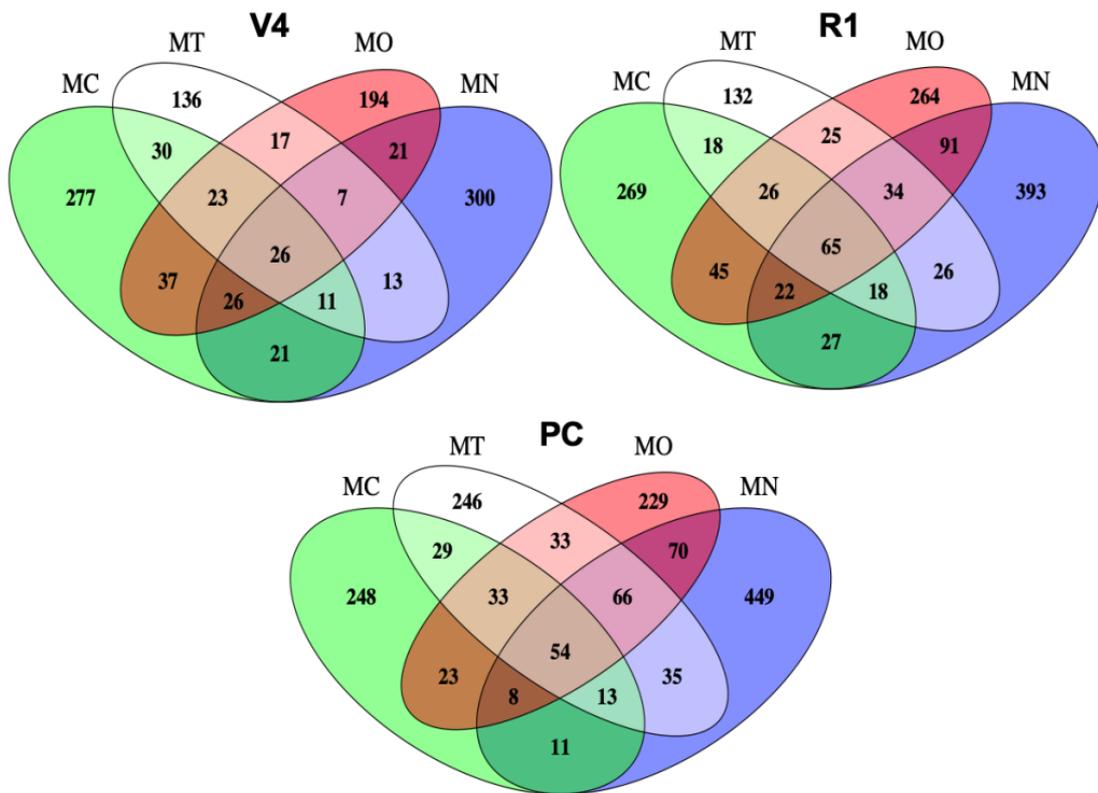


Figura 8. Coocorrência de UTOs no solo, nos manejos convencional (MC), transição (MT), orgânico (MO) e natural (MN) para os estádios fenológicos vegetativo 4 (V4), reprodutivo 1 (R1) e pós-colheita (PC).

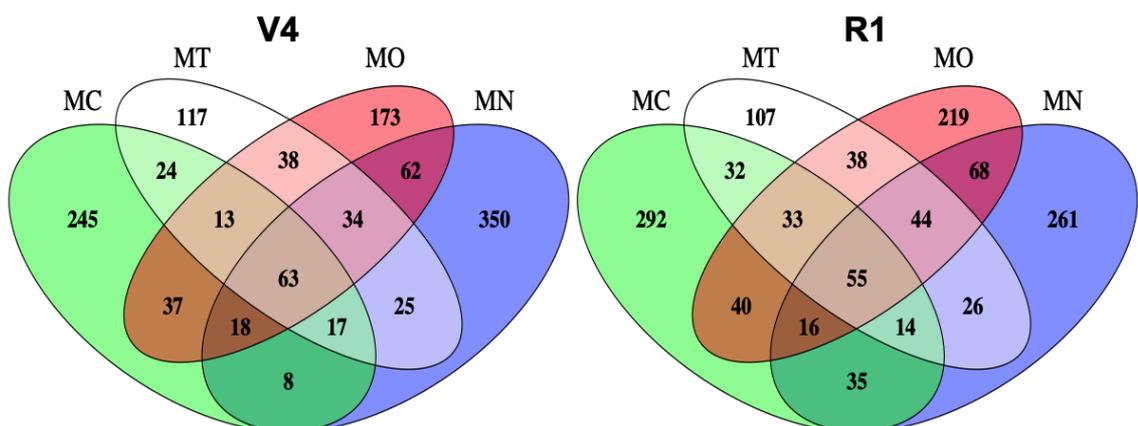


Figura 9. Coocorrência de UTOs na raiz nos manejos convencional (MC), transição (MT), orgânico (MO) e natural (MN) para os estádios fenológicos vegetativo 4 (V4), reprodutivo 1 (R1) e pós-colheita (PC).

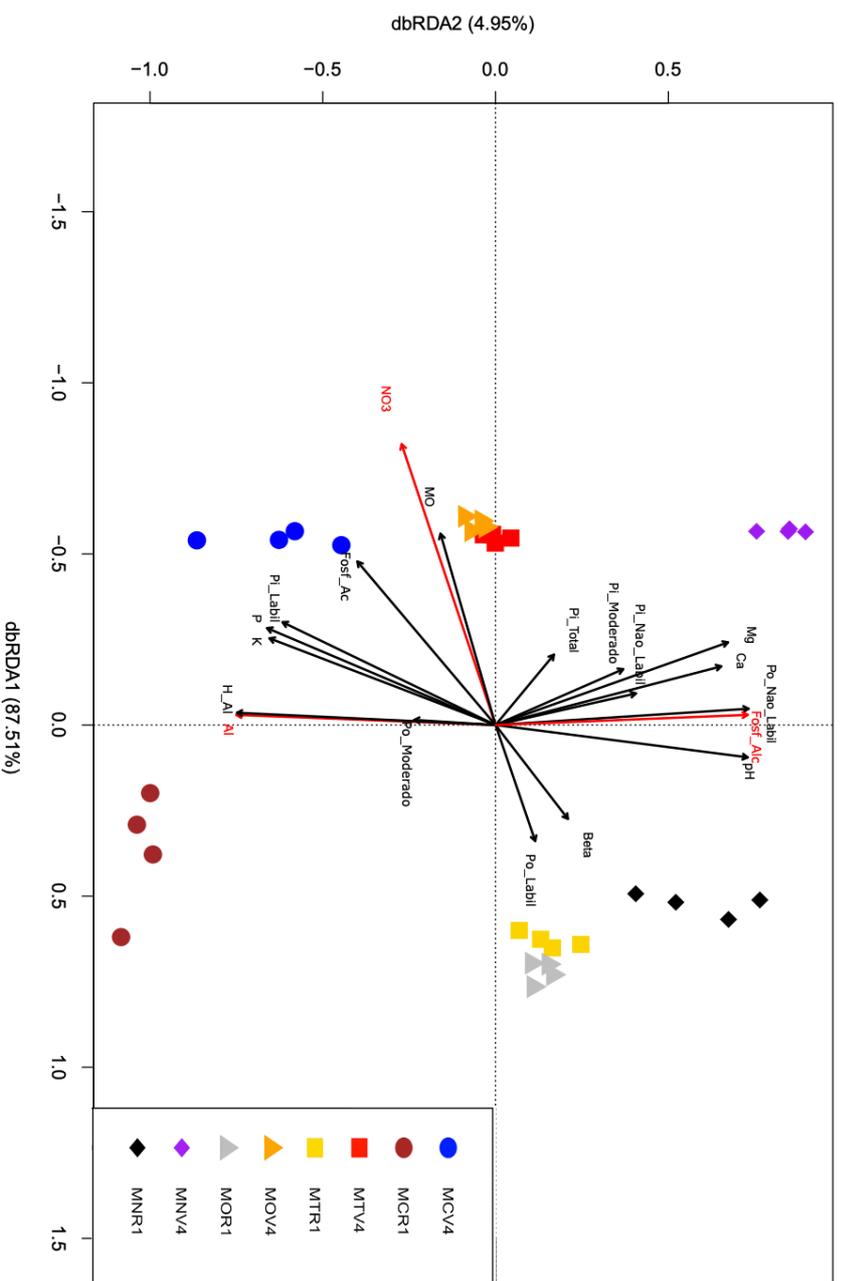


Figura 10. Análise de Redundância baseada em distância (dbRDA) da comunidade de FMA nos manejos convencional (MC), transição (MT), orgânico (MO) e natural (MN) para os estádios fenológicos vegetativo 4 (V4), reprodutivo 1 (R1). Os vetores representam as variáveis do modelo onde as pretas são as que não apresentaram significância no modelo proposto e as vermelhas apresentaram significância. (NO_3) nitrato, (BETA) beta-glucosidase (Fosf_Ac) Fosfatase Ácida (pH) pH (MO) Matéria Orgânica (P) fósforo do solo (Ca) cálcio do solo (Mg) magnésio do solo (Al) alumínio do solo (H_Al) acidez potencial (Pi_Labil) fósforo inorgânico lábil (Pi_Moderado) fósforo inorgânico moderadamente lábil (Pi_Nao_Labil) fósforo inorgânico não lábil (Po_Labil) fósforo orgânico lábil (P_Moderado) fósforo orgânico moderadamente lábil (Pi_Nao_Labil) fósforo orgânico não lábil (Fosfa_Alc) Fosfatase Alcalina.

Devido à intemperização dos solos tropicais, o que ocasiona a fixação do fósforo inorgânico (NOVAIS; SMYTH; NUNES *et al.*, 2007), a fração orgânica possui uma elevada importância para a agricultura brasileira devido às condições que favorecem a atividade microbiana (TIESSEN, 2005), liberando enzimas extracelulares (fosfatases) para hidrólise e liberação de fosfatos inorgânicos no solo (CARDOSO; ANDREOTE, 2016). No modelo proposto, a fosfatase alcalina obteve uma contribuição significativa. Mesmo que tendo teoricamente uma menor expressão do que a fosfatase ácida nos solos tropicais ácidos (Fig. 4), já foi seguidamente demonstrado pelos professores Elke Cardoso e Paulo Pavinato (comunicação pessoal) do departamento de solos da ESALQ/USP, que a sua atividade pode até superar a atuação daquela, especialmente em florestas ou culturas com grande quantidade de folheto ou palha na superfície do solo e nos manejos com menores teores de fósforo disponível. Neste trabalho foi demonstrado uma constância de atividade da fosfatase alcalina durante todo o ciclo da cultura, evidenciando assim sua importância. Em florestas naturais ou plantadas alguns estudos investigam a importância do litter, como Pereira *et al.*, (em publicação) que demonstrou a atuação das fosfatases, principalmente a alcalina, na ciclagem do P tornando-o mais disponível para as plantas e melhorando a nutrição vegetal em solos tropicais.

Apesar dos FMA liberarem fosfatase (SATO *et al.*, 2015) o papel mais importante das micorrizas é o transporte do fosfato entre o solo e a planta, podendo ocorrer simbioses com bactérias solubilizadoras de fosfato, que liberam as enzimas extracelulares de solubilização, em troca do carbono fornecido pela micorriza (ZHANG *et al.*, 2016). Esse fornecimento de carbono ocorre na hifosfera, que é a zona de atividade da hifa em interface com o solo (AZAIZEH *et al.*, 1995) e que pode modular a comunidade microbiana, inibindo ou estimulando grupos específicos (NUCCIO *et al.*, 2013). Contudo, ainda não se tem conhecimento como a atividade dos grupos microbianos no solo podem modular a comunidade de FMA, apesar do inverso ser verdadeiro.

5.6 Produtividade

Analisando a literatura, Ponisio *et al.*, 2015 observou que é comum a produtividade do milho no manejo orgânico ser em média 19% menor do que a convencional, porém, se bem manejado, esta diferença pode diminuir ou até

desaparecer. As produtividades (Figura 11) por nós encontradas na área de estudo demonstraram o oposto da afirmação do autor acima citado, visto que os cultivos orgânico e natural tiveram produtividades até 3 vezes maiores do que o MC e o MT.

As altas produtividades obtidas nesse caso demonstram que as áreas de manejo orgânico (MN e MO) foram tratadas com excelência, ou seja, trata-se de áreas que já vinham há anos sendo cultivadas nesses tipos de manejos ecológicos, nos quais existe uma grande interação com os microrganismos, o que garantiu a presença de todos os serviços ecossistêmicos necessários para uma produtividade otimizada, como melhor ciclagem dos nutrientes, disponibilizando-os durante toda a cultura com a expressão contínua das mais variadas enzimas. Em resumo, havia total saúde dos solos em questão nesses manejos já tradicionais nessas áreas. Por outro lado, os manejos MC e MT não tiveram a oportunidade de demonstrar seu potencial completo, visto que, durante o ciclo da cultura, as perdas de nutrientes foram expressivas. Aliás, no Brasil já se conhece a dificuldade de transformar um solo com manejo convencional para manejo orgânico de um ano para o outro – isso referente ao tratamento transição, no qual se fornecem cinco anos para a lenta transformação do convencional para orgânico, já contando com este efeito. Por outro lado, no caso do tratamento convencional trata-se de um solo que já estava nesse manejo há muito anos, sendo a sua produtividade mantida por meio de adubações e aplicações de pesticidas continuadas. Nesse caso, o solo aparentemente já estava em processo de degradação, como é recorrente no mundo todo, alcançado metade do solo agricultáveis do mundo (PACHECO *et al.*, 2018) e seria necessário um bom período de recuperação de sua saúde com a utilização de um regime de transição.

Um fator limitante no MC foi o pH do solo que, mesmo com a realização da calagem, não apresentou a resposta desejada. Talvez devido ao desgaste da área pelo manejo aplicado, o solo perdeu a capacidade de realizar os serviços ecossistêmicos necessários para a continuidade da produção. A sua saturação de bases está dentro do recomendado (50%), porém significativamente abaixo dos outros tratamentos.

O MT, apesar de apresentar um pH dentro da faixa ideal, também não respondeu com grande produtividade. A ideia principal da transição realizada na área é que ela deve ocorrer de forma gradual, e não abrupta, para que o solo novamente se restabeleça e seja capaz de prestar os serviços ecossistêmicos necessários para a produção agrícola.

A massa seca (Tabela 4) demonstra que, apesar de ser estatisticamente maior no MC e MT no estádio V4, no estádio R1 foi maior no MO e MN, o que se refletiu na produtividade. A composição elementar da matéria seca da planta se dá por uma grande quantidade de carbono, hidrogênio e oxigênio (LATSHAW; MILLER, 1924) provenientes da fotossíntese, conseqüentemente, a massa seca é composta por 90 a 95% de produtos da fotossíntese (MAGALHÃES, DURÃES; RODRIGO, 2008). Logo os menores valores de matéria seca observados no MC e MT no R1 indicam uma perda fotossintética, que foi refletida na produtividade.

A perda fotossintética pode ocorrer de várias maneiras, como descrito por Souza e Barbosa (2015), desde a baixa interceptação luminosa pelas folhas, temperaturas do ar elevadas (especialmente noturnas) que levam à maior respiração (maior produção de CO₂, resultando em grande perda de carbono) e tornam o saldo líquido da fixação de CO₂ baixa. Além desses fatores, os autores também citam o estresse hídrico, que dificulta o transporte de elétrons. Alguns desses fatores podem ser manejados agronomicamente, como o stand de plantas para melhorar a interceptação solar, épocas de plantio e irrigação.

Na área de estudo, apesar de serem próximas, algumas mudanças podem ter influenciado o ambiente, como a textura do solo (Tabela 1) e a baixa precipitação nos meses de novembro e dezembro, além das diferentes doses de nutrientes entre os manejos. A combinação desses fatores pode ter aumentado as condições de estresse no milho, especialmente no MC e MT, diminuindo assim a taxa fotossintética.

O agrupamento dos manejos pode ser observado na Figura 12, com a adição das elipses para ajudar a visualização dos aglomerações tanto de tratamentos como de estádios fenológicos.

De maneira geral é possível observar especialmente o distanciamento do MN e MC, já o MO e MT ficaram em posições mais centrais. Apesar da sobreposição do MO e MT, o primeiro não sobrepõe o MC, porém o segundo sim o que reforça a transição que esse manejo está passando, porém ainda em estágio intermediário que não refletiu todos aspectos do orgânico, o que poderia ter refletido na sua produtividade, ainda tendo características que se assemelham ao convencional.

A separação dos estádios fenológicos demonstra a dinâmica que ocorre durante no ciclo da cultura do milho. Para os estudos biológicos essa dinâmica pode conter detalhes que expliquem o comportamento das comunidades microbiológicas, além da ciclagem de nutrientes. Conseqüentemente os estudos temporais são

necessários para entender essa dinâmica e com isso aprimorar as técnicas aplicadas no campo.

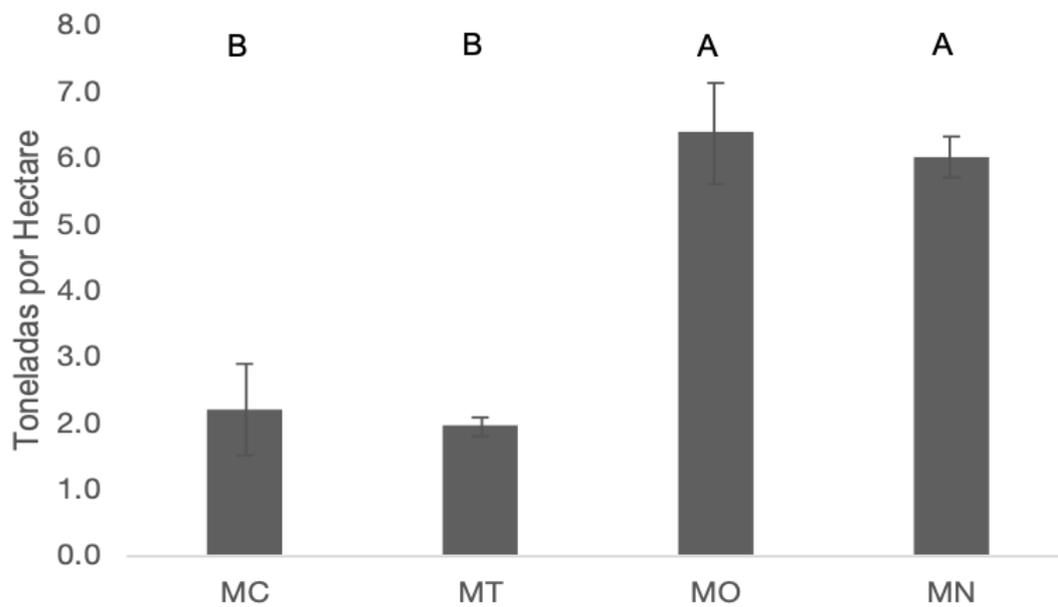


Figura 11. Produtividade (Toneladas por Hectare) nos manejos convencional (MC), transição (MT), orgânico (MO) e natural (MN). Letras maiúsculas comparam os tratamentos ($p \leq 0.1$).

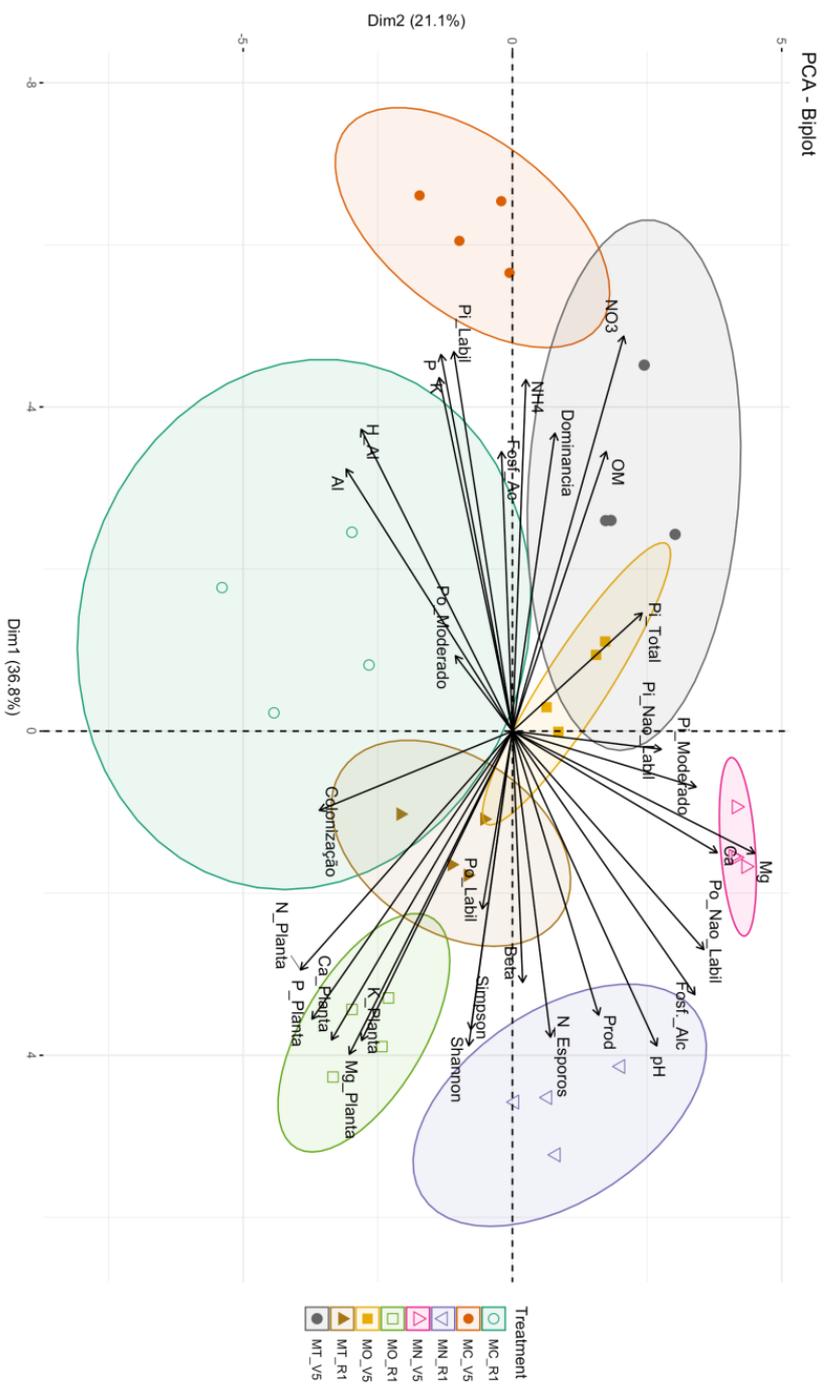


Figura 12. Análise dos componentes principais (PCA) para os manejos convencional (MC), transição (MT), orgânico (MO) e natural (MN) para os estádios fenológicos vegetativo 4 (V4), reprodutivo 1 (R1), (NO₃) nitrato, (BETA) beta-glucosidase, (Fosf_Ac) Fosfatase Ácida, (pH) pH, (MO) Matéria Orgânica, (P) fósforo do solo, (K) potássio do solo, (Ca) cálcio do solo, (MG) magnésio do solo, (Al) alumínio do solo, (H_Al) acidez potencial, (Pi_Labil) fósforo inorgânico lábil, (Pi_Moderado) fósforo inorgânico moderadamente lábil, (Pi_Nao_Labil) fósforo orgânico não lábil, (Fosf_Alc) Fosfatase Alcalina, (Prod) produtividade, (N_Esporos) número de esporos orgânico moderadamente lábil, (Pi_Nao_Labil) fósforo orgânico não lábil, (Fosf_Alc) Fosfatase Alcalina, (Prod) produtividade, (N_Esporos) número de esporos de FMA, (Simpson) índice de diversidade de Simpson, (Shannon) índice de diversidade de Shannon, (P_Planta) fósforo da planta, (K_Planta) potássio da planta, (Ca_Planta) cálcio da planta, (Mg_Planta) magnésio da planta, (N_Planta) nitrogênio da planta, (Colonização) Colonização radicular por FMA, (Dominância) índice de dominância de espécies, (NH₄) amônio.

6. CONCLUSÕES

Holisticamente podemos interpretar os resultados como demonstração de que os cultivos menos intensivos, orgânicos, possuem capacidade produtiva caso os métodos de produção sigam padrões estabelecidos cientificamente. Apesar dos menores índices nutricionais do solo, esses sistemas convergiram para que os serviços ecossistêmicos fornecidos consigam suprir as demandas da cultura. Ou seja, manejos menos intensivos favorecem o sistema de modo a permitir o trabalho dos microrganismos, de maneira semelhante ao que acontece em ambientes naturais. Já os manejos intensivos favorecem a safra, de maneira a suprir momentaneamente as necessidades culturais, porém inibindo os processos naturais.

As ações das enzimas tiveram um papel fundamental na disponibilização do P. Apesar do MC ter a maior expressão da fosfatase ácida, os cultivos orgânicos tiveram uma expressão contínua (especialmente da fosfatase alcalina), o que indica uma ciclagem de nutrientes eficiente, fornecendo os nutrientes ininterruptamente durante todo o ciclo. A eficiência da disponibilização também levou a uma menor perda de nutrientes. Esses resultados indicam uma necessidade do maior entendimento das enzimas do solo, e sua ciclagem, especialmente a fosfatase alcalina que, em solos ácidos, foi muitas vezes ignorada.

Frente aos dados micorrízicos, obtivemos índices que convergiram para a hipótese de que os efeitos na planta podem estar mais fortemente correlacionados com a formação da comunidade de fungos e bactérias que se formam, ou seja, quem são os principais atores. Nessa pesquisa visamos apenas os fungos micorrízicos (FMA). Entretanto, é sobejamente sabido que nos manejos orgânico ou natural existe uma grande atuação das bactérias rizosféricas e promotoras do crescimento vegetal, da macro, meso e microfauna do solo, e de vários outros processos biológicos ativados na interação planta-solo. Mesmo com nossa limitação ao estudo dos FMA podemos afirmar:

- (a) Apesar da colonização no estágio V4 ser maior no MC e MT, no R1 todos os manejos foram equivalentes, sem diferenças estatísticas significativas. Mesmo com a colonização mais tardia nos manejos MN e MO não houve perda na absorção nutricional nem na produtividade.

- (b) No estágio V4 e R1 a diversidade de FMA no solo foi estatisticamente semelhante e apenas no período pós-colheita o MN obteve a maior média significativa, enquanto os outros tratamentos foram semelhantes entre si.
- (c) O efeito do não-revolvimento do solo, que apenas foi utilizado no manejo MC, deve ter sido positivo, pois a aração e gradeamento (aplicados no MT, MN e MO) são sabidamente deletérios para as comunidades de FMA já estabelecidas no solo, na forma de rede de hifas que permeia a sub-superfície dos solos.
- (d) Além dos índices de diversidade o agrupamento das populações de FMA foi distinta entre os tratamentos, indicando possível diversidade funcional entre as diferentes comunidades formadas nos diferentes sistemas de manejo.

As ferramentas moleculares mostraram-se como aliadas poderosas para análise da comunidade de fungos micorrízicos. A integração dos dados moleculares com dados obtidos a partir da morfologia de esporos, colonização radicular por FMA e colonização extrarradicular (hifas do solo) podem trazer, com auxílio de ferramentas computacionais, estatísticas e de bioinformática, informações relevantes sobre a atuação dos grupos de FMA e seu modo de vida.

Observando que os diferentes *inputs* influenciam as variáveis do solo e biológicas estudadas, incentivamos os futuros pesquisadores para se aprofundar mais sobre os efeitos do *input* no solo, especialmente os orgânicos, que deverão ser reforçados. Tais trabalhos podem observar a oferta de materiais orgânicos regionais e analisá-los, de modo a entender quais são os melhores resíduos e seus manejos, esclarecendo cientificamente esses pontos e aprimorando a utilização desses resíduos. Alertamos, ainda, para o fato de que há indicações de que materiais compostados costumam ser mais vantajosos para aplicação de matéria orgânica, favorecendo o crescimento e a produtividade das plantas (PEREIRA, et al., 2017; CARDOSO, 2019).

REFERÊNCIAS

- ALBIACH, R.; CANET, R.; POMARES, F.; INGELMO, F. Microbial biomass content and enzymatic activities after the application of organic amendments to a horticultural soil. **Bioresource technology**, 75, n. 1, p. 43-48, 2000.
- ALGUACIL, M. D. M.; LOZANO, Z.; CAMPOY, M. J.; ROLDÁN, A. Phosphorus fertilisation management modifies the biodiversity of AM fungi in a tropical savanna forage system. **Soil Biology and Biochemistry**, 42, n. 7, p. 1114-1122, 2010/07/01/ 2010.
- ANTUNES, V.; CARDOSO, E. Growth and nutrient status of citrus plants as influenced by mycorrhiza and phosphorus application. **Plant and Soil**, 131, n. 1, p. 11-19, 1991.
- AZAIZEH, H. A, MARSCHNER, H., RÖMHELD, V., WITTENMAYER, L. Effects of a vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus and other soil microorganisms on growth, mineral nutrient acquisition and root exudation of soil-grown maize plants. **Mycorrhiza**, v. 5, n. 5, p. 321-327, 1995.
- Balota, E. L., Nogueira, M. A., Mendes, I. C., Hungria, M., Fagotti, D. S. L., Melo, G. M. P., Melo, W. J. Enzimas e seu papel na qualidade do solo. **Tópicos em Ciência do Solo, Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo**, 8, 189-249, 2013
- BERTOL, I.; ENGEL, F.; MAFRA, A.; BERTOL, O, RITTER S.R. Phosphorus, potassium and organic carbon concentrations in runoff water and sediments under different soil tillage systems during soybean growth. **Soil and Tillage Research**, 94, n. 1, p. 142-150, 2007.
- BIERMANN, B.; LINDERMAN, R. G. Use of vesicular-arbuscular mycorrhizal roots, intraradical vesicles and extraradical vesicles as inoculum. **New Phytologist**, v. 95, n. 1, p. 97-105, 1983
- BINI, D., SANTOS, C. A. D., SILVA, M. C. P. D., BONFIM, J. A., CARDOSO, E. J. B. N. Intercropping *Acacia mangium* stimulates AMF colonization and soil phosphatase activity in *Eucalyptus grandis*. **Scientia Agricola**, v. 75, n. 2, p. 102-110, 2018.
- BORRIELLO, R., LUMINI, E., GIRLANDA, M., BONFANTE, P., BIANCIOTTO, V. Effects of different management practices on arbuscular mycorrhizal fungal diversity in maize fields by a molecular approach. **Biology and Fertility of Soils**, v. 48, n. 8, p. 911-922, 2012.
- BRAIDA, J. A.; CASSOL, E. A. Relações da erosão em entressulcos com o tipo e com a quantidade de resíduo vegetal na superfície do solo. **Revista brasileira de ciência do solo**. Campinas. Vol. 23, n. 3 (jul./set. 1999), p. 711-721, 1999.
- BRASIL. Lei federal n. 10.831 de 2003. **Ministério do Meio Ambiente, dispõe sobre a agricultura orgânica e dá outras providências**. Disponível em: <http://www.presidencia.gov.br/ccivil_03/Leis/2003/L10.831.htm>. A
- BROOKES, P.; POWLSON, D.; JENKINSON, D. Measurement of microbial biomass phosphorus in soil. **Soil biology and biochemistry**, 14, n. 4, p. 319-329, 1982.
- CAPORASO, J.G., KUCZYNSKI, J., STOMBAUGH, J., BITTINGER, K., BUSHMAN, F.D., COSTELLO, E.K., FIERER, N., PENA, A.G., GOODRICH, J.K., GORDON, J.I. and HUTTLEY, G.A., 2010. QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data. **Nature methods**, 7(5), p.335.
- CARDOSO, E. J. B. N. ; NOGUEIRA, M. A. ; ZANGARO, W. . Importance of Mycorrhizae in Tropical Soils. In: de Azevedo, Joao Lucio, Quecine, Maria Carolina. (Org.). **Importance of Mycorrhizae in Tropical Soils**. 1ed.: , v. 1, p. 1-430, 2017,.
- CARDOSO, E. J. B. N.; ANDREOTE, D. F. **Microbiologia do Solo**. 2. ed. ed. Piracicaba, São Paulo: 2016. 222 p.
- CARDOSO, E.J.B.N.; CARDOSO, I.M; NOGUEIRA, M.A; BARETTA, C.R.D.M.; PAULA, A. M. Micorrizas arbusculares na aquisição de nutrientes pelas plantas. In: SIQUEIRA, J.O., SOUZA, F.A.; CARDOSO, E.J.B.N. TSAI, S.M., eds. **Micorrizas 30 anos de pesquisa no Brasil**. Lavras, Universidade Federal de Lavras, 2010. p.153-214

- CARDOSO, E.J.B.N. Substâncias Húmicas: Uma nova abordagem para valoração dos fertilizantes orgânicos na forma de composto. In: *Anuário Brasileiro de Tecnologia em Nutrição Vegetal*, 2019, p. 57-60
- CHANG, E.-H.; CHUNG, R.-S.; TSAI, Y.-H. Effect of different application rates of organic fertilizer on soil enzyme activity and microbial population. *Soil Science and Plant Nutrition*, 53, n. 2, p. 132-140, 2007.
- CLARK, M. S.; HORWATH, W. R.; SHENNAN, C.; SCOW, K. M. Changes in Soil Chemical Properties Resulting from Organic and Low-Input Farming Practices. *Agronomy Journal*, 90, n. 5, p. 662-671, 1998.
- CONDON L, M.; GOH K, M.; NEWMAN R, H. Nature and distribution of soil phosphorus as revealed by a sequential extraction method followed by ³¹P nuclear magnetic resonance analysis. *Journal of Soil Science*, 36, n. 2, p. 199-207, 1985/06/01 1985.
- COELHO, Antônio Marcos; DE RESENDE, A. V.; DOS SANTOS, F. C. Exigências nutricionais e adubação. *Embrapa Milho e Sorgo-Capítulo em livro científico (ALICE)*, 2011.
- DA SILVA, I. R., DE MELLO, C. M. A., NETO, R. A. F., DA SILVA, D. K. A., DE MELO, A. L., OEHL, F., MAIA, L. C. Diversity of arbuscular mycorrhizal fungi along an environmental gradient in the Brazilian semiarid. *Applied Soil Ecology*, v. 84, p. 166-175, 2014.
- DA VEIGA, J. E. Problemas da transição à agricultura sustentável. *Estudos econômicos*, 24, p. 9, 1994.
- DE MIRANDA, J. C. C.; VILELA, L.; DE MIRANDA, L. N. Dinâmica e contribuição da micorriza arbuscular em sistemas de produção com rotação de culturas. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 40, n. 10, p. 1005-1014, 2005.
- DEL MAR ALGUACIL, M. *et al.* Soil characteristics driving arbuscular mycorrhizal fungal communities in semiarid Mediterranean soils. *Appl. Environ. Microbiol.*, v. 82, n. 11, p. 3348-3356, 2016.
- EGERTON-WARBURTON, Louise M.; ALLEN, Edith B. Shifts in arbuscular mycorrhizal communities along an anthropogenic nitrogen deposition gradient. *Ecological applications*, v. 10, n. 2, p. 484-496, 2000.
- EIVAZI, F.; TABATABAI, M. Glucosidases and galactosidases in soils. *Soil Biology and Biochemistry*, 20, n. 5, p. 601-606, 1988.
- EIVAZI, F.; TABATABAI, M. Phosphatases in soils. *Soil biology and biochemistry*, 9, n. 3, p. 167-172, 1977.
- ESPINOZA, L.; ROSS, J.. Fertilization and liming. Corn Production Handbook MP437. Little Rock: Cooperative Extension Service, **University of Arkansas**, p. 23-27, 2003.
- FANCELLI, A. L. Milho Produção e produtividade. **Piracicaba: USP/ESALQ/LPV**, p. 176, 2011.
- FANCELLI, A.L. Ecofisiologia, Fenologia e Implicações Básicas de Manejo In: BORÉM, A., GALVÃO, J.C.C., PIMENTEL, M.A. **Milho do plantio à colheita**, Viçosa, MG, Ed. UFV, 2015, p. 50-76
- GARCÍA-RUIZ, R.; OCHOA, V.; HINOJOSA, M. B.; CARREIRA, J. A. Suitability of enzyme activities for the monitoring of soil quality improvement in organic agricultural systems. *Soil Biology and Biochemistry*, 40, n. 9, p. 2137-2145, 2008.
- GARCÍA-RUIZ, R.; OCHOA, V.; VINEGLA, B.; HINOJOSA, M. *et al.* Soil enzymes, nematode community and selected physico-chemical properties as soil quality indicators in organic and conventional olive oil farming: Influence of seasonality and site features. *Applied Soil Ecology*, 41, n. 3, p. 305-314, 2009.
- GENTILE, R.; VANLAUWE, B.; CHIVENGE, P.; SIX, J. Interactive effects from combining fertilizer and organic residue inputs on nitrogen transformations. *Soil Biology and Biochemistry*, 40, n. 9, p. 2375-2384, 2008.
- 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*, 46, n. 2, p. 235-244, 1963/06/01/ 1963.
- GIOVANNETTI, M.; MOSSE, B. AN EVALUATION OF TECHNIQUES FOR MEASURING VESICULAR ARBUSCULAR MYCORRHIZAL INFECTION IN ROOTS. *New Phytologist*, 84, n. 3, p. 489-500, 1980/03/01 1980.

- GOMIERO, T.; PIMENTEL, D.; PAOLETTI, M. G. Environmental Impact of Different Agricultural Management Practices: Conventional vs. Organic Agriculture. **Critical Reviews in Plant Sciences**, 30, n. 1-2, p. 95-124, 2011/01/01 2011.
- GOTTSHALL, C. B.; COOPER, M.; EMERY, S. M. Activity, diversity and function of arbuscular mycorrhizae vary with changes in agricultural management intensity. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, 241, p. 142-149, 2017/04/01/ 2017.
- GOVINDARAJULU, Manjula *et al.* Nitrogen transfer in the arbuscular mycorrhizal symbiosis. **Nature**, v. 435, n. 7043, p. 819-823, 2005.
- HART, M. M.; READER, R. J. Taxonomic basis for variation in the colonization strategy of arbuscular mycorrhizal fungi. **New Phytologist**, 153, n. 2, p. 335-344, 2002.
- HAYMAN, D. S.; TAVARES, M. Plant growth responses to vesicular-arbuscular mycorrhiza: xv. Influence of soil pH on the symbiotic efficiency of different endophytes. **New Phytologist**, v. 100, n. 3, p. 367-377, 1985.
- HECKMAN, J. A history of organic farming: Transitions from Sir Albert Howard's War in the Soil to USDA National Organic Program. **Renewable Agriculture and Food Systems**, 21, n. 3, p. 143-150, 2006.
- HEDLEY, M. J.; STEWART, J. W. B.; CHAUHAN, B. S. Changes in Inorganic and Organic Soil Phosphorus Fractions Induced by Cultivation Practices and by Laboratory Incubations¹. **Soil Science Society of America Journal**, 46, n. 5, p. 970-976, 1982.
- HIREL, B.; TÉTU, T.; LEA, P. J.; DUBOIS, F. Improving nitrogen use efficiency in crops for sustainable agriculture. **Sustainability**, 3, n. 9, p. 1452-1485, 2011.
- HOCHMAN, G.; ZILBERMAN, D. Corn Ethanol and U.S. Biofuel Policy 10 Years Later: A Quantitative Assessment. **American Journal of Agricultural Economics**, 100, n. 2, p. 570-584, 2018.
- HUBBARD, C.; ALVIM, A. M.; GARROD, G. Brazilian Agriculture as a Global Player. **EuroChoices**, 16, n. 1, p. 3-4, 2017.
- IGIEHON, N. O.; BABALOLA, O. O. Biofertilizers and sustainable agriculture: exploring arbuscular mycorrhizal fungi. **Applied Microbiology and Biotechnology**, 101, n. 12, p. 4871-4881, 2017/06/01 2017.
- JENKINS, W. A rapid centrifugal-flotation technique for separating nematodes from soil. **Plant disease reporter**, 48, n. 9, 1964.
- JOHNSON, N. C., ROWLAND, D. L., CORKIDI, L., EGERTON-WARBURTON, L. M., ALLEN, E. B. Nitrogen enrichment alters mycorrhizal allocation at five mesic to semiarid grasslands. **Ecology**, v. 84, n. 7, p. 1895-1908, 2003.
- KABIR, Z. Tillage or no-tillage: impact on mycorrhizae. **Canadian Journal of Plant Science**, v. 85, n. 1, p. 23-29, 2005.
- KAHILUOTO, H.; KETOJA, E.; VESTBERG, M. Plant-available P supply is not the main factor determining the benefit from arbuscular mycorrhiza to crop P nutrition and growth in contrasting cropping systems. **Plant and Soil**, 350, n. 1, p. 85-98, January 01 2012. journal article.
- KLIRONOMOS, J. N.; MCCUNE, J.; HART, M.; NEVILLE, J. The influence of arbuscular mycorrhizae on the relationship between plant diversity and productivity. **Ecology letters**, 3, n. 2, p. 137-141, 2000.
- KOPP, J.; MCKEE, G. Methods for chemical analysis of water and waste (3d ed.): **US Environmental Protection Agency, Environmental Monitoring and Support Laboratory**. EPA-600/4-79-020 [variously paged]. 1979.
- KREMEN, C.; MILES, A. Ecosystem services in biologically diversified versus conventional farming systems: benefits, externalities, and trade-offs. **Ecology and Society**, 17, n. 4, 2012.
- KRISHNAKUMAR, S.; SARAVANAN, A.; NATARAJAN, S.; VEERABADRAN, V. *et al.* Microbial population and enzymatic activity as influenced by organic farming. **Research Journal of Agriculture and Biological Sciences**, 1, n. 1, p. 85-88, 2005.

- LAMBAIS, M. R.; CARDOSO, E. J. B. N. Response of *Stylosanthes guianensis* to endomycorrhizal fungi inoculation as affected by lime and phosphorus applications. **Plant and Soil**, 150, n. 1, p. 109-116, 1993.
- LATSHAW, W. L.; MILLER, E. C. Elemental composition of the corn plant. **Journal of Agricultural Research**, v. 27, n. 11, p. 845-861, 1924.
- LEE, J.; LEE, S.; YOUNG, J. P. W. Improved PCR primers for the detection and identification of arbuscular mycorrhizal fungi. **FEMS Microbiology Ecology**, 65, n. 2, p. 339-349, 2008.
- LOCKERETZ, W. Organic farming: an international history. **CABI**, 2007.
- LOIT, K., SOONVALD, L., KUKK, M., ASTOVER, A., RUNNO-PAURSON, E., KAART, T., ÖPIK, M. The indigenous arbuscular mycorrhizal fungal colonisation potential in potato roots is affected by agricultural treatments. **Agronomy Research**, v. 16, n. 2, p. 510, 2018.
- LOPES SOARES, W.; FIRPO DE SOUZA PORTO, M. Estimating the social cost of pesticide use: An assessment from acute poisoning in Brazil. **Ecological Economics**, 68, n. 10, p. 2721-2728, 2009.
- LUCAS, R. E.; DAVIS, J. F. Relationships Between pH Values Of Organic Soils And Availabilities Of 12 Plant Nutrients. **Soil Science**, 92, n. 3, p. 177-182, 1961.
- MÄDER, P., EDENHOFER, S., BOLLER, T., WIEMKEN, A., NIGGLI, U. Arbuscular mycorrhizae in a long-term field trial comparing low-input (organic, biological) and high-input (conventional) farming systems in a crop rotation. **Biology and fertility of Soils**, 31, n. 2, p. 150-156, 2000.
- MÄDER, P., FLIESSBACH, A., DUBOIS, D., GUNST, L., FRIED, P., NIGGLI, U. Soil Fertility and Biodiversity in Organic Farming. **Science**, 296, n. 5573, p. 1694-1697, 2002.
- MAGURRAN, A. E. Ecological diversity and its measurement. **Princeton university press**, 1988
- MALAVOLTA, E.; VITTI, G. C.; OLIVEIRA, S. A. D. Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações. 1997.
- MANGELSDORF, P. C. The origin of corn. **Scientific American**, 255, n. 2, p. 80-86, 1986.
- MANOHARAN, L.; ROSENSTOCK, N. P.; WILLIAMS, A.; HEDLUND, K. Agricultural management practices influence AMF diversity and community composition with cascading effects on plant productivity. **Applied Soil Ecology**, 115, p. 53-59, 2017.
- MARGON, A; FORNASIER, F. Determining soil enzyme location and related kinetics using rapid fumigation and high-yield extraction. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 40, n. 9, p. 2178-2181, 2008.
- MARINARI, S.; MANCINELLI, R.; CAMPIGLIA, E.; GREGO, S. Chemical and biological indicators of soil quality in organic and conventional farming systems in Central Italy. **Ecological Indicators**, 6, n. 4, p. 701-711, 2006.
- MCMURDIE, P.J. AND HOLMES, S. Phyloseq: an R package for reproducible interactive analysis and graphics of microbiome census data. **PloS one**, 8(4), 2013
- MELLONI, R.; NOGUEIRA, M.; FREIRE, V.; CARDOSO, E. Fósforo adicionado e fungos micorrízicos arbusculares no crescimento e nutrição mineral de limoeiro-cravo [*Citrus limonia* (L.) Osbeck]. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, 24, n. 4, p. 767-775, 2000.
- MELO, A. S. O que ganhamos 'confundindo' riqueza de espécies e equabilidade em um índice de diversidade? **Biota Neotropica**, v. 8, n. 3, p. 0-0, 2008.
- MONDELAERS, K.; AERTSENS, J.; VAN HUYLENBROECK, G. A meta-analysis of the differences in environmental impacts between organic and conventional farming. **British food journal**, 111, n. 10, p. 1098-1119, 2009.
- MORTON, J. B. Taxonomy of VA mycorrhizal fungi: classification, nomenclature, and identification. **Mycotaxon**, 32, p. 267-324, 1988.

- MORTVEDT, J. J.; KHASAWNEH, F. E. EFFECTS OF GROWTH RESPONSES ON CATIONIC RELATIONSHIPS IN PLANTS¹. **Soil Science**, 141, n. 3, p. 200-207, 1986.
- NAGY, R.; DRISSNER, D.; AMRHEIN, N.; JAKOBSEN, I. *et al.* Mycorrhizal phosphate uptake pathway in tomato is phosphorus-repressible and transcriptionally regulated. **New Phytologist**, 181, n. 4, p. 950-959, 2009.
- NOGUEIRA, M. A.; CARDOSO, E. J. B. N. Plant growth and phosphorus uptake in mycorrhizal rangpur lime seedlings under different levels of phosphorus. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 41, n. 1, p. 93-99, 2006.
- NOGUEIRA, M.; CARDOSO, E. Produção de micélio externo por fungos micorrízicos arbusculares e crescimento da soja em função de doses de fósforo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, 24, n. 2, p. 329-338, 2000.
- NOVAIS, R. F., SMYTH, T.J.; NUNES, F.N. Fósforo. In: NOVAIS, R.F.; ALVAREZ, V.,V.H; BARROS, N.F; FONTES, R.L.F; CANTARUTTI, R.B; NEVES, J.C.L. **Fertilidade do solo**. Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2007. 8586504084.
- NUCCIO, E. E., HODGE, A., PETT-RIDGE, J., HERMAN, D. J., WEBER, P. K., FIRESTONE, M. K. An arbuscular mycorrhizal fungus significantly modifies the soil bacterial community and nitrogen cycling during litter decomposition. **Environmental Microbiology**, v. 15, n. 6, p. 1870-1881, 2013
- OEHL, F., LACZKO, E., BOGENRIEDER, A., STAHR, K., BÖSCH, R., VAN DER HEIJDEN, M., SIEVERDING, E. Soil type and land use intensity determine the composition of arbuscular mycorrhizal fungal communities. **Soil Biology and Biochemistry**, 42, n. 5, p. 724-738, 2010.
- OEHL, F.; SIEVERDING, E.; INEICHEN, K.; MAEDER, P. *et al.* Distinct sporulation dynamics of arbuscular mycorrhizal fungal communities from different agroecosystems in long-term microcosms. **Agriculture, ecosystems & environment**, 134, n. 3-4, p. 257-268, 2009.
- OEHL, F., SIEVERDING, E., MÄDER, P., DUBOIS, D., INEICHEN, K., BOLLER, T., WIEMKEN, A. Impact of long-term conventional and organic farming on the diversity of arbuscular mycorrhizal fungi. **Oecologia**, 138, n. 4, p. 574-583, 2004.
- ÖPIK, M., VANATOA, A., VANATOA, E., MOORA, M., DAVISON, J., KALWIJ, J.M., REIER, Ü., ZOBEL, M. 2010. The online database MaarjAM reveals global and ecosystemic distribution patterns in arbuscular mycorrhizal fungi (Glomeromycota). **New Phytologist** 188: 223-241.
- PACHECO, Fernando António Leal *et al.* Land degradation: Multiple environmental consequences and routes to neutrality. **Current Opinion in Environmental Science & Health**, v. 5, p. 79-86, 2018
- PANDEY, D.; AGRAWAL, M.; BOHRA, J. S. Effects of conventional tillage and no tillage permutations on extracellular soil enzyme activities and microbial biomass under rice cultivation. **Soil and Tillage Research**, 136, p. 51-60, 2014.
- PEREIRA, R. F.. **Efeito da aplicação de inoculantes na compostagem de resíduos urbanos**. Dissertação (Mestrado em Solos e Nutrição de Plantas) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, University of São Paulo, Piracicaba, 2017. doi:10.11606/D.11.2017.tde-23082017-141416. Acesso em: 2020-02-04.
- PIMENTEL, D., HEPPELRY, P., HANSON, J., DOUDS, D., SEIDEL, R.. Environmental, Energetic, and Economic Comparisons of Organic and Conventional Farming Systems. **BioScience**, 55, n. 7, p. 573-582, 2005.
- PLOŠEK, L., ELBL, J., LOŠÁK, T., KUŽEL, S., KINTL, A., JUŘIČKA, D., KYNICKÝ, J., MARTENSSON, A., BRTNICKÝ, M.. Leaching of mineral nitrogen in the soil influenced by addition of compost and N-mineral fertilizer. **Acta Agriculturae Scandinavica, Section B—Soil & Plant Science**, 67, n. 7, p. 607-614, 2017.
- PONISIO, L. C., M'GONIGLE, L. K., MACE, K. C., PALOMINO, J., DE VALPINE, P., KREMEN, C. Diversification practices reduce organic to conventional yield gap. **Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences**, 282, n. 1799, p. 20141396, 2015.

POUDEL, D. D., HORWATH, W. R., LANINI, W. T., TEMPLE, S. R., VAN BRUGGEN, A. H. C.. Comparison of soil N availability and leaching potential, crop yields and weeds in organic, low-input and conventional farming systems in northern California. **Agriculture, ecosystems & environment**, 90, n. 2, p. 125-137, 2002.

PRADO, R.M.. Saturação por bases e híbridos de milho sob sistema plantio direto. **Scientia Agricola**, v. 58, n. 2, p. 391-394, 2001.

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

RANERE, A. J., PIPERNO, D. R., HOLST, I., DICKAU, R., IRIARTE, J. The cultural and chronological context of early Holocene maize and squash domestication in the Central Balsas River Valley, Mexico. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, 106, n. 13, p. 5014-5018, 2009.

REDECKER, D., SCHÜBLER, A., STOCKINGER, H., STÜRMER, S. L., MORTON, J. B., WALKER, C. An evidence-based consensus for the classification of arbuscular mycorrhizal fungi (Glomeromycota). **Mycorrhiza**, 23, n. 7, p. 515-531, 2013

CORE TEAM, R. C. T. R: a language and environment for statistical computing. **R Foundation for statistical computing, Vienna**, 2019.

SAHA, S., MINA, B. L., GOPINATH, K. A., KUNDU, S., GUPTA, H. S. Relative changes in phosphatase activities as influenced by source and application rate of organic composts in field crops. **Bioresource technology**, 99, n. 6, p. 1750-1757, 2008.

SÄLE, V.; AGUILERA, P.; LACZKO, E.; MÄDER, P. *et al.* Impact of conservation tillage and organic farming on the diversity of arbuscular mycorrhizal fungi. **Soil Biology and Biochemistry**, 84, p. 38-52, 2015/05/01/ 2015.

SATO, K.; SUYAMA, Y.; SAITO, M.; SUGAWARA, K. A new primer for discrimination of arbuscular mycorrhizal fungi with polymerase chain reaction-denature gradient gel electrophoresis. **Grassland Science**, 51, n. 2, p. 179-181, 2005.

SATO, T.; EZAWA, T.; CHENG, W.; TAWARAYA, K. Release of acid phosphatase from extraradical hyphae of arbuscular mycorrhizal fungus *Rhizophagus clarus*. **Soil Science and Plant Nutrition**, 61, n. 2, p. 269-274, 2015/03/04 2015.

SCHENCK, N. C.; PÉREZ, Y. **Manual for the Identification of VA Mycorrhizal Fungi**. Synergistic Publications, 1990. 9780962598036.

SCHNEIDER, K. D.; LYNCH, D. H.; DUNFIELD, K.; KHOSLA, K. *et al.* Farm system management affects community structure of arbuscular mycorrhizal fungi. **Applied Soil Ecology**, 96, p. 192-200, 2015/11/01/ 2015.

SCHRAMA, M.; DE HAAN, J.; KROONEN, M.; VERSTEGEN, H. *et al.* Crop yield gap and stability in organic and conventional farming systems. **Agriculture, ecosystems & environment**, 256, p. 123-130, 2018.

SCHÜBLER, A.; SCHWARZOTT, D.; WALKER, C. A new fungal phylum, the Glomeromycota: phylogeny and evolution. **Mycological Research**, 105, n. 12, p. 1413-1421, 2001.

SEUFERT, V.; RAMANKUTTY, N.; FOLEY, J. A. Comparing the yields of organic and conventional agriculture. **Nature**, 485, p. 229, 04/25/online 2012.

SEVERINO, L. S.; COSTA, F. X.; DE MACÊDO BELTRÃO, N. E.; DE LUCENA, A. M. A. *et al.* Mineralização da torta de mamona, esterco bovino e bagaço de cana estimada pela respiração microbiana. **Revista de biologia e ciências da terra**, 5, n. 1, p. 0, 2005.

SIEGRIST, M.; VISSCHERS, V. H. M.; HARTMANN, C. Factors influencing changes in sustainability perception of various food behaviors: Results of a longitudinal study. **Food Quality and Preference**, 46, p. 33-39, 2015/12/01/ 2015.

SIMON, L.; LALONDE, M.; BRUNS, T. D. Specific amplification of 18S fungal ribosomal genes from vesicular-arbuscular endomycorrhizal fungi colonizing roots. 1992-01-01 1992.

- SINGHANIA, R. R.; PATEL, A. K.; SUKUMARAN, R. K.; LARROCHE, C. *et al.* Role and significance of beta-glucosidases in the hydrolysis of cellulose for bioethanol production. **Bioresource technology**, 127, p. 500-507, 2013.
- SIQUEIRA, J. O.; DE SOUZA, F. A.; CARDOSO, E. J.; TSAI, S. M. **Micorrizas: 30 anos de pesquisas no Brasil. Ed. Lavras: UFLA. 716p.** ISBN 978-85-87692-90-0. 2010.
- SMITH, C. W.; BETRÁN, J. Corn: origin, history, technology, and production. **John Wiley & Sons**, 2004.
- SMUKLER, S.; JACKSON, L.; MURPHREE, L.; YOKOTA, R. *et al.* Transition to large-scale organic vegetable production in the Salinas Valley, California. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, 126, n. 3-4, p. 168-188, 2008.
- SOLOS, Embrapa. Sistema brasileiro de classificação de solos. **Centro Nacional de Pesquisa de Solos: Rio de Janeiro**, 2006.
- SONG, F., PAN, Z., BAI, F., AN, J., LIU, J., GUO, W., BISSELING, T., XIUXIN, D., XIAO, S. The scion/rootstock genotypes and habitats affect arbuscular mycorrhizal fungal community in citrus. **Frontiers in microbiology**, v. 6, p. 1372, 2015.
- SOUZA, G.M.; BARBOSA, A. M. Fatores de estresse no milho são diversos e exigem monitoramento constante. **Visão Agrícola**, v. 13, n. 1, p. 30-34, 2015.
- SOUZA, F.A, STÜMER, S.L., CARENHO, R., TRUFEM, S.F.B. Classificação e taxonomia de Fungos Micorrízicos Arbusculares e sua Diversidade e Ocorrência no Brasil. In: SIQUEIRA, J.O., SOUZA, F.A.; CARDOSO, E.J.B.N. TSAI, S.M., eds. **Micorrizas 30 anos de pesquisa no Brasil**. Lavras, Universidade Federal de Lavras, 2010. p.15-74.
- SPOHN, M.; KUZYAKOV, Y. Distribution of microbial-and root-derived phosphatase activities in the rhizosphere depending on P availability and C allocation–Coupling soil zymography with ¹⁴C imaging. **Soil Biology and Biochemistry**, 67, p. 106-113, 2013.
- SUJA, G.; BYJU, G.; JYOTHI, A.; VEENA, S. *et al.* Yield, quality and soil health under organic vs conventional farming in taro. **Scientia horticulturae**, 218, p. 334-343, 2017.
- SUZUKI, K.; TAKAHASHI, K.; HARADA, Naoki. Evaluation of primer pairs for studying arbuscular mycorrhizal fungal community compositions using a MiSeq platform. **Biology and Fertility of Soils**, p. 1-6. 2020.
- SÝKOROVÁ, Z., INEICHEN, K., WIEMKEN, A., REDECKER, D. The cultivation bias: different communities of arbuscular mycorrhizal fungi detected in roots from the field, from bait plants transplanted to the field, and from a greenhouse trap experiment. **Mycorrhiza**, v. 18, n. 1, p. 1-14, 2007.
- TABATABAI, M. Soil enzymes. **Methods of soil analysis**, p. 775-833, 1994.
- TARKALSON, D. D.; MIKKELSEN, R. L. Runoff Phosphorus Losses as Related to Phosphorus Source, Application Method, and Application Rate on a Piedmont Soil A contribution of the University of Nebraska Agricultural Research Division, Lincoln, NE 68583. Journal Series no. 14122. **Journal of Environmental Quality**, 33, n. 4, p. 1424-1430, 2004.
- TIESSEN, H. Phosphorus dynamics in tropical soils. **Phosphorus: Agriculture and the Environment**, 46, pp.253-262. 2005
- UTOBO, E.; TEWARI, L. Soil enzymes as bioindicators of soil ecosystem status. **Applied ecology and environmental research**, 13, n. 1, p. 147-169, 2015.
- VAN AARLE, I. M.; ROUHIER, H.; SAITO, M. Phosphatase activities of arbuscular mycorrhizal intraradical and extraradical mycelium, and their relation to phosphorus availability. **Mycological Research**, 106, n. 10, p. 1224-1229, 2002.
- VAN DER HEIJDEN, M. G. A.; KLIRONOMOS, J. N.; URSIC, M.; MOUTOGLIS, P. Mycorrhizal fungal diversity determines plant biodiversity, ecosystem variability and productivity. **Nature**, 396, p. 69, 11/05/online 1998.
- VAN DER HEIJDEN, M. G.; BARDGETT, R. D.; VAN STRAALEN, N. M. The unseen majority: soil microbes as drivers of plant diversity and productivity in terrestrial ecosystems. **Ecology letters**, 11, n. 3, p. 296-310, 2008.

- VAN GEEL, M.; BUSSCHAERT, P.; HONNAY, O.; LIEVENS, B. Evaluation of six primer pairs targeting the nuclear rRNA operon for characterization of arbuscular mycorrhizal fungal (AMF) communities using 454 pyrosequencing. **Journal of Microbiological Methods**, 106, p. 93-100, 2014.
- RAIJ, B. VAN.; CANTARELLA, H.; ANDRADE, J.; QUAGGIO, J. Análise química para avaliação da fertilidade de solos tropicais. Instituto Agrônomo, Campinas, Brazil. **Análise química para avaliação da fertilidade de solos tropicais. Instituto Agrônomo, Campinas, SP, Brazil**. 2001.
- VERBRUGGEN, E.; ROLING, W. F. M.; GAMPER, H. A.; KOWALCHUK, G. A. *et al.* Positive effects of organic farming on below-ground mutualists: large-scale comparison of mycorrhizal fungal communities in agricultural soils. **New Phytologist** .2010.
- VERGÜTZ, L.; NOVAIS, R.F. Recomendações de Corretivos e Adubação. In: BORÉM, A., GALVÃO, J.C.C., PIMENTEL, M.A. **Milho do plantio à colheita**, Viçosa, MG, Ed. UFV, 2015, p. 108-137.
- VERZEAUX, J., HIREL, B., DUBOIS, F., LEA, P. J., TÉTU, T. *et al.* Agricultural practices to improve nitrogen use efficiency through the use of arbuscular mycorrhizae: basic and agronomic aspects. **Plant Science**, v. 264, p. 48-56, 2017.
- VIERHEILIG, H.; P. COUGHLAN, A.; WYSS, U.; PICHÉ, Y. Ink and Vinegar, a Simple Staining Technique for Arbuscular-Mycorrhizal Fungi. **Appl. Environ. Microbiol.**, v. 64, n. 12, p. 5004-5007, 1998
- WANG, P.; LIU, J. H.; XIA, R. X.; WU, Q. S. *et al.* Arbuscular mycorrhizal development, glomalin-related soil protein (GRSP) content, and rhizospheric phosphatase activity in citrus orchards under different types of soil management. **Journal of Plant Nutrition and Soil Science**, 174, n. 1, p. 65-72, Feb 2011.
- WILLIAMS, A.; MANOHARAN, L.; ROSENSTOCK, N. P.; OLSSON, P. A. *et al.* Long-term agricultural fertilization alters arbuscular mycorrhizal fungal community composition and barley (*Hordeum vulgare*) mycorrhizal carbon and phosphorus exchange. **New Phytol**, 213, n. 2, p. 874-885, Jan 2017.
- XAVIER, F. A. D. S.; DE OLIVEIRA, T. G. S.; ANDRADE, F. V.; DE SÁ MENDONÇA, E. Phosphorus fractionation in a sandy soil under organic agriculture in Northeastern Brazil. **Geoderma**, 151, n. 3-4, p. 417-423, 2009.
- XIANG, X., GIBBONS, S. M., YANG, J., KONG, J., SUN, R., CHU, H. Arbuscular mycorrhizal fungal communities show low resistance and high resilience to wildfire disturbance. **Plant and soil**, v. 397, n. 1-2, p. 347-356, 2015.
- XU, X., CHEN, C., ZHANG, Z., SUN, Z., CHEN, Y., JIANG, J., SHEN, Z. The influence of environmental factors on communities of arbuscular mycorrhizal fungi associated with *Chenopodium ambrosioides* revealed by MiSeq sequencing investigation. **Scientific reports**, v. 7, p. 45134, 2017.
- YU, G., FADROSH, D., GOEDERT, J. J., RAVEL, J., GOLDSTEIN, A. M. Nested PCR biases in interpreting microbial community structure in 16S rRNA gene sequence datasets. **PloS one**, v. 10, n. 7, 2015.
- YU, S.; HE, Z.; STOFFELLA, P.; CALVERT, D. *et al.* Surface runoff phosphorus (P) loss in relation to phosphatase activity and soil P fractions in Florida sandy soils under citrus production. **Soil Biology and Biochemistry**, 38, n. 3, p. 619-628, 2006.
- ZENG, H., ZHONG, W., TAN, F., SHU, Y., FENG, Y., WANG, J. The influence of Bt maize cultivation on communities of arbuscular mycorrhizal fungi revealed by MiSeq sequencing. **Frontiers in microbiology**, v. 9, p. 3275, 2019.
- ZHANG, L., XU, M., LIU, Y., ZHANG, F., HODGE, A., FENG, G. Carbon and phosphorus exchange may enable cooperation between an arbuscular mycorrhizal fungus and a phosphate-solubilizing bacterium. **New Phytologist**, v. 210, n. 3, p. 1022-1032, 2016.

APÊNDICES

APÊNDICE A. Teores de amônio, nitrato e nitrogênio total (amônio + nitrato) no solo nos manejos convencional (MC), transição (MT), orgânico (MO) e natural (MN) para os estádios fenológicos vegetativo 4 (V4), reprodutivo 1 (R1) e pós-colheita (PC). Letras maiúsculas comparam os estádios fenológicos dentro do mesmo tratamento e as minúsculas os estádios fenológicos entre os tratamentos ($p \leq 0.1$). (“-“) Representa ausência de diferença estatística.

	Amônio		Nitrato		Nitrogênio Total	
	-----mg.kg ⁻¹ -----					
MC V4	33.1	Aa	40.7	Aa	73.8	Aa
MC R1	9.7	B-	14.4	Ba	24.1	Ba
MC PC	5.8	Cbc	11.1	Bab	16.9	B-
MT V4	16.0	Ab	35.9	Aa	51.9	Ab
MT R1	9.2	B-	7.8	Ab	17.0	Bb
MT PC	6.9	Ba	10.9	Bab	17.7	B-
MO V4	10.2	Ac	25.1	Ab	35.3	Ac
MO R1	8.8	B-	5.3	Bb	14.1	Bb
MO PC	6.0	Cab	10.2	Cb	16.2	B-
MN V4	10.8	Abc	21.3	Ab	32.1	Ac
MN R1	9.1	B-	5.7	Cb	14.8	Cb
MN PC	5.0	Cc	11.4	Ba	16.5	B-

APÊNDICE B. Atividade enzimática das enzimas beta-glucosidase, fosfatase ácida e fosfatase alcalina nos manejos convencional (MC), transição (MT), orgânico (MO) e natural (MN) para os estádios fenológicos vegetativo 4 (V4), reprodutivo 1 (R1) e pós-colheita (PC). Letras maiúsculas comparam os estádios fenológicos dentro do mesmo tratamento e as minúsculas os estádios fenológicos entre os tratamentos ($p \leq 0.1$). (“-“) Representa ausência de diferença estatística.

	Beta-Glucosidase		Fosfatase Ácida		Fosfatase Alcalina	
	-----µg de PNF g solo seco ⁻¹ h ⁻¹ -----					
MC V4	48.2	Cb	513.7	Ba	88.1	Abc
MC R1	65.8	Bc	419.7	Ca	80.9	Bd
MC PC	85.7	Aab	551.4	Aa	105.1	Ab
MT V4	39.5	Cc	385.3	Bc	89.6	Bbc
MT R1	51.7	Bb	371.0	Bb	94.8	Bc
MT PC	81.5	Ab	408.0	Ab	129.6	Ab
MO V4	61.6	Ba	456.2	Ab	110.9	-b
MO R1	52.0	Cc	392.1	Bab	106.6	-b
MO PC	76.5	Ab	390.6	Bb	122.5	-b
MN V4	63.0	Ca	413.3	-bc	168.8	-a
MN R1	85.0	Ba	388.4	-ab	164.9	-a
MN PC	95.1	Aa	452.1	-b	172.2	-a

APÊNDICE C. Teores de das frações obtidas no fracionamento do fósforo nos manejos convencional (MC), transição (MT), orgânico (MO) e natural (MN) para os estádios fenológicos vegetativo 4 (V4), reprodutivo 1 (R1) e pós-colheita (PC). Letras maiúsculas comparam os estádios fenológicos dentro do mesmo tratamento e as minúsculas os estádios fenológicos entre os tratamentos ($p \leq 0.1$). (“-“) Representa ausência de diferença estatística.

	Fósforo Inorgânico					
	Lábil (mg.kg ⁻¹)		Moderado (mg.kg ⁻¹)		Não Lábil(mg.kg ⁻¹)	
MC V4	114.41	Aa	33.92	Abc	306.02	-a
MC R1	69.91	Ba	32.93	Ac	253.72	-b
MCPC	24.08	Cc	19.96	Bc	259.99	-bc
MT V4	68.35	Ab	42.99	-b	318.60	-a
MTR1	49.25	Bb	41.58	-b	333.82	-a
MT PC	33.78	Ca	36.02	-b	327.21	-ab
MO V4	33.17	-c	19.51	-c	225.33	-b
MO R1	27.97	-c	15.67	-d	218.33	-b
MO PC	26.39	-bc	18.85	-c	210.41	-c
MN V4	36.02	Ac	68.78	Aa	348.86	-a
MN R1	30.83	Bc	53.13	Aba	353.74	-a
MN PC	30.76	Bab	47.86	Ba	351.71	-a

	Fósforo Orgânico					
	Lábil(mg.kg ⁻¹)		Moderado(mg.kg ⁻¹)		Não Lábil(mg.kg ⁻¹)	
MC V4	24.74	Bab	171.92	Aa	66.75	Ab
MCR1	29.86	ABab	156.95	Aab	52.78	Bc
MC PC	30.53	B-	117.38	Bb	43.49	Cc
MTV4	21.99	Bb	123.15	-b	71.61	-b
MT R1	26.52	ABbc	118.64	-c	79.07	-b
MT PC	27.19	A-	113.06	-b	82.41	-b
MO V4	22.18	-b	131.51	-b	70.37	-b
MO R1	23.79	-c	132.36	-bc	66.68	-bc
MO PC	24.77	--	132.85	-b	71.23	-b
MNV4	28.74	-a	141.80	-b	168.94	-a
MN R1	31.46	-a	167.14	-a	160.75	-a
MN PC	29.19	--	163.58	-a	163.00	-a

APÊNDICE D. Percentual de colonização micorrízica nos manejos convencional (MC), transição (MT), orgânico (MO) e natural (MN) para os estádios fenológicos vegetativo 4 (V4), reprodutivo 1 (R1). Letras maiúsculas comparam os estádios fenológicos dentro do mesmo tratamento e as minúsculas os estádios fenológicos entre os tratamentos ($p \leq 0.1$). (“-”) Representa ausência de diferença estatística.

Tratamento	Colonização (%)
Convencional V4	17.3 -a
Convencional R1	18.5 --
Transição V4	9.3 -ab
Transição R1	14.9 --
Orgânico V4	13.4 Bab
Orgânico R1	26.3 A-
Natural V4	2.7 Bb
Natural R1	17.6 A-

APÊNDICE E. Análise de redundância baseada em distância com base nas comunidades de FMA e atributos químicos e biológicos do solo.

Eixos Canônicos	F	p -valor
Modelo	3.3883	0.001
Variáveis do modelo		
Nitrato	1.8046	0.020
Fosfatase Alcalina	7.5829	0.020
Alumínio	3.7369	0.684