**Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”
Centro de Energia Nuclear na Agricultura**

**Do convencional ao orgânico: respostas de um manejo de
transição em um pomar cítrico**

Sérgio Kenji Homma

Tese apresentada para obtenção do título de
Doutor em Ciências. Área de concentração:
Ecologia Aplicada

**Piracicaba
2017**

Sérgio Kenji Homma
Engenheiro Agrônomo

**Do convencional ao orgânico: respostas de um manejo de transição em
um pomar cítrico**

versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 6018 de 2011

Orientador:
Prof. Dr. **MARCOS VINICIUS FOLEGATTI**

Tese apresentada para obtenção do título de Doutor
em Ciências. Área de concentração: Ecologia
Aplicada

Piracicaba
2017

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

Homma, Sergio Kenji

Do convencional ao orgânico: respostas de um manejo de transição em um pomar cítrico / Sergio Kenji Homma. - - versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 6018 de 2011. - - Piracicaba, 2017.

110 p.

Tese (Doutorado) - - USP / Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz". Centro de Energia Nuclear na Agricultura.

1. Citricultura 2. Agricultura orgânica 3. Microbiologia do solo 4. Nutrição vegetal I. Título

Dedicatória

Aos meus pais Ken Homma (*in memoriam*) e Teruco Homma, pelo esforço de outrora para me colocar e me manter em uma universidade.

À minha eterna companheira e amada Mariângela, pela compreensão, apoio, estímulo e amor.

Aos meus filhos Lucas, Verônika e Bruno, minha fonte de motivação e perseverança.

À todas as pessoas envolvidas na agricultura deste país, em especial os agricultores.

AGRADECIMENTOS

À Deus, pelas constantes bênçãos e proteções, e à Mokiti Okada, pelas inúmeras iluminações e inspirações, por meio de seus Ensinaamentos.

Ao Prof. Dr. Marcos Vinicius Folegatti, um grande orientador, pai, irmão e amigo para todas as horas. Foi uma honra ser seu orientado.

Ao Programa Interunidades de Pós-Graduação em Ecologia Aplicada (PPGI-EA), à ESALQ e ao CENA, pela oportunidade.

À Fundação Mokiti Okada, através do seu Centro de Pesquisa, pelo apoio e suporte irrestrito. Muito obrigado à diretoria e à coordenação.

Aos companheiríssimos Rodrigo Longaresi, Wesley Fialho Costa, Diego Pelizari, Juliana Scotton, Amalia Campos, Reinaldo Botelho, Aleçandra Fialho e Cleiton Beijo do Centro de Pesquisa Mokiti Okada (CPMO), que juntos conduzimos este experimento durante cinco anos.

Ao Prof. Dr. Fernando D. Andreote e às técnicas Sonia Pires e Denise Mescolotti, pelas relevantes contribuições na microbiologia de solo deste trabalho.

Aos pesquisadores Dr. Mario E. Sato (Instituto Biológico) e Dra. Kátia Kupper (Centro de Citricultura Sylvio Moreira) pelo apoio e orientação na parte fitossanitária do experimento.

Ao técnico Gilmar Grigolon e ao Laboratório de Solos e Qualidade de Água do Departamento de Engenharia de Biossistemas, pelas análises de físicas de solo.

Ao amigo e companheiro Ademir Durrer Bigaton, pela importante ajuda na análise estatística e interpretação do conjunto de dados desta tese.

Aos professores Elke J.B.N. Cardoso, Takashi Muraoka, Isabella C. de Maria e José Carlos Casagrande pelas diversas contribuições e parcerias.

Um especial agradecimento à Mara Casarin, secretária do PPGI-EA, e a Beatriz Novaes, secretária do Depto de Engenharia de Biossistemas - ESALQ, muito mais do que excelentes profissionais um exemplo de ser humano.

À Fazenda Santo Antonio do Lageado, em especial ao diretor Milton Keigo Minowa e ao gerente Carlos R. Sabino de Campos, pelo apoio e compreensão.

Ao professor Hasime Tokeshi, meu orientador no mestrado, que nos apresentou à Fazenda Santo Antônio e orientou os primeiros anos deste experimento. Muita gratidão.

Aos coordenadores do CPMO Luiz Carlos Demattê Filho e Sakae Kinjo e todos os colaboradores e estagiários que contribuíram nos diversos momentos deste trabalho.

Minhas inspirações...

“A qualidade do solo é um fator importantíssimo, pois representa a força primordial para o bom ou mau resultado da colheita. Portanto, a condição principal para obtermos boas colheitas é a melhoria da qualidade do solo. Quanto melhor for o elemento terra, melhores serão os resultados” (Mokiti Okada¹, 01.07.1949).

“O princípio básico da Agricultura Natural consiste em fazer manifestar a força do solo. Até agora o homem desconhecia a verdadeira natureza do solo, ou melhor, não lhe era dado conhecê-la. Tal desconhecimento levou-o a adotar o uso de adubos e acabou por colocá-lo numa situação de total dependência em relação a eles, tornando essa prática uma espécie de superstição” (Mokiti Okada, 05.05.1953).

“Assim, o solo, que produz alimentos, é um maravilhoso técnico ao qual deveríamos dar grande preferência. Obviamente, como se trata do Poder da Natureza, a Ciência deveria pesquisá-lo. Entretanto, ela cometeu um grande erro: confiou mais no poder humano” (Mokiti Okada, 27.01.1954).

“A verdadeira viagem ao descobrimento não consiste em procurar novas paisagens, mas vê-los com novos olhos” Marcel Proust (1871~1922).

“Qualquer tolo inteligente consegue fazer coisas maiores e mais complexas. É necessário um toque de gênio e muita coragem para ir na direção oposta” Ernest F. Schumacher (1911-1977).

¹ Mokiti Okada (1822~1955), idealizador e fundador da Agricultura Natural, modelo de produção de alimentos baseados na Lei da Natureza, preconizou o alimento natural como uma das práticas de elevação espiritual e promoção da felicidade humana.

SUMÁRIO

RESUMO	8
ABSTRACT.....	9
1. INTRODUÇÃO.....	11
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	13
2.1. A CULTURA DOS CITROS: CONJUNTURA E DESAFIOS FITOSSANITÁRIOS	13
2.2. MANEJO CONVENCIONAL E A QUALIDADE DO SOLO	14
2.3. MANEJOS SUSTENTÁVEIS PARA A CITRICULTURA	15
2.4. CULTIVO ORGÂNICO: DIFICULDADE E LIMITAÇÕES	15
2.5. TRANSIÇÃO DO MODELO CONVENCIONAL PARA O ORGÂNICO	16
2.6. VARIÁVEIS DE SOLO NA AVALIAÇÃO DE MANEJOS	18
2.7. ESTRUTURA DE COMUNIDADE MICROBIANA DO SOLO	20
3. HIPÓTESE E OBJETIVOS	23
4. MATERIAL E MÉTODOS	25
4.1. ÁREA EXPERIMENTAL.....	25
4.2. TRATAMENTOS.....	26
4.3. MANEJOS AGRONÔMICOS NOS TRATAMENTOS	28
4.3.1. Planejamento das estratégias.....	28
4.3.2. Adubações aplicadas nos tratamentos	31
4.3.3. Controles fitossanitários aplicados nos tratamentos.....	32
4.3.4. Manejo das entrelinhas e plantas espontâneas.....	36
4.4. PLUVIOSIDADE E TEMPERATURA	37
4.5. PERÍODO DE AVALIAÇÃO	38
4.6. PLANO E PROCEDIMENTO AMOSTRAL	39
4.7. ANÁLISES QUÍMICAS DE SOLO E PLANTA	41
4.7.1. Análises de fertilidade química do solo.....	41
4.7.2. Análises químicas de teor nutricional foliar.....	41
4.8. ANÁLISES FÍSICAS DO SOLO.....	41
4.8.1. Curva de retenção de água do solo.....	41
4.8.2. Porosidade total, macroporosidade e microporosidade.....	42
4.8.3. Índice S (Slope)	42
4.8.4. Água disponível as plantas (ADP)	42

4.8.5. Densidade do solo.....	43
4.8.6. Estabilidade de agregados.....	43
4.9. ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS DO SOLO	44
4.9.1. Fungos micorrízicos arbusculares (FMA) e esporos viáveis no solo.....	44
4.9.2. Glomalina total e facilmente extraível.....	44
4.9.3. Carbono da biomassa microbiana.....	45
4.9.4. Quociente metabólico (qCO ₂).....	45
4.9.5. Quociente microbiano (qMIC)	46
4.9.6. PCR quantitativo (qPCR) de bactérias e fungos do solo.....	46
4.9.7. T-RFLP de bactérias e fungos	47
4.10. PRODUTIVIDADE E QUALIDADE DE FRUTOS	48
4.11. DAS PROFUNDIDADES DE AMOSTRAGEM DE SOLOS	49
4.12. ANÁLISES ESTATÍSTICAS.....	49
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	51
5.1. DOS MANEJOS AGRONÔMICOS APLICADOS NOS TRATAMENTOS	51
5.2. DOS RESULTADOS DA PRODUTIVIDADE.....	52
5.3. ANÁLISES DAS VARIÁVEIS DE SOLO E DE PLANTA NOS TRATAMENTOS.....	53
5.3.1. Análise global das variáveis do solo e da planta na série safras	53
5.3.2. Análise global das variáveis de solo e de planta na série tratamentos	55
5.3.3. Efeitos das variáveis sobre o conjunto de respostas nas três safras	57
5.3.4. Efeitos das categorias de variáveis sobre o conjunto de respostas	65
5.3.5. Contribuições das variáveis favoráveis ou indiferentes aos tratamentos .	68
5.4. ANÁLISES DE T-RFLP E ESTRUTURA DE COMUNIDADE DE BACTÉRIAS E FUNGOS	71
5.4.1. Análise global dos dados de T-RFLP na série safras.....	71
5.4.2. Análise global dos dados de T-RFLP na série tratamentos	73
5.4.3. Explicações das variáveis de solo na estrutura de comunidade	77
6. CONCLUSÕES	83
7. CONSIDERAÇÕES FINAIS	85
REFERÊNCIAS.....	87
ANEXOS	105

RESUMO

Do convencional ao orgânico: respostas de um manejo de transição em um pomar cítrico

Os modelos orgânicos de produção despontam como uma alternativa à agricultura convencional, entretanto, a falta de conhecimento para o processo ainda é uma grande lacuna. O objetivo deste trabalho foi testar o efeito da adoção gradual de insumos e práticas agronômicas mais ecológicas, até a total substituição por procedimentos permitidos pelas normas da produção orgânica (TRANS) na cultura dos citros. A comparação foi feita em área equivalente e contígua onde o manejo convencional da propriedade foi mantido (CONV). O ensaio foi conduzido por 5 anos dentro de uma quadra de produção comercial de citros. Para o presente estudo foram avaliadas as três últimas safras, sendo 2013/2014, 2014/2015 e 2015/2016. As variáveis de solo foram analisadas em duas profundidades (00-20 e 20-50 cm) e foram avaliados dados de: microbiologia do solo (qPCR e T-RFLP de bactérias e fungos, C-BMS, qCO₂, qMIC, micorriza e glomalina); física de solo (dados de Curva de Retenção e agregados estáveis) e; fertilidade do solo. Das variáveis de planta foram avaliadas: teor de nutrientes foliares, produtividade e índice “*ratio*” do suco. As comparações e as interações das variáveis no conjunto de respostas do ensaio foram analisadas pelo teste t de Student, Análise de Componentes Principais e Análises de Coordenadas Principais. O conjunto das variáveis de solo e planta mostraram melhores respostas no tratamento TRANS nas safras 13/14 e 14/15, convergindo com os melhores resultados de produtividade. Na safra 15/16 a resposta na nutrição das plantas, particularmente em N, Mn e Zn, não foram capazes de manter a produtividade nos mesmos patamares do CONV. A comunidade de bactérias e fungos do solo estruturaram-se de forma distinta na safra 13/14, em resposta ao manejo do tratamento TRANS e ao menor volume de chuva, e foram muito próximas nas safras 14/15 e 15/16, períodos mais chuvosos. Os dados trazem vários indicativos para subsidiar práticas agronômicas voltadas à transição para a citricultura orgânica e sustentável.

Palavras-chave: Citricultura; Agricultura orgânica; Microbiologia do solo; Nutrição vegetal

ABSTRACT

From conventional to organic: responses of a transition management in a citrus orchard

The organic agriculture systems appear as an alternative to conventional agriculture. However, the lack of knowledge to proceed the transition is still a big gap. The aim of this work was to test the effect of gradual adoption of ecological inputs and agronomic practices, up to total substitution for techniques allowed by organic agriculture rules (TRANS), in the citrus cultivation. The TRANS plots were compared with an equivalent and adjacent area, where the farmer conventional management was maintained (CONV). The experiment was carried out for five years inside a commercial orchard. For this work, the last three crops years were assessed: 2013/2014, 2014/2015 e 2015/2016. The variables were evaluated at two depths (00-20 and 20-50 cm) and the following analysis were performed: soil microbiology (bacteria and fungi qPCR and T-RFLP, MBC, qCO₂, qMIC, mycorrhizal fungi and glomalines); soil physics (data of water retention curve and stable aggregates); and soil fertility. From the plant variable: foliar nutrient content; fruits production and juice ratio index were evaluated. The results and interactions of the all variables were compared applying Student t test, Principal Components Analysis (PCA) and Principal Coordinates Analysis (PCoA). In general, the set of soil and plant variables shows the best responses in the TRANS plots, in the 13/14 and 14/15 crop years, and it matched with the best harvest results. In the 15/16 crop year, the plant nutrition responses, particularly N, Mn and Zn, was not capable to maintain the same levels of CONV plots fruits production. The structure of soil bacteria and fungi community shaped in different way, between treatments, in the 13/14 crop year, responding to the changes from TRANS and lower amount of rainfall. These structures were close to similar in the 14/15 and 15/16 crop years, when the amount of rainfall was higher. The data bring forward several indications to assist agronomical practices toward a transition to organic and sustainable citrus cropping.

Keywords: Citriculture; Organic agriculture; Soil microbiology; Plant nutrition

1. INTRODUÇÃO

Líder mundial na produção de laranja, o Brasil também é o maior exportador de suco concentrado. A citricultura é uma importante atividade do agronegócio brasileiro com significativa contribuição na pauta de exportação e na economia do país.

No campo a situação fitossanitária pressionada pela doença “Huanglongbing” (HLB), as dificuldades trabalhistas nas propriedades rurais e o modelo de comercialização imposto pelas indústrias de suco, são os maiores desafios. Por essas situações a citricultura vem sofrendo uma retração na área plantada.

Além do HLB, as diversas espécies de ácaros pragas e doenças fúngicas tem resultado no uso sistemático de defensivos químicos, impondo altos riscos à saúde dos trabalhadores, consumidores e ao meio ambiente. Diante deste cenário, é evidente a piora do equilíbrio biológico da monocultura cítrica, tornando-a mais vulnerável e susceptível às pragas e doenças. O resultado é a intensificação dos tratamentos fitossanitários, que por sua vez, aumenta o tráfego de máquinas agrícolas no campo, causando compactação no solo e prejuízos à biologia do agroecossistema.

Por outro lado, as preocupações com o aquecimento do planeta, a contaminação do solo, da água e dos alimentos estão cada vez mais recorrentes na sociedade mundial. Os modelos orgânicos de produção são vistos como uma alternativa ao modelo convencional, entretanto, ainda há lacunas nas técnicas agrônômicas e de operacionalidades, as quais limitam a produtividade e elevam os custos. Uma dessas lacunas é a pouca disponibilidade de conhecimentos para o processo de transição do convencional para o orgânico. Obviamente, não se trata apenas de uma simples substituição de insumos, mas sim de uma complexa substituição de processos.

Em estudos de comparação de diferentes manejos agrícolas as variáveis física, química e biológica são comumente utilizadas para avaliar a qualidade do solo. Para estudos integrativos do solo, testar as interações entre essas variáveis e suas contribuições no conjunto de respostas, são cientificamente produtivas. No campo da microbiologia do solo as análises por meio de técnicas moleculares, conhecidas como técnicas independentes de cultivo, têm ampliado enormemente as possibilidades de explicações, em diversas abordagens.

Este trabalho propõe contribuir para diminuir essas lacunas de conhecimentos no cultivo orgânico, testando em campo uma proposta de transição, a partir do cultivo convencional, extraindo dados através de avaliações de variáveis do solo e da planta.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. A cultura dos citros: conjuntura e desafios fitossanitários

Os citros pertencem à família Rutaceae e a maioria das espécies comercialmente cultivadas são do gênero *Citrus spp.* Seu centro de origem é a região sudeste do continente asiático, com ramos filogenéticos que se estendem do Centro da China ao Japão, e do Leste da Índia à Nova Guiné, Austrália e África Tropical. Saindo da China, os citros passaram pelo norte da África, depois para a Europa, presume-se que na Idade Média, e chegou ao Brasil no século XVI, trazida pelos portugueses. A laranja doce [*Citrus sinensis* (L.) Osbeck] é a espécie mais cultivada no Brasil atualmente (DONADIO; MOURÃO; MOREIRA, 2005).

O Brasil é ainda o maior produtor mundial da fruta e também o maior exportador, com 741.133 mil ha de área cultivada e 15.917.673 milhões de toneladas de frutos previstos para a safra 2017 (IBGE, 2017a). Contudo, o panorama da citricultura já foi melhor. Os pomares vêm diminuindo, em função da crescente quantidade de citricultores que estão abandonando a atividade. A área em colheita reduziu de 843.088 ha em 2010 para 666.340 ha em 2016 (FNP Consultoria & Comércio, 2016).

Maior produtor de laranja, respondendo por 73% da produção nacional, o estado de São Paulo é o mais atingido, tendo sofrido entre o período de 2010 e 2016, uma redução de aproximadamente 170 mil hectares da área colhida (FNP Consultoria & Comércio, 2016). Embora uma boa colheita a preços melhores seja esperada para a safra 2017, o mercado desfavorável dos anos anteriores e a substancial elevação de todos os componentes do custo de produção, devido a intensidade e variedade de pragas e doenças ocorrentes no pomar motivaram a queda na área plantada (BOTEON et al., 2017).

Doenças como a “podridão floral”, causada pelo fungo *Colletotrichum spp.*, a “mancha preta dos citros” (*Guignardia citricarpa*; *Phyllosticta citricarpa*), leprose [*Citrus leprosis* vírus (CiLV) transmitido pelo ácaro *Brevipalpus sp*], e pragas como os ácaros da falsa-ferrugem (*Phyllocoptruta oleivora*) e outros, exigem vigilância intensiva e pulverizações frequentes (FUNDECITRUS, 2017). Porém, atualmente, o destaque é para a doença “Huanglongbing” (HLB), patologia causada pela bactéria *Candidatus Liberibacter spp.* e transmitida pelo psílideo *Diaphorina citri* Kuwayama

(Hemíptera: Psyllidae), a qual passou a ser a mais devastadora das doenças em citros (BOVÉ, 2006; WANG; TRIVEDI, 2013). O controle do HLB se faz através do controle da população do psílideo, onde são realizadas pulverizações sistemáticas de inseticidas químicos. Somados às aplicações para o controle de outras pragas e doenças, um pomar pode receber até 20 pulverizações em um único ano, incorrendo em sérios riscos ao meio ambiente e à saúde humana (SPADOTTO et al., 2004; FUKUDA et al., 2010; MASCHIO, 2011; GOTTWALD, 2010; YAMAMOTO; ALVES; BELOTI, 2015).

O surgimento do HLB também vem causando fortes preocupações na questão da viabilidade econômica da atividade citrícola. Cumprir com todas as recomendações técnicas, referentes ao monitoramento fitossanitário e às pulverizações, pode acrescentar até U\$ 472,12 de custo a mais por ano para cada hectare (FUKUDA et al., 2010; BASSANEZI et al., 2011; DE OLIVEIRA et al., 2013).

2.2. Manejo convencional e a qualidade do solo

A intensificação dos tratamentos fitossanitários também impõe um aumento expressivo no tráfego de máquinas e implementos agrícolas pelo pomar, os quais resultam em danos à qualidade do solo e outras funcionalidades do ecossistema agrícola (LIMA et al., 2004; MINATEL et al., 2006).

A biologia do sistema é a parte mais sensível aos agroquímicos em geral, respondendo de diversas formas, conforme a natureza do material adicionado. O uso intensivo de controle químico fragiliza o equilíbrio biológico dentro do pomar, principalmente atingindo os predadores naturais, deixando-o mais vulnerável e susceptível às pragas (GODOY, 2004; DA SILVA et al., 2012).

No solo a microbiota também é bastante perturbada. Os fertilizantes químicos aplicados em doses elevadas e frequentes prejudicam o trabalho dos fungos micorrízicos (BREUILLIN et al., 2010; BALZERGUE et al., 2013), inibem a fixação biológica de nitrogênio pelos micro-organismos diazotróficos (KLINGER; LAU; HEATH, 2016), alteram a estrutura de comunidade microbiana (SAPP et al., 2015) e também as suas funcionalidades (HUSSAIN et al., 2009; RIAH et al., 2014; LEFF et al., 2015). Dentre os defensivos agrícolas o mais impactante estão os fungicidas, que também produzem alterações na microbiota do solo conforme seus componentes químicos (ZHOU et al., 2011; CAMPOS et al., 2015; WANG et al., 2016).

2.3. Manejos sustentáveis para a citricultura

Temas como o aquecimento global, as alterações climáticas, a contaminação do solo, corpos hídricos e alimentos, assim como, os constantes riscos à saúde humana, estão cada vez mais na pauta de preocupações e questionamento de consumidores, pesquisadores e agentes públicos e privados. O argumento de que o modelo atual de produção agrícola é o único capaz de suprir a demanda de alimentos, está cada vez menos ressonante na sociedade mundial. Assim, estimulados pelas novas demandas, principalmente dos consumidores, pesquisadores e instituições de pesquisas vêm se lançando em novos paradigmas, estudando modelos, cuja melhoria e preservação do conjunto físico-químico-biológico do agroecossistema se tornam ingredientes primários da produção agrícola.

Na citricultura, a partir da década de 90, pesquisadores e produtores propuseram novas alternativas de manejo de solo e matéria orgânica na busca de um modelo mais sustentável. Manejo das áreas de entrelinhas, incentivando a produção de fitomassa, principalmente gramíneas, foi testado como método de reposição de matéria orgânica e conservação do solo. Os resultados apareceram de maneira bastante positiva, tais como: maior oferta de material orgânico, maior proteção do solo, alívio na compactação, melhora na infiltração da água, maior crescimento das raízes e estímulo aos fungos micorrízicos arbusculares (FMA) (CARVALHO, 1999; FABER; DOWNER; MENGE, 2001; FIDALSKI; TORMENA; SILVA, 2007; BREMER NETO et al., 2008; WANG et al., 2012). Entretanto, com o advento do HLB o tráfego de maquinários dentro do pomar e o volume de agroquímicos aumentaram significativamente, limitando a expressão de tais benefícios (FOCCHI et al., 2004; FIDALSKI; TORMENA; SCAPIM, 2007; BECERRA et al., 2010).

2.4. Cultivo orgânico: dificuldade e limitações

Atualmente os modelos orgânicos de produção agrícola, vêm conquistando a simpatia dos consumidores e despertando a atenção dos agentes públicos. Essa corrente vem crescendo mundialmente são normatizadas e reguladas por legislações de cada país. No Brasil a produção orgânica vem se desenvolvendo de forma crescente sob a égide da Lei Federal n.10,831 de 23.12.2003 e suas normativas (BRASIL, 2017; MAPA, 2017a).

Há iniciativas em cultivo orgânico na citricultura brasileira, porém, as informações referentes a essa modalidade de produção ainda são escassas. Pelos dados publicados no último CENSO Agropecuário, em 2006, o Brasil tinha 2.373 ha de área de citros orgânico certificado, conforme a legislação orgânica, dos quais 2.295 ha estavam no estado de São Paulo, ou seja, 96,7% do total de todo o país (IBGE, 2017b). Não foi possível precisar a situação atual, mas os grandes produtores de laranja orgânica de outrora descontinuaram a sua produção (informação não oficial).

Após uma animada expansão na década de 2000, muitas das barreiras ainda continuam dificultando quem está persistindo ou entrando no ramo. A falta de um controle fitossanitário eficaz, queda de produtividade e qualidade, falta de mão obra, custo elevado e as peculiaridades do mercado de produtos orgânicos, são os principais desafios (PETRY et al., 2012; SCALCO; OLIVEIRA; COBRE, 2015; TURRA; SANTOS, 2016).

De maneira geral, a agricultura orgânica ainda tem muitas questões a serem solucionadas. O manejo de nutrição das plantas ainda não é eficiente, com baixo desempenho por unidade produtora (TUOMISTO et al., 2012; SACCO et al., 2015). No manejo fitossanitário os custos são elevados e a eficiência de controle ainda deixa a desejar (KREMEN; MILES, 2012; VAN BRUGGEN; GAMLIEL; FINCKH, 2016). No manejo de plantas espontâneas as recomendações de rotações e consórcios com outras espécies mostram potencial de controle, porém, o efeito vem a médio prazo e sob em aplicação continua (MIRSKY et al., 2013; BAKER; MOHLER, 2015; LEHNHOFF et al., 2017). Ainda há a ausência de materiais genéticos mais afeitos ao cultivo orgânico, dotadas de melhores habilidades nas interações planta, micro-organismos e solo (CRESPO-HERRERA; ORTIZ, 2015).

2.5. Transição do modelo convencional para o orgânico

Migrar para o modelo orgânico ainda é um grande desafio. No âmbito tecnológico, converter uma área de cultivo convencional para um modelo ecológico ainda é um mergulho no escuro para o agricultor. Não há muitas certezas a não ser as conhecidas dificuldades, acima mencionadas, e enquanto em conversão a produção não pode ser comercializada como orgânico, conforme a legislação vigente (BRASIL, 2017; MAPA, 2017a).

Há ainda uma grande lacuna no conhecimento científico que possa subsidiar estratégias viáveis de migração do modelo convencional para o orgânico. No entanto, com os avanços da ciência do solo, notadamente no campo da microbiologia, vêm se assimilando novos conceitos para o manejo agrônomo. O novo compasso é descolar do conceito de manejar propriedades físicas, químicas e biológicas do solo, e direcionar-se ao conceito de manejar as suas funcionalidades (PAUL, 2007; ANDREOTE; CARDOSO, 2016). A primeira visão é fortemente alicerçada em operar insumos, baseados em análises de propriedades, e a segunda em operar processos, por meio de avaliações multidisciplinares das funcionalidades do ecossistema. Um grande salto de raciocínio, um grande desafio para a ciência e para a agricultura.

A transição do cultivo convencional para o orgânico requer planejamento e conhecimento das implicações de cada prática agrícola. O processo transitivo é a construção de um novo status no ambiente agrícola e do ponto de vista agrônomo, basicamente, tem as seguintes premissas: (i) construir o equilíbrio biológico do ecossistema para amenizar a pressão de pragas e doenças de plantas; (ii) construir uma qualidade de solo que seja fisicamente estruturado, quimicamente equilibrado e biologicamente ativo, para que no conjunto, todas as suas funções sejam efetivas em prol do desenvolvimento vegetal (GLIESSMAN, 2009).

A construção do equilíbrio biológico na área produtiva requer que o ambiente seja botanicamente mais diversificado e que os inseticidas e acaricidas sejam de maior seletividade aos predadores naturais e insetos úteis (PUENTE; DARNALL; FORKNER, 2011; FIALHO COSTA et al., 2016). Há várias referências na literatura científica sobre os efeitos deletérios e seletividade dos produtos de controle fitossanitários sobre os predadores naturais e insetos úteis (GODOY et al., 2004; DA SILVA et al., 2012; BELOTI et al., 2015;). O Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) disponibiliza informações sobre as características toxicológicas dos pesticidas, através de seu site na internet, o Sistemas de Agrotóxicos Fitossanitários (AGROFIT) (MAPA, 2017b). No controle de doenças os fungicidas também necessitam ser previamente selecionados, conforme seu grau de impacto sobre as importantes e necessárias funções da microbiota do solo (FOX et al., 2007; RIAH et al., 2014; CAMPOS et al., 2015).

Em função das limitações e desconhecimentos nos sistemas orgânicos, no que se refere as respostas na nutrição vegetal, o planejamento é fundamental para a transição. Os fertilizantes de alta solubilidade são os mais prejudiciais às

funcionalidades da microbiota, por exemplo, as atividades dos fungos micorrízicos e fixação biológica de nitrogênio (LIU et al., 2015; KLINGER; LAU; HEATH, 2016). A substituição por fontes de menor solubilidade faz parte da estratégia de transição que, ao final, terá que se enquadrar nas opções aceitas pelas normas da produção orgânicas (BRASIL, 2017; MAPA 2017a). Concomitantemente, é recomendada a adoção dos consórcios e/ou rotações, com espécies leguminosas ou não, no intuito de fixar nitrogênio atmosférico, promover a ciclagem dos minerais e aportar carbono ao processo (PONISIO et al., 2015; TAUTGES et al., 2016). O uso complementar de fertilizantes orgânicos, compostos orgânicos, resíduos de agroindústria e adubos comerciais, é bastante aplicável até a fertilidade do solo atingir níveis adequados (LUCAS; D'ANGELO; WILLIAMS, 2014; SHARIFI et al., 2014).

Quanto ao manejo de plantas espontâneas é recomendado o uso sistemático de rotação e consórcios com leguminosas e não leguminosas (MIRSKY et al., 2013; BAKER; MOHLER, 2015). Entende-se que, inicialmente os herbicidas químicos sejam utilizados racionalmente e retirados gradativamente com o avançar da transição.

Em experimento anteriormente conduzido, testou-se a transição em tangerina 'Murcott' [*Citrus reticulata* Blanco x *C. sinensis* (L.) Osbeck]. Os resultados em qualidade de solo e equilíbrio biológico do pomar foram animadores. Contudo, a substituição abrupta dos insumos convencionais comprometeu o resultado produtivo no segundo ano, embora tenha apresentado uma melhora no terceiro ano (HOMMA et al., 2012). Não há dados de ensaio experimentais de transição para o cultivo orgânico em citros, registrado na literatura científica. Praticamente todos os dados disponíveis foram oriundos de pesquisas exploratórias, de forma que há poucas referências para balizar os novos ensaios.

2.6. Variáveis de solo na avaliação de manejos

O resultado de produção é a referência básica nos ensaios agrônômicos conduzidos em campo. Entretanto, sendo uma variável resposta a produtividade é o resultado de um conjunto de variáveis explicativas. No novo pensamento de manejo, as variáveis explicativas são as funcionalidades do solo, por meio das interações de seus atributos físico, químico e biológico.

A boa qualidade do solo é dependente do bom estado de seus atributos físicos, químicos e biológicos, ou seja, estar permeável à água e aos gases, estar hábil

em reservar e disponibilizar adequadamente água, nutrientes e carbono, estar propício às atividades biológicas (UPHOFF et al., 2006; KIBBLEWHITE; RITZ; SWIFT, 2008).

Embora as propriedades tradicionais da física do solo sejam indicadores bastante robustos e fundamentais para atestar a qualidade do solo, seus dados são mais perceptível em situações em que ocorrem mobilizações da terra, adensamentos por tráfego de maquinários, pisoteio por animais e áreas sujeitas a erosão (SALEM et al., 2015; DEPERON JÚNIOR et al., 2016). Em culturas perenes, como os citros, as variáveis físicas têm sido bastante utilizadas para mostrar as condições do solo nas entrelinhas dos pomares, justamente a faixa de tráfego (FIDALSKI; TORMENA; SILVA, 2010). Já na faixa de plantio não ocorre muitas variações nos aspectos físicos do solo, devido a inexistência de mobilização ou pisoteio (MINATEL et al., 2006; BORDIN et al., 2008; CHERUBIN et al., 2015).

Estudos mais recentes da física do solo integrado com a microbiologia vêm evidenciando que, mais do que a quantidade de agregados e poros, são suas qualidades que fazem a diferença. Apesar do agregado de solo ser tratado como uma variável da física do solo, esse complexo é formado de partículas de solo, matéria orgânica e uma rica microbiota, sendo, portanto, uma entidade dinâmica onde ocorrem intensas atividades físicas, químicas e biológicas (GUPTA; GERMIDA, 2015). Sabe-se, atualmente, que quanto maior a heterogeneidade dos poros, em classes e formas geométricas, maior a diversidade microbiana no seu interior (OR et al., 2007; VOS et al., 2013). Tais características dos poros, determinam a composição filogenética da comunidade microbiana local e, assim, definem a direção e a magnitude do processo de decomposição do carbono orgânico no seu interior (NEGASSA et al., 2015; RABBI et al., 2016). Diferenças significativas são observadas nas estruturas de comunidades microbianas entre as diferentes classes de poros. Estudos biogeográficos na escala das classes de poros do solo, podem auxiliar de forma relevante a compreensão da relação entre a diversidade e a funcionalidade das estruturas microbiana (RUAMPS; NUNAN; CHENU, 2011).

Dentre as propriedades do solo, a microbiologia demonstra ser a mais sensível às práticas agrícolas, o que confere a essas variáveis um interessante potencial de indicação da qualidade de solo (MUÑOZ-ROJAS et al., 2016; STONE et al., 2016). Há algumas críticas em relação a fidedignidade desses indicadores, visto que a microbiota e suas atividades são fortemente governadas por fatores físico-

químicos do solo e pelas variáveis climáticas (GRIFFITHS; PHILIPPOT, 2013). Não obstante, os tradicionais parâmetros microbiológicos, como carbono da biomassa microbiana do solo (C-BMS), quociente microbiano (qMIC) e quociente metabólico (qCO₂), vêm sendo empregado em inúmeros trabalhos científicos, mostrando expressiva superioridade nos resultados em áreas de cultivo orgânico, plantio direto e rotações de culturas (KASCHUK; ALBERTON; HUNGRIA, 2010).

A microbiologia do solo deu saltos gigantescos com a incorporação das técnicas moleculares, classificados como métodos independentes de cultivo. Baseadas na detecção e análise dos perfis de DNA em amostras de solo, o método proporciona análise mais fiel da estrutura e funcionalidade microbiana, diversidade de espécies e mais uma infinidade de possibilidades. Recentemente, a automatização dos métodos de sequenciamentos de DNA vem proporcionando redução substancial nos custos, e associados a ferramentas de bioinformáticas, geram conhecimentos impensáveis a menos de duas décadas atrás (DURRER; ANDREOTE, 2016). Na atualidade, dos 10 parâmetros mais recomendados para estudos microbiológicos 7 utilizam técnicas moleculares (STONE et al., 2016). Comparações da microbiota de áreas com cultivo orgânico e convencional e áreas em transição tem registrado ocorrências de estruturas microbianas distintas com amplas vantagens em diversidade para o orgânico (HARTMANN et al., 2015).

Os parâmetros de fertilidade de solo são largamente utilizados para correção de solo e cálculo de adubações. Em avaliações de qualidade de solo essas informações são úteis para fazer correlações com as variáveis microbiológicas e eventualmente da física do solo. Elevação da fertilidade, principalmente por doses elevadas de NPK, tem sido correlacionada com alteração no perfil taxonômico e funcional de bactérias, arqueias e fungos micorrízicos no solo, neste último com redução na abundância. Em geral o pH e o C orgânico são as variáveis de fertilidade de solo mais mencionadas em correlações com micro-organismos (SHI et al., 2014; LEFF et al., 2015; LIU et al., 2015). No campo da física há relatos sobre interações dos teores de Fe e pH com agregados de solo (REGELINK et al., 2015).

2.7. Estrutura de comunidade microbiana do solo

A comparação das estruturas de comunidade microbiana é feita com a ordenação dos dados da análise de T-RFLP (*Terminal Restriction Fragment Length*

Polymorphism). A análise T-RFLP se baseia na mensuração do polimorfismo de comprimento de fragmentos de restrição terminal de 16S rDNA extraído e amplificado por PCR (*Polimerase Chain Reaction*) (LIU et al., 1997). Essa técnica proporciona a possibilidade de investigar e comparar a dinâmica das comunidades de micro-organismos e suas mudanças de estrutura, em respostas aos fatores físico-químicos prevalente do ambiente estudado (OSBORN; MOORE; TIMMIS, 2000).

Em solos de áreas cultivadas há mais de 20 anos, utilizando somente adubações orgânicas, foram observadas significativas mudanças na estrutura da comunidade microbiana, quando comparado com solo fertilizado com adubos químicos. Diferentes quantidades e qualidades de adubos orgânicos produzem estruturas distintas (BERTHRONG; BUCKLEY; DRINKWATER, 2013; HARTMANN et al., 2015). O pH é outro forte fator que governa as estruturas de comunidade, principalmente de bactérias no solo (KAISER et al., 2016).

3. HIPÓTESE E OBJETIVOS

A hipótese deste estudo é que, a substituição gradual dos insumos e práticas do manejo convencional por opções ecologicamente mais compatíveis, promove melhorias no conjunto das variáveis físicas, químicas e microbiológicas do solo e que suas interações possibilitam a manutenção da resposta produtiva, configurando uma estratégia de transição sustentável.

O objetivo deste trabalho é testar a hipótese acima, em um pomar cítrico comercial, avaliar as respostas por meio das interações dos dados de atributos físicos, químicos e biológicos, condição nutricional foliar, produtividade e consolidar os resultados, ponderando as suas aplicabilidades.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Área experimental

A presente pesquisa ocorreu dentro de um experimento conduzido pelo Centro de Pesquisa Mokiti Okada - CPMO, desde janeiro de 2011, na Quadra 20 do pomar cítrico da Fazenda Santo Antonio do Lageado (22°08'49,4"S e 47°10'47,6"W), município de Mogi Guaçu, Estado de São Paulo. Trata-se de um pomar comercial de laranja doce (*Citrus sinensis* L. Osbeck) variedade Westin, sobre porta enxerto limoeiro Cravo (*Citrus limonia* L. Osbeck), implantado em 2007, e sub-enxertado em campo com citrumeleiro Swingle (*Citrus paradisi* MACF x *Poncirus trifoliata* (L) RAF). O tipo de solo da área experimental é o latossolo vermelho amarelo, textura média (Tabela 1) com níveis de fertilidade médio nas entrelinhas e boa nas linhas de plantio na profundidade 00-20 cm, no início do experimento (Tabela 2). A classificação do clima local é tipo Cwa, mesotérmico, com verões quentes e úmidos e invernos secos.

Tabela 1. Teores de argila, silte e areia do solo. Metodologia EMBRAPA (1997).

Profundidade	Argila	Silte	Areia
	(%)		
00-20 cm	20	12	68
20-50 cm	23	11	66

A área experimental totaliza 4,5 ha e está situada na extremidade norte da quadra 20 da propriedade. A condição de relevo é próxima ao plano e a área é rodeada em dois lados por outras quadras de citros e em duas com cana de açúcar (Figura 1).

Tabela 2. Fertilidade do solo dos tratamentos Transição e Convencional, nas profundidades 00-20 cm e 20-40 cm de amostras compostas retiradas das linhas e entre linhas da área experimental em março/2011.

	Linha				Entrelinha			
	Transição		Convencional		Transição		Convencional	
	00-20	20-40	00-20	20-40	00-20	20-40	00-20	20-40
pH	6,28	5,40	6,29	5,50	6,01	4,90	6,01	4,90
MO	21,1	15,0	22,5	14,0	21,6	12,0	25,1	10,0
P	90,6	14,0	86,9	5,0	30,7	4,0	32,0	4,0
S	4,2	6,2	4,9	5,2	3,5	9,4	3,7	10,2
K	4,62	2,10	4,76	3,20	0,60	0,60	0,48	0,30
Ca	36,7	20,0	39,2	13,0	31,4	12,0	36,1	11,0
Mg	19,3	8,0	17,7	7,0	13,7	5,0	16,0	5,0
H + Al	15,7	22,0	15,7	20,0	19,1	25,0	22,0	25,0
CTC	76,32	52,1	77,36	43,2	64,8	42,6	74,58	41,3
B	0,65	0,30	0,56	0,30	0,42	0,20	0,40	0,20
Cu	13,2	5,0	12,4	3,5	13,7	3,0	12,4	2,5
Fe	29,9	27,5	32,5	28,0	27,8	27,0	32,0	30,0
Mn	5,1	3,0	6,0	1,5	3,5	1,0	2,8	1,0
Zn	5,3	4,8	4,3	2,0	2,5	2,0	2,9	2,0

Unidades: pH (CaCl_2); MO (g.dm^{-3}); P e S (mg.dm^{-3}); K, Ca, Mg, H+Al e CTC (mmolc.dm^{-3}); B, Cu, Fe, Mn e Zn (mg.dm^{-3}). Metodologia de análise de Raij et al. (2001).

4.2. Tratamentos

Duas faixas experimentais, com 2,25 ha cada, foi demarcada na Quadra 20 e atribuída uma para cada tratamento (Figura 1). Cada tratamento foi composto de 1.000 plantas, divididas em oito fileiras de 125 plantas. As duas fileiras centrais foram reservadas para avaliação e as três fileiras laterais foram mantidas como bordaduras (Figura 2). As 10 plantas nas extremidades das duas fileiras de avaliação, também foram consideradas bordaduras. Dentro das duas fileiras de avaliação, descontadas as bordaduras, foram definidos 10 conjuntos de 8 plantas contíguas, distribuídas ao longo dessas, as quais formaram as parcelas de avaliação.

Os 2 tratamentos comparados foram:

- T1: Tratamento Transição - TRANS
- T2: Tratamento Convencional - CONV

Figura 1. Vista aérea da propriedade e da área experimental, com indicação das linhas de avaliação dos Tratamentos: T1- TRANS e; T2 - CONV.

Figura 2. Aspectos das linhas de avaliação do experimento

4.3. Manejos agronômicos nos tratamentos

4.3.1. Planejamento das estratégias

No tratamento CONV, todas as operações de adubação, tratos fitossanitários e práticas culturais foram planejadas para seguirem os métodos usuais da propriedade, ou seja, no modo convencional, conforme Tabela 3.

Tabela 3. Planejamento das quantidades anuais de insumos e práticas culturais na área do Tratamento Convencional

Insumos / Operações	Quantidades
Adubações de solo e foliares¹	
Cloreto de Potássio (60% K ₂ O)	250 a 300 kg.ha ⁻¹
Nitrato de Cálcio + B; 15,5% N, 19% Ca, 0,3% B	1.000 a 1.200 kg.ha ⁻¹
Fertilizantes foliares (N, P, K + micronutrientes)	15 a 20 L.ha ⁻¹
Controle fitossanitário²	
Inseticidas, acaricidas e fungicidas de diversos grupos químicos recomendados para a cultura de citros	14 a 16 x.ano ⁻¹
Controle de vegetação espontânea³	
Herbicidas químicos nas linhas de citros	3 a 4 x.ano ⁻¹
Roço mecânico nas entrelinhas	5 x.ano ⁻¹

¹ Quantidades calculadas para laranjas (*in natura*) a produtividades de 30 a 40 t.ha⁻¹.

² Frequência estimada pelo histórico de aplicação da propriedade.

³ Frequência estimada pelo histórico de aplicação e roçagem da propriedade.

No tratamento TRANS, todas as operações de adubação, tratos fitossanitários e práticas culturais convencionais foram planejadas para serem gradualmente substituídas e adaptadas, conforme Tabela 4. Os inseticidas, acaricidas e fungicidas usuais da propriedade foram classificados quanto à sua seletividade aos predadores naturais, e substituídos por opções menos impactantes. A seleção de inseticidas e acaricidas e a estratégia de aplicação foi planejada com base em literaturas (GRAVENA, 2005; PARRA; OLIVEIRA; PINTO, 2003; YAMAMOTO; BASSANEZI, 2003) e informações disponibilizadas pelo sistema Agrofít (Sistemas de Agrotóxicos Fitossanitários) do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA, 2017b), quanto ao grau de seletividade aos indivíduos não alvos.

Tabela 4. Planejamento anual de adubação, controle fitossanitário e manejo da vegetação espontânea na área do Tratamento Transição.

Insumos / Operações	Ações
Adubações de solo e foliares	
Cloreto de Potássio (60% K ₂ O)	Reduzir 25% por ano
Nitrato de Cálcio + B; 15,5% N, 19% Ca, 0,3% B	Reduzir 25% por ano
Fertilizantes foliares (N, P, K + micronutrientes)	Reduzir 25% por ano
Sulfato de Potássio (48% K ₂ O)	Em substituição ao KCl
Bokashi (3% N; 1% P; 1% K)	500 a 800 kg.ano ⁻¹
Adubações verde ¹	Plantio anual
Controle fitossanitário	
Inseticidas e acaricidas químicos	Substituição por opções de alta seletividade ² e introdução do controle biológico
Fungicidas químicos	Substituição por opções de menor agressividade ³ aos FMAs e introdução de controle biológico
Controle de vegetação espontânea	
Herbicidas químicos nas linhas de citros	Substituição pelo roçadeira de linha
Roço mecânico nas entrelinhas	Manter

¹Feijão de porco (*Canavalia ensiforme*) na linha e Desmódio (*Desmodium ovalifolium* cv Itabela) na entrelinha.

²Classificação: 1 - não seletivo; 2 - baixa seletividade; 3 - moderada seletividade; 4 - boa seletividade e; 5 - alta seletividade pelo Sistema AGROFIT (MAPA, 2017a). Classificação específica quanto a seletividade a ácaros predadores (GRAVENA, 2005).

³Classificação: 1 - baixo impacto; 2 - médio impacto e; 3 - alto impacto, baseados em testes em placas de Petri para fungos filamentosos e ensaios com vasos em casa de vegetação para FMA

Os fungicidas mais utilizados pelo citricultor no restante do pomar foram testados em placas de Petri, com o meio de cultura ágar Sabouraud e batata dextrose, para estimar o grau de perturbação sobre um conjunto de fungos filamentosos associados à estabilização dos agregados de solo (BOSSUYT et al., 2001). O impacto de alguns desses fungicidas sobre a colonização micorrízica foi conferido em literatura científica (ABD-ALLA; OMARA; KARANXHA, 2000; GIOVANNETTI et al., 2006) e outros foram testados em casa de vegetação do CPMO (CAMPOS et al., 2015).

A introdução do controle biológico das doenças “queda prematura de frutos” (*Colletotrichum acutatum*) e “mancha preta dos citros” (*Guignardia citricarpa* Kiely anamorfo *Phyllosticta citricarpa* Mcalpine 1973), foi por meio da pulverização de

isolados de *Bacillus subtilis* com potencial inibidor sobre os patógenos (KUPPER; BELLOTTE; GOES, 2009; KUPPER et al., 2011).

A adubação no tratamento TRANS foi planejada para uma gradual redução e substituição dos fertilizantes solúveis, por opções de disponibilização mais lenta, e uso de um composto orgânico fermentado “Bokashi”, conforme Tabela 4.

4.3.2. Adubações aplicadas nos tratamentos

As adubações não foram realizadas totalmente conforme programadas, ao longo do experimento. No tratamento CONV houve oscilações nas dosagens de fertilizantes, por decisão do citricultor, em função da produção estimada pela florada e as oscilações esperadas para o preço da laranja no mercado. No tratamento TRANS o total dos elementos NPK é a soma dos originados das adubações químicas e orgânicas e as doses seguiram conforme Figura 3. No tratamento TRANS as doses de N ocorreram como exposto na Figura 4A. No tratamento CONV a inclusão de P e K ocorreu de forma pontual, principalmente nas safras 14/15 e 15/16, baseado na interpretação técnica do citricultor e também nas expectativas de produção e mercado. No tratamento TRANS o fornecimento de P e K ocorreu prioritariamente por adubos orgânicos (Figuras 4B e 4C).

Figura 3. Quantidade total de aporte dos elementos NPK, via adubação de solo nas safras, nos tratamentos Transição e Convencional.

Figura 4. Quantidade de aporte dos nutrientes N, P e K, adicionados via adubação de solo nas safras, nos tratamentos Transição e Convencional.

4.3.3. Controles fitossanitários aplicados nos tratamentos

O controle fitossanitário dos tratamentos se procederam utilizando produtos disponíveis na propriedade e outros especialmente adquiridos, almejando mais seletividade e redução do impacto sobre a biologia do sistema (Tabela 5).

Tabela 5. Ingredientes ativos e classificação em químico não seletivo (QNS), químico seletivo QS) e biológicos (BIO) dos inseticidas, acaricidas, fungicidas e herbicidas aplicados na área do ensaio experimental.

Inseticidas		Fungicidas	
Clorpirifós	QNS	Piraclostrobina	QNS
Beta-ciflutrina	QNS	Tebuconazol + Trifloxistrobina	QNS
Lambda-cialotrina	QNS	Oxicloreto de Cu ¹	QS
Fosmete	QNS	Hidróxido de Cu ¹	QS
Imidacloprido	QS	<i>Bacillus subtilis</i>	BIO
Azadiractina	BIO	Herbicidas	
<i>Bacillus thuringiensis</i>	BIO		
<i>Beauveria bassiana</i>	BIO		
<i>Metarhizium anisopliae</i>	BIO		
Acaricidas		Glifosato (2 tipos)	QNS
Abamectina	QNS	Carfentrazona-etílica	QNS
Hexitiazoxi	QNS		
Spirodiclofen	QS		
Enxofre ¹	QS		

¹Aceitos com restrições pela Instrução Normativa n.46, da Lei n.10.801, da Produção Orgânica no Brasil.

O controle de pragas dos tratamentos foi realizado baseado em monitoramentos de pragas e doenças, conforme Gravena (2007), com o auxílio de “pragueiros” da propriedade e inspeções adicionais pelos técnicos do Centro de Pesquisa Mokiti Okada. O controle biológico de pragas no TRANS, principalmente com produtos comerciais à base de fungos entomopatogênicos, foi introduzido de forma gradual, em substituição aos químicos (Figura 6A).

O tratamento TRANS teve uma redução de aproximadamente 40% nas quantidades totais de aplicações de produtos de controle fitossanitário por safra, comparado com o tratamento CONV (Figura 5). Devido ao uso combinado de produtos de controle fitossanitário, de finalidades similares ou diferentes, a quantidade de produtos aplicados não é o mesmo que o número de pulverizações. No período do ensaio foram conduzidas em média 14 operações de pulverização por safra. As aplicações dos produtos biológicos (BIO) no TRANS, exigiram a pulverização em separado, em função da sua natureza ou ao horário de aplicação.

As substituições dos insumos de controle ocorreram conforme planejado (Figura 6A, 6B e 6C). Na safra 15/16, último ano de conversão, em função dos altos índices de chuva, foram necessárias intervenções com quatro acaricidas a base de enxofre e quatro pulverizações de fungicida a base de cobre (Figura 6B e 6C), produtos categorizados neste estudo como QS, porém, aceitos pela legislação brasileira de produção orgânica (Tabela 5).

Na safra 2015/2016, somente insumos que se enquadram na legislação brasileira de agricultura orgânica foram utilizados (Lei Federal n.10.831, 23.12.2003; Instrução Normativa n.46) (BRASIL, 2017; MAPA, 2017a).

Figura 5. Total de aplicações dos produtos de controle fitossanitários (inseticidas, acaricidas, fungicidas e herbicidas) no ensaio experimental.

Figura 6. Quantidade de aplicações de inseticidas, acaricidas e fungicidas, químicos não seletivos (QNS), químicos seletivos (QS) e biológicos (BIO).

4.3.4. Manejo das entrelinhas e plantas espontâneas

O controle de mato na linha de plantio do tratamento CONV foi basicamente com herbicidas químicos baseados no composto glifosato. A Carfentrazona-etílica foi eventualmente utilizada para contenção de espécies resistente ao primeiro.

No tratamento TRANS, o controle da vegetação espontânea na linha de plantio, inicialmente feito com herbicidas químicos, foram gradualmente substituídos pelo roço mecânico (Figura 7). Foi utilizada uma roçadeira do tipo “ecológica”, a qual lança o material roçado para a linha de plantio, sob a copa das árvores, proporcionando a cobertura morta e fornecimento de matéria orgânica. Nas entrelinhas, no primeiro ano do experimento, foi aplicado uma dose de pó de rocha basáltica (800 kg.ha^{-1}) e o condicionador Bokashi (400 kg.ha^{-1}), com o objetivo de estimular o crescimento da vegetação, basicamente braquiárias, para geração de matéria orgânica e proteção do solo ao impacto gerado pelo tráfego de máquinas. O roço mecânico foi realizado em linhas alternadas para preservar áreas de abrigo aos insetos úteis ao equilíbrio biológico do ecossistema agrícola.

Figura 7. Total de aplicações de herbicidas para o controle de plantas invasoras na faixa da linha de plantio.

4.4. Pluviosidade e temperatura

Os dados climatológicos apresentados neste trabalho são referentes ao ciclo produtivo da safra da laranja doce cv. Westin, que inicia no mês de agosto de um ano e encerra em julho do ano seguinte.

A pluviosidade média no município de Mogi Guaçu, estado de São Paulo, é $1.320 \text{ mm.ano}^{-1}$ (CEPAGRI, 2017). O ensaio iniciou na safra 11/12 em um período bastante chuvoso, passando por um período de seca rigorosa na safra 13/14 e finalizou na safra 15/16, com volumes muito acima da média histórica do local (Figura 8A). As médias de mínima e máximas anuais de temperatura atmosférica registradas no período foram muito similares entre si (Figura 8B).

Figura 8. Regime pluviométrico nos períodos safra e médias de máxima e mínima mensal da temperatura atmosférica. Fonte: Registros da própria propriedade.

4.5. Período de avaliação

As análises e comparações realizadas nesta tese de doutorado foram baseados em dados dos períodos-safras 2013/2014 a 2015/2016, portanto, os três últimos anos do experimento.

4.6. Plano e procedimento amostral

As amostras de solo para análises dos atributos químicos, físicos e microbiológicos foram programadas e executadas em abril de cada ano. O critério considerado foi o período intermediário entre a estação chuvosa e a seca, quando se tem mais representatividade das amostras à safra avaliada e melhores condições para coleta. As amostras de solo foram colhidas em três perfis (A, B e C), tipo trincheira, de buracos previamente escavados. A escavação inicial foi feita com o auxílio de um perfurador mecânico acoplado à tomada de força de um trator. Posteriormente, as trincheiras foram ajustadas manualmente com pás cortadeiras, de maneira que ao final, resultasse em 50 cm x 50 cm de abertura e 70 cm de profundidade.

Os pontos de amostragem foram previamente escolhidos ao lado 10 plantas, distribuídas entre as duas fileiras de avaliação do experimento. O posicionamento do ponto de amostragem foi sempre no quadrante oeste das plantas, no limite da projeção da copa e a um metro do eixo da linha de plantio (Figuras 9 e 10).

Figura 9. Posicionamento dos pontos de amostragens e detalhe dos perfis de amostragem de solo para as análises dos atributos químicos, físicos e microbiológicos.

Figura 10. Escavação e ajuste de perfil para amostragem de solo.

As amostras de solo foram coletadas nas camadas de 00-10, 10-20, 20-30 e 30-50 cm em 10 repetições por tratamento. As amostras deformadas de solo para as análises microbiológicas e químicas foram retiradas dos perfis A, B e C e as amostras indeformadas, para as avaliações físicas, foram retiradas do perfil B e C. Foram adotados os procedimentos para evitar a contaminação entre profundidades na amostragem e entre amostras no transporte. As amostras para análises químicas e microbiológicas foram acondicionadas em sacos plásticos e reservados em caixas térmicas de poliestireno. As amostras indeformadas colhidas com anéis volumétricos de aço inoxidável (50 cm^3), protegidas em papel alumínio e reservadas em caixas térmicas de poliestireno. As amostras indeformadas colhidas na forma de monólitos de 1.000 cm^3 foram acomodadas em recipientes plásticos rígidos com tampa e reservados em containers plásticos. As amostras foram transportadas ao laboratório do Centro de Pesquisa Mokiti Okada (CPMO), localizado no município de Ipeúna, SP. No laboratório, as amostras foram preparadas e enviadas para os laboratórios pré-definidos para as análises.

4.7. Análises químicas de solo e planta

4.7.1. Análises de fertilidade do solo

As análises de fertilidade do solo amostrados em 4 profundidades, foram realizadas no Laboratório de Análise Química de Solos e Planta da Universidade Federal de São Carlos - UFSCar, campus de Araras, SP, utilizando o método de Raij et al. (2001).

4.7.2. Análises químicas de teor nutricional foliar

As análises químicas foliares também foram conduzidas no laboratório da UFSCar de Araras. Amostras da terceira e quarta folha a partir do fruto (2 a 4 cm de diâmetro), 10 amostras por tratamento colhidas nos meses de fevereiro, foram analisadas para determinação dos conteúdos de macro (N, P, K, S, Ca, Mg e K) e micronutrientes (Cu, Zn, Fe, Mn, Zn e B) (QUAGGIO; VAN RAIJ; PIZA JUNIOR, 1997).

4.8. Análises físicas do solo

4.8.1. Curva de retenção de água do solo

A caracterização da curva de retenção de água (CRA) foi determinada nas amostras das 4 profundidades pelo método de Richards; Fireman (1943) com adaptações de Grigolon (2012), no Laboratório de Física do Solo do Departamento de Engenharia de Biossistemas da ESALQ/USP.

A umidade volumétrica residual e os parâmetros de ajustes do modelo foram calculados com auxílio do software Retention Curve (RETC), (VAN GENUCHTEN et al. 1991). O parâmetro m é dependente de n e foi calculado de acordo com a eq. (1). Após a obtenção dos parâmetros, foi utilizada a eq. (2) de Van Genuchten (1980) para determinar os valores estimados da umidade do solo, obtidos no equilíbrio com os respectivos potenciais estudados.

$$m = 1 - \left(\frac{1}{n} \right) \quad (1)$$

$$\theta = \theta_{res} + \frac{\theta_{sat} - \theta_{res}}{[1 + (\alpha|\Psi_m|)^n]^m} \quad (2)$$

Onde θ = umidade volumétrica do solo ($m^3.m^{-3}$); θ_{res} . = umidade volumétrica residual ($m^3.m^{-3}$); θ_{sat} . = umidade volumétrica de saturação ($m^3.m^{-3}$); $|\Psi_m|$ = potencial matricial (hPa); α (hPa), n e m são parâmetros de ajuste do modelo.

4.8.2. Porosidade total, macroporosidade e microporosidade

A umidade, porosidade total, macro e microporosidade do solo foram calculados a partir dos dados provenientes da caracterização da curva de retenção de água (CRA). A porosidade total foi definida pela umidade correspondente ao potencial 0, ou seja, solo saturado. A macroporosidade foi calculada pela diferença entre os potenciais de 0 e 60 cm.c.a e a microporosidade pela diferença entre a porosidade total e a macroporosidade.

4.8.3. Índice S (Slope)

O Índice “S” é um parâmetro físico de solo, proposto por Dexter (2004), que pela inclinação da reta tangente no ponto de inflexão da curva de CRA, indica a distribuição dos poros por tamanho e geometria. O índice S das amostras foi calculado utilizando os parâmetros da CRA e de acordo com a eq. (3).

$$S = -n(\theta_{sat} - \theta_{res}) \left(1 + \frac{1}{m}\right)^{-(1+m)} \quad (3)$$

Onde θ_{res} . = umidade volumétrica residual ($m^3.m^{-3}$); θ_{sat} . = umidade volumétrica de saturação ($m^3.m^{-3}$) e n e m são parâmetros de ajuste do modelo.

4.8.4. Água disponível as plantas (ADP)

A água disponível para as plantas foi determinada a partir dos dados da curva de retenção de água (CRA), por meio da diferença entre a capacidade de campo (100 cm.c.a) e o ponto de murcha permanente (15000 cm.c.a).

4.8.5. Densidade do solo

A determinação da densidade do solo foi feita no laboratório do CPMO. Os anéis volumétricos com as amostras das 4 profundidades foram secos em estufa a 105 °C por 48 horas e pesados. Posteriormente, descontado o peso do anel, previamente conhecido, foi calculado a densidade do solo pela eq. (4) (EMBRAPA, 1997).

$$D_s \text{ (g. cm}^{-3}\text{)} = \frac{a}{b} \quad (4)$$

Onde a = peso da amostra seca (g) e b = volume do anel (cm³).

4.8.6. Estabilidade de agregados

As análises de estabilidade de agregados de solo foram conduzidas no laboratório do CPMO. As amostras indeformadas (monólitos), coletada nas 4 profundidades, foram secas ao ar por 24 horas, destorroadas inicialmente de forma manual e finalizadas em um agitador eletromagnético dotada de peneiras de 9,5 a 1,0 mm de abertura de malha. Dos agregados retidos na peneira de 4,0 mm, uma pequena parte foi separada para determinação de umidade e o restante submetidos ao tamisamento úmido no agitador de Yoder. As classes de agregados foram determinadas após secagem em estufa 105 °C por 24 horas (KEMPER; CHEPIL, 1965; EMBRAPA, 1997). A estabilidade dos agregados foi calculada pela eq. (5) e expressa mm do diâmetro médio geométrico (DMG).

$$DMG = \exp \left[\frac{\sum_{i=1}^n w_i \log \bar{x}_i}{\sum_{i=1}^n w_i} \right] \quad (5)$$

Onde w_i = massa dos agregados retidos em cada uma das classes (g) e $\log x_i$ = logaritmo do diâmetro médio das classes de peneiras utilizadas (mm).

4.9. Análises microbiológicas do solo

4.9.1. Fungos micorrízicos arbusculares (FMA) e esporos viáveis no solo

Os índices de colonização micorrízica foram avaliados no próprio laboratório do CPMO, a partir de amostras de raízes finas coletadas em 4 pontos, 10 repetições por tratamento, na profundidade de 00-20 cm, na projeção da copa de árvores das parcelas de repetição em fevereiro de cada ano. Neste período ocorre a plena atividade de captação de nutrientes pelas plantas de citros. A quantidade de 1 g de raízes finas, para cada amostra, foi clareada e corada, conforme método de Vierheilig et al. (1998), e a contagem de colonização radicular foi feita por observação em microscópio óptico (100x) pelo método do comprimento em lâmina (MCGONIGLE et al., 1990). A quantificação de esporos viáveis no solo foi realizada através do peneiramento úmido (GERDEMANN; NICHOLSON, 1963) seguido de centrifugação e flutuação em sacarose (JENKINS, 1964).

4.9.2. Glomalina total e facilmente extraível

As análises para quantificação das frações de glomalina facilmente extraível (EE-GRSP) e glomalina total (T-GRSP) das amostras de solos das 4 profundidades, coletada nos meses de abril, foram feitas no laboratório do CPMO.

Para a EE-BRSP foi utilizado 1 g de solo peneirado em malha de 2 mm e adicionado 8 mL de citrato de sódio 20 mM e pH 7,0. Em seguida, foi realizada extração em autoclave a 121 °C por 30 minutos. Após a extração, o material foi centrifugado a 3.500 rpm durante 30 minutos (WRIGHT; UPADHYAYA, 1998). O sobrenadante foi filtrado e quantificado em espectrofotômetro a 590 nm, com valores de proteína expressos a partir de uma curva padrão (BRADFORD, 1976).

Para a T-GRSP foi utilizado 1 g de solo peneirado em malha de 2 mm e adicionado ao solo 8 mL de citrato de sódio 50 mM e pH 8,0. Em seguida as amostras foram submetidas a sucessivos ciclos de autoclavagem (3 a 10 ciclos) a 121 °C por 60 minutos ou até que a amostra atingisse a cor amarelo clara. Terminado os ciclos, as amostras foram centrifugadas a 3.500 rpm por 5 minutos (RILLIG et al., 2003). Para a quantificação seguiu-se o mesmo procedimento realizado para a glomalina facilmente extraível.

4.9.3. Carbono da biomassa microbiana

O carbono da biomassa microbiana (C-BMS) das amostras de solo em 4 profundidades foram analisados pelo método da fumigação-extração (VANCE; BROOKES; JENKINSON, 1987) no laboratório do CPMO. Alíquotas de 20 g de solo, peneirado em malha de 2 mm e com umidade acertada em 60% da capacidade de campo, foram fumigadas com clorofórmio isento de etanol em dessecador por 24 horas. O carbono microbiano, das amostras fumigadas e não fumigadas, foi extraído com sulfato de potássio 0,5 M e tituladas com sulfato ferroso amoniacal 0,033 M. O cálculo do carbono da biomassa microbiana foi feita com a eq. (6).

$$C - BMS = 2,64 \times E_c \quad (6)$$

Onde: C-BMS = carbono da biomassa microbiana; 2,64 = fator de correção; E_c = diferença entre o solo fumigado e o solo não fumigado.

4.9.4. Quociente metabólico (qCO_2)

As análises de respiração basal foram feitas nas amostras de solo das 4 profundidades e conduzidas no laboratório do CPMO. Porções de 50 g de solo peneirado em malha de 2 mm, com umidade corrigida para 60% da capacidade de campo, acondicionadas em frascos de vidro com tampa, juntamente com outro frasco contendo 10 mL de NaOH, foram incubadas em B.O.D. isenta de luminosidade a 26°C por 7 dias. Posteriormente, foram titulados com ácido clorídrico 0,5 M e os valores submetidos ao cálculo conforme eq. (7) (SILVA et al., 2007).

$$RBS \text{ (mg C - CO}_2 \text{ Kg}^{-1} \text{ solo hora}^{-1}) = \frac{\left(\frac{((V_b - V_a) \times M \times 6 \times 1000)}{P_s} \right)}{T} \quad (7)$$

Onde: RBS = CO_2 evoluído da respiração basal do solo; V_b (mL) = volume do ácido clorídrico gasto na solução controle ou branco; V_a (mL) = volume do ácido clorídrico gasto na amostra; M = molaridade exata do ácido clorídrico; P_s = massa de solo seco (g); T = tempo de incubação da amostra em horas.

A determinação do quociente metabólico do solo foi realizada por meio da divisão entre os valores de respiração basal do solo e carbono da biomassa microbiana, conforme eq. (8) descrita por Silva et al. (2007).

$$qCO_2 \text{ (mg C - CO}_2 \text{ g}^{-1} \text{ BMS - C hora}^{-1}) = \frac{RBS}{C - CBMS} \quad (8)$$

Onde: qCO_2 = quociente metabólico do solo; RBS = respiração basal do solo; C-BMS = carbono da biomassa microbiana.

4.9.5. Quociente microbiano (qMIC)

O quociente microbiano foi calculado segundo a relação entre carbono da biomassa microbiana e carbono orgânico total, seguindo a metodologia e eq. (9) de Powlson et al. (1987):

$$qMIC (\%) = \left(\frac{C - BMS}{COT} \right) \times 100 \quad (9)$$

Onde: $qMIC$ = quociente microbiano do solo; C-BMS = carbono da biomassa microbiana; COT = carbono orgânico total.

4.9.6. PCR quantitativo (qPCR) de bactérias e fungos do solo

As amostras de solo das 4 profundidades foram peneiradas e homogeneizadas e uma alíquota reservada para a quantificação de cópias de DNA de bactérias e fungos. Foram utilizadas 0,4g de solo por amostra para o procedimento, elaborado com o Kit PowerSoil DNA Kit (Mobio Laboratories, EUA), de acordo com instruções do fabricante. A quantificação do número de cópias de genes de 16S rRNA de bactéria e ITS rRNA de fungos foi avaliada por meio de reações de PCR quantitativo, utilizando o aparelho IQ5 (BioRad, EUA), com o sistema *SYBR Green I*. Estas foram efetuadas em um volume final de 25 μ L, contendo: 12,5 μ L de *Platinum® Quantitative PCR Supermix-UDG* (Invitrogen, Brasil), 0,2 mM de iniciadores descritos na Tabela 6. Para verificar a especificidade da amplificação, as curvas de desnaturação (*melting*) foram realizadas com temperaturas crescentes, a partir de 72

°C e chegando a 96 °C. As estimativas do log do número de cópias dos genes alvos avaliados por grama de solo foram calculadas comparando os valores de Ct obtidos com os da curva padrão previamente construídas, a qual foi realizada utilizando de 10^2 a 10^{10} cópias do molde por ensaio ($R^2 = 0,99$). A eficiência do qPCR (E) foi calculado de acordo com a equação $E = [10^{(-1/\text{slope})} - 1]$ e determinada em 91% para bactérias e 90,4% para fungos.

Tabela 6. Organismos alvos, *primers* utilizados e condição de amplificação na análise de qPCR

Organismos Alvos	<i>Primers</i>	Condições amplificação	Referência
Bactérias	<i>P1</i> (5'-CCT ACG GGA GCG AGC AG-3 ') e <i>P2</i> (5'-ATT ACC GCG GCT GCT GG-3 ')	Desnaturação inicial a 98 °C durante 2 min, seguido por 35 ciclos de 95 °C durante 30 s, 57 °C durante 30 s e 72 °C durante 90 s.	(MUYZER, 1993)
Fungos	ITS1f (5' - TCCGTAGGTGAACCTG CGG - 3') e 5.8s (5' - CGCTGCGTTCTTCATC G - 3').	Desnaturação inicial a 95 °C por 15 min, seguido de 40 ciclos de 95 °C por 1 min, 53 °C de temperatura de anelamento por 30s e 72 °C por 1 min.	(FIERER et al., 2005)

4.9.7. T-RFLP de bactérias e fungos

A análise da estrutura da comunidade bacteriana e fúngica foi realizada com base no T-RFLP (*Terminal Restriction Fragment Length Polymorphism*) dos genes 16S de rRNA e ITS rRNA, respectivamente. A amplificação do gene alvo e os primers adotados estão descritos na Tabela 7. Para ambos os grupos microbianos, as reações foram realizadas em um volume final de 50 µl, contendo: 1X Tampão de PCR, 3 mM de MgCl₂, 200 µM de dNTP, 0,2 µM de cada primer, 0,04 U/ µL de Taq DNA polimerase (Fermentas, São Paulo, Brasil) e 1 µL do DNA molde. Posteriormente, as amostras foram purificadas com isopropanol 75%, onde aproximadamente 100 ng dos produtos foram clivados com 5 U da enzima *HhaI* para bactérias e *HaeIII* para fungos (Fermentas, São Paulo, Brasil), segundo recomendações do fabricante. Por último, estes produtos foram precipitados com acetato de sódio 3 M e EDTA 125 mM, ressuspendidos em formamida *Hi-DI* com o marcador *LIZ 600* (Applied Biosystems) e

analisados em um sequenciador *ABI 3500* (Applied Biosystems). Para obtenção das matrizes de abundância de picos entre as amostras foi utilizado o programa Gene Mapper 4.1, o qual a obteve os valores a partir do cálculo das áreas dos picos encontradas em cada uma das amostras.

Tabela 7. Grupo microbiano, *primers* utilizados e condição de amplificação na análise de T-RFLP.

Grupo Microbiano	<i>Primers (5'-3')</i>	Condições de amplificação	Referência
Bactérias	FAM*-8fm - AGAGTTTGATCMTGGCTCAG 1404R-Eub – GGGCGGWGTGTACAAGGC	Desnaturação inicial a 95 °C durante 5 min, seguido por 30 ciclos de 95 °C durante 30 s, 53 °C durante 30 s e 72 °C durante 30 s, com uma extensão final de 72 °C por 10 min.	SCHÜTTE et al. (2009)
Fungos	FAM*-ITS1F- TCC GTA GGT GAA CCT GCG G ITS4 - - TCCTCCGCTTATTGATATGC	Desnaturação inicial a 94 °C por 1 min e 30 s; 13 ciclos de 94 °C por 35 s; 55 °C por 55 s; 72 °C por 45 s; 13 ciclos de 94 °C por 35 s; 55 °C por 2 min; 72 °C por 45 s; 9 ciclos de 94 °C por 35 s; 55 °C por 3 min; 72 °C por 45 s e uma extensão final a 72 °C por 10 min.	GARDES; BRUNS, (1993)

4.10. Produtividade e qualidade de frutos

A produtividade foi determinada em rendimentos de frutos (kg.pl^{-1}) de três plantas por parcela de repetição, nos dois tratamentos. A qualidade industrial do suco das frutas foi determinada pelo índice “ratio”, obtida pela razão entre o teor de sólidos solúveis totais (SST) e a acidez total titulável (ATT), determinadas em laboratório conforme procedimentos de Carvalho et al. (1990). As colheitas ocorreram nos meses de junho de cada ano e as frutas foram analisadas no laboratório do CPMO.

4.11. Das profundidades de amostragem de solos

A proposta inicial foi a avaliação do conjunto de variáveis de solo em quatro profundidades (00-10, 10-20, 20-30 e 30-50 cm). Entretanto, ao analisar os dados no teste de similaridade ANOSIM (*Analysis of Similarity*), não se observou dissimilaridades entre as profundidades 00-10 e 10-20 cm ($R = 0,1471$, p valor = 0,001) e, também, entre 20-30 e 30-50 cm ($R = 0,1902$, p valor = 0,001), que justificassem a análise em separado. A distinção do conjunto de variáveis se mostraram mais definidas entre as profundidades de 00-20 e 20-50 cm ($R = 0,4386$, p valor = 0,001). Logo, foi optado pela fusão dos dados e procedido as análises estatísticas considerando as camadas 00-20 e 20-50 cm de profundidade.

4.12. Análises estatísticas

Os dados foram submetidos ao teste de normalidade de Shapiro-Wilk, ao teste de homocedasticidade de Bartlett e as médias foram comparadas pelo teste t de Student a 5% de significância. As interações das variáveis de solo e produtividade foram avaliadas por análise de componentes principais (PCA – *Principal Components Analysis*), análise de similaridade ANOSIM (*Analysis of Similarity*) e análise de SIMPER (*Similarity Percentages*). A análise de coordenadas principais (PCoA – *Principal Coordinates Analysis*) e a análise PERMANOVA com a função Adonis (*Permutacional Multivariate Analysis of Variance with Adonis function*) foram utilizadas para as análises dos perfis de T-RFLP. Foram aplicados através dos programas estatísticos R® e PAST (PAleontological STatistics, version 3.02).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Dos manejos agronômicos aplicados nos tratamentos

Na adubação do tratamento TRANS, houve uma redução substancial de quantidades de NPK aportado (Figura 3 em Material e Métodos). Na safra 15/16 o tratamento recebeu apenas adubações orgânicas, que resultaram em 13,0 kg de N, 4,3 kg de P e 6,5 kg de K por hectare. O tratamento CONV recebeu 106 kg de N, 11,8 kg de P e 55 kg de K por hectare (Figura 4A, 4B e 4C em Material e Métodos).

A quantidade de N disponibilizada ao tratamento TRANS ficou muito abaixo da programada para este trabalho. O planejamento de plantio de leguminosas nas linhas e entrelinhas do pomar neste experimento não pode ser cumprido. Embora os adubos verdes tenham mostrado efeitos benéficos em estudos anteriores (MINATEL, 2006; RAGOZO; LEONEL; CROCCI, 2006), no novo contexto imposto pelo HLB, com a intensificação do tráfego de tratores e implementos agrícolas para as pulverizações e tratos culturais, inviabilizaram a implantação dos plantios da forma que foram propostas. No caso do tratamento TRANS as pulverizações foram com opções permitidas pelas normas da produção orgânica. Partindo para uma tentativa com uma espécie rasteira, o *Desmodium ovalifolium* (cv. Itabela), indicada para plantios em consórcio em pastagens, a germinação em campo falhou em duas sementeiras. Faltam informações sobre a implantação desta espécie leguminosa em entrelinhas de pomares e de seus eventuais efeitos. Essa situação mostra a necessidade de novas estratégias para trabalhos futuros.

Em relação ao manejo fitossanitário, o tratamento TRANS teve uma redução de aproximadamente 40% nas quantidades totais de aplicações de produtos de controle fitossanitário por safra, comparado com o tratamento CONV (Figura 5). Foram 30 aplicações de diversos produtos no CONV e 16 no TRANS, sendo que neste último 8 foram de natureza biológica e 8 de natureza química, porém aceitos pelas normas da produção orgânica.

Os controles propostos no TRANS se mostraram suficientes na contenção de pragas, como insetos e a maioria dos ácaros. O controle biológico utilizado para patógenos de citros não foi totalmente eficaz, principalmente, para a mancha preta dos citros. Em outros ensaios de campo, o uso de *Bacillus* spp no controle da “mancha preta dos citros” ainda não tem sido totalmente satisfatório (BERNARDO; BETTIOL,

2010; KUPPER, 2011), entretanto, as evoluções em novas seleções, combinações e formulações de micro-organismos certamente podem melhorar esses resultados (KLEIN; SILVA; KUPPER, 2016; DE LIMA et al., 2017). O tratamento TRANS, na safra 15/16, teve mais dificuldades em controlar a “mancha preta dos citros” do que o CONV. Além do mais, a nutrição mais limitada, imposta pelo sistema orgânico, fez com que as plantas infectadas pela doença HLB expressassem os sintomas de forma um pouco mais severa do que no CONV.

5.2. Dos resultados de produtividade

Os resultados de produtividade no decorrer das safras, avaliados por rendimento de massa de frutos ($\text{kg} \cdot \text{ha}^{-1}$) e o índice “ratio” ($\text{SST} \cdot \text{ATT}^{-1}$), foram marcados pela alternância de respostas entre os tratamentos TRANS e CONV. Ao final, o rendimento médio ficou estatisticamente similar dentre os tratamentos (Figura 11). Resultado semelhante foi observado no índice “ratio”, que determina a qualidade industrial dos frutos (Figura 12).

Figura 11. Rendimento em massa de frutos por planta.

Figura 12. Qualidade comercial do suco pela taxa de 'ratio'.

Na média das cinco safras, não houve diferença estatística entre os rendimentos em massa de frutos e qualidade do suco dos tratamentos, um resultado bastante positivo ao tratamento TRANS. Contudo, na última safra, mesmo com diversos efeitos positivos em algumas variáveis de solo, ficou evidenciada a necessidade de algumas correções para equacionar a questão produtiva. Os maiores desafios foram no campo da fitossanidade, notadamente o HLB e a “mancha preta dos frutos”, e no campo da nutrição vegetal, em função das limitações das técnicas e dos insumos permitidos pelas normas da produção orgânica, bem como, pela falta de maiores conhecimentos nesta área, como discutida no item anterior.

A seguir será apresentada e discutidas os resultados das variáveis de solo e planta, escolhidas para avaliar a evolução das respostas do solo ao manejo de transição.

5.3. Análises das variáveis de solo e de planta nos tratamentos

5.3.1. Análise global das variáveis do solo e da planta na série safras

Para se obter uma visão global das respostas, foi feita a interação dos dados das variáveis do solo, atributos microbiológicos, físicos e químicos, conjugado com as variáveis da planta, condição nutricional foliar, produtividade e qualidade industrial do

suco, por meio da análise de componentes principais (PCA – *Principal Components Analysis*).

Numa primeira abordagem, todo o conjunto de dados foi tratado fixando a série temporal e, posteriormente, a série tratamentos, objetivando-se avaliar os efeitos de períodos e de tratamento.

Figura 13. Análise de componentes principais (PCA) da série temporal do conjunto das variáveis microbiológicas, físicas e químicas de solo, nas profundidades de 0 a 20 e 20 a 50 cm, conjugadas com a condição nutricional da planta, produtividade, nas safras 13/14, 14/15 e 15/16.

Na série temporal, os agrupamentos de dados se distinguiram entre si nas safras 13/14, 14/15 e 15/16 nos gráficos de PCA, demonstrando que as respostas do conjunto de variáveis foram diferentes entre as safras nas duas profundidades (Figura 13). A dissimilaridade entre os agrupamentos dos dados das safras na PCA foi confirmada pelo teste ANOSIM, sendo: $R = 0,6580$ e $p \text{ valor} = 0,001$, para o extrato

00-20 cm e; $R = 0,6225$, p valor = 0,001, para 20-50 cm. Isso indica que o efeito temporal foi relevante na evolução das respostas dos tratamentos. O volume crescente das chuvas e as substituições gradativas de insumos e práticas agronômicas no tratamento TRANS, no decorrer dos três períodos-safra, são os fatores que mais explicam este resultado.

O volume total de chuva por safra no presente estudo foi bastante oscilante, com 944, 1.306 e 1.841 mm de chuva, nas safras 13/15, 14/15 e 15/16, respectivamente. Na primeira safra os volumes de chuva foram 28,5% abaixo da média, na segunda safra foi dentro da média e a terceira safra com 39,5% maior do que a média histórica do local. A influência do fator chuva, na série temporal de ensaios em longo prazo, sobre variáveis semelhantes aos avaliadas neste trabalho é conhecidamente determinante (MATÍAS; CASTRO; ZAMORA, 2012; NG et al., 2015; ZHAO et al., 2016).

5.3.2. Análise global das variáveis de solo e de planta na série tratamentos

Na interação entre os dados das variáveis na série tratamentos, nas profundidades 00-20 e 20-50 cm, a PCA mostrou uma nítida segregação dos agrupamentos de dados do TRANS e do CONV ao longo das três safras (Figura 14). O grau de dissimilaridade foi significativo ($p \leq 0,05$) pelo teste de ANOSIM, sendo no extrato 00-20 cm: $R = 0,6579$, $R = 0,6292$ e $R = 0,5943$ e; no extrato 20-50 cm: $R = 0,7726$, $R = 0,7767$ e $R = 0,4445$ para as safras 13/14, 14/15 e 15/16, respectivamente.

Essa diferenciação entre os dados dos tratamentos, converge com as diferenciações de manejo aplicadas no tratamento TRANS, em relação ao CONV. Melhorias nas propriedades físicas, químicas e, principalmente, microbiológicas do solo, resultantes da redução de agroquímicos, inclusão de adubações orgânicas e controle fitossanitário mais ecológicos já foram observados em estudos de solo (TU et al., 2006; HOMMA et al., 2012; SANTOS et al., 2012). Do contrário, o potencial efeito dos agroquímicos do manejo convencional, sobre a qualidade microbiológicas do solo também é conhecido. Fertilizantes e fungicidas químicos aplicados em doses elevadas e frequentes alteram ou inibem as atividades da microbiota do solo, conforme seus componentes químicos (ZHOU et al., 2011; BALZERGUE et al., 2013; LEFF et al., 2015; SAPP et al., 2015; KLINGER; LAU; HEATH, 2016).

Figura 14. Análise de componentes principais (PCA) das variáveis microbiológicas, físicas e químicas de solo, nas profundidades de 0 a 20 e 20 a 50 cm, conjugadas com a condição nutricional da planta e produtividade, dos tratamentos Transição e Convencional, nas safras 13/14, 14/15 e 15/16.

Em resumo, na escala temporal, o efeito climático e o manejo de transição foram preponderantes na evolução do conjunto de respostas do ensaio. Na escala tratamentos, o manejo diferenciado do TRANS definiu as diferenças de respostas a cada período safra. Os dois tratamentos foram conduzidos em áreas contíguas, com as mesmas características de solo, planta e clima, e o único fator diferente foi o tipo de manejo aplicado em um dos tratamentos.

5.3.3. Efeitos das variáveis sobre o conjunto de respostas nas três safras

Na abordagem das contribuições das variáveis na dissimilaridade entre os tratamentos, observado na plotagem dos dados nos gráficos de PCA, a matriz de dados foi submetida à análise de percentual de similaridade SIMPER (*Similarity Percentages*). Para a discussão desses resultados, foram consideradas apenas as contribuições estatisticamente significativas ($p \leq 0,05$) do teste de SIMPER para as safras 13/14, 14/15 e 15/16.

De modo geral, das 45 variáveis avaliadas, na safra 13/14, 14 responderam significativamente ($p \leq 0,050$) por 34,37% no efeito de dissimilaridade entre os tratamentos no extrato 00-20 cm e 14 responderam por 40,83% na diferenciação no extrato 20-50 cm (Tabela 8 e 9).

Tabela 8. Teste t das médias e resultados do teste SIMPER das variáveis com efeito significativo ($p \leq 0,050$) sobre a dissimilaridade entre os tratamentos Transição e Convencional, na PCA dos atributos de solo, na profundidade 0 a 20 cm, e dos teores de nutrientes foliares, da safra 2013/2014.

Variáveis	Médias		Teste t p-valor	Teste SIMPER	
	TRANS	CONV		Efeito (%)	p(simper)
1 Cu foliar	16,56	118,07	<0,001	10,35	0,001
2 P solo	105,39	82,24	0,052	3,00	0,033
3 Esporo-FMA	43,40	58,10	0,001	2,66	0,003
4 B solo	0,53	0,39	<0,001	2,60	0,001
5 GFE	5,34	3,92	<0,001	2,27	0,001
6 Cu solo	13,05	16,13	0,026	2,21	0,031
7 Ca solo	50,10	43,50	0,123	1,99	0,029
8 S solo	8,07	10,44	<0,001	1,81	0,001
9 qPCRfun	5,07	6,29	0,001	1,68	0,002
10 Zn foliar	58,66	54,03	0,222	1,64	0,041
11 Fun:Bact	0,55	0,63	0,011	1,48	0,010
12 Ca foliar	67,85	62,02	0,008	1,00	0,018
13 qPCRbact	9,30	10,00	0,007	0,89	0,037
14 Fe foliar	196,70	185,31	0,011	0,79	0,009
Total				34,37	

Cu foliar (mg.kg^{-1}); P solo (mg.dm^{-3}); Esporo-FMA = esporos viáveis de fungos micorrízicos em 50 g de solo; B solo (mg.dm^{-3}); GFE (mg.g^{-1} solo) = glomalina facilmente extraível (EE-GRSP); Cu solo (mg.dm^{-3}); Ca solo (mmolc.dm^{-3}); S solo (mg.dm^{-3}); qPCRfun = n. cópias de DNA de fungo.g solo⁻¹; Zn foliar (mg.kg^{-1}); Fun:Bact = relação fungo:bactéria do solo; Ca foliar (g.kg^{-1}); qPCRbact = n. cópias de DNA de bactérias.g solo⁻¹. Fe-foliar (mg.kg^{-1}).

Tabela 9. Teste t das médias e resultados do teste SIMPER das variáveis com efeito significativo ($p \leq 0,050$), sobre a dissimilaridade entre os tratamentos Transição e Convencional, na PCA dos atributos de solo, na profundidade 20 a 50 cm, e dos teores de nutrientes foliares, da safra 2013/2014.

Variáveis	Médias		Teste t p-valor	Teste SIMPER	
	TRANS	CONV		Efeito (%)	p(simper)
1 Cu foliar	16,56	118,07	<0,001	9,80	0,001
2 P solo	64,83	25,69	<0,001	5,38	0,001
3 S solo	27,84	25,81	0,665	4,61	0,002
4 Ca solo	23,38	14,38	0,002	3,72	0,001
5 B solo	0,51	0,31	<0,001	3,19	0,001
6 Índice S	0,06	0,08	0,022	3,18	0,013
7 K solo	2,61	3,25	0,013	2,15	0,003
8 MO solo	11,40	9,34	0,011	1,74	0,023
9 B foliar	56,51	66,24	0,019	1,70	0,022
10 Mn solo	2,44	2,55	0,578	1,44	0,022
11 ADP	0,12	0,11	0,012	1,34	0,037
12 GFE	5,22	4,53	<0,001	1,13	0,005
13 S foliar	2,61	2,77	0,073	0,81	0,020
14 K foliar	14,51	15,03	0,108	0,66	0,049
Total				40,83	

Cu foliar (mg.kg^{-1}); P solo (mg.dm^{-3}); S solo (mg.dm^{-3}); Ca solo (mmolc.dm^{-3}); B solo (mg.dm^{-3}); Índice S = variabilidade da porosidade; K solo (mmolc.dm^{-3}); MO solo (g.dm^{-3}); B foliar (mg.kg^{-1}); Mn solo (mg.dm^{-3}); ADP ($\text{cm}^3.\text{cm}^{-3}$) = água disponível para planta; GFE (mg.g^{-1} solo) = glomalina facilmente extraível (EE-GRSP); S foliar (g.kg^{-1}); K foliar (g.kg^{-1}).

Na safra 14/15, 16 variáveis responderam significativamente ($p \leq 0,050$) por 45,25% no extrato 00-20 cm e 17 responderam por 52,32% na dissimilaridade entre os tratamentos no extrato 20-50 cm (Tabela 10 e 11).

Tabela 10. Teste t das médias e resultados do teste SIMPER das variáveis que apresentaram efeito significativo ($p \leq 0,05$), sobre a dissimilaridade entre os tratamentos Transição e Convencional, na PCA dos atributos de solo na profundidade 0 a 20 cm e dos teores de nutrientes foliares da safra 2014/2015.

Variáveis	Médias		Teste t p-valor	Teste SIMPER	
	TRANS	CONV		Efeito (%)	p(simper)
1 Cu foliar	29,09	179,10	<0,001	8,35	0,001
2 B solo	0,37	0,94	<0,001	5,39	0,001
3 qCO ₂	0,03	0,06	0,001	5,11	0,001
4 C-BMS	578,04	278,96	<0,001	4,08	0,001
5 P solo	48,25	59,50	0,316	3,89	0,078
6 Zn foliar	62,15	37,66	<0,001	2,86	0,001
7 Fe solo	59,16	41,98	0,005	2,66	0,005
8 GFE	5,53	4,09	<0,001	1,86	0,001
9 Ca solo	40,51	52,57	0,003	1,84	0,002
10 Esporo-FMA	81,40	76,20	0,341	1,67	0,027
11 Fun:Bact	0,68	0,60	0,010	1,55	0,001
12 qPCRfun	6,45	5,40	<0,001	1,41	0,001
13 K foliar	11,35	13,74	<0,001	1,36	0,005
14 S foliar	1,89	2,30	<0,001	1,28	0,001
15 Mn foliar	54,55	45,48	<0,001	1,12	0,001
16 GlomT	9,14	8,25	<0,001	0,84	0,012
Total				45,25	

Cu foliar (mg.kg⁻¹); B solo (mg.dm⁻³); qCO₂ (mg C-CO₂.C-BMS⁻¹.dia⁻¹); C-BMS (mg C-mic.kg⁻¹) = carbono biomassa microbiana; P solo (mg.dm⁻³); Zn foliar (mg.kg⁻¹); Fe solo (mg.dm⁻³); GFE (mg.g⁻¹ solo) = glomalina facilmente extraível (EE-GRSP); Ca solo (mmolc.dm⁻³); Esporo-FMA = esporos viáveis de fungos micorrízicos em 50 g de solo; Fun:Bact = relação fungo:bactéria do solo; qPCRfun = n. cópias de DNA de fungo.g solo⁻¹; K foliar (g.kg⁻¹); S foliar (g.kg⁻¹); Mn foliar (mg.kg⁻¹); GlomT (mg.g⁻¹ solo) = glomalina facilmente extraível (T-GRSP).

Tabela 11. Teste t das médias e resultados do teste SIMPER das variáveis que apresentaram efeito significativo ($p \leq 0,05$), sobre a dissimilaridade entre os tratamentos Transição e Convencional, na PCA dos atributos de solo na profundidade 20 a 50 cm e dos teores de nutrientes foliares da safra 2014/2015.

Variáveis	Médias		Teste t	Teste SIMPER	
	TRANS	CONV	p-valor	Efeito (%)	p(simper)
1 Cu foliar	29,09	179,10	<0,001	7,17	0,001
2 B solo	0,15	0,67	<0,001	6,31	0,001
3 qCO ₂	0,02	0,09	0,002	6,30	0,001
4 C-BMS	471,05	145,95	<0,001	5,32	0,001
5 Zn solo	2,74	1,50	0,100	4,99	0,002
6 Mn solo	3,14	1,70	<0,001	3,31	0,001
7 Ca solo	14,69	22,60	0,019	3,06	0,021
8 Cu solo	3,83	2,89	0,179	3,01	0,011
9 Zn foliar	62,15	37,66	<0,001	2,51	0,001
10 Fe solo	53,19	39,12	0,045	2,50	0,035
11 MO	16,70	12,80	0,019	2,11	0,017
12 K foliar	11,36	13,73	<0,001	1,11	0,003
13 DMG	1,06	1,26	<0,001	1,04	0,001
14 S foliar	1,90	2,30	<0,001	0,99	0,001
15 Mn foliar	54,53	45,48	<0,001	0,99	0,001
16 GFE	5,22	4,57	<0,001	0,85	0,001
17 Fun:Bact	0,78	0,70	<0,001	0,74	0,003
Total				52,32	

Cu foliar (mg.kg⁻¹); B solo (mg.dm⁻³); qCO₂ (mg C-CO₂.C-BMS⁻¹.dia⁻¹); C-BMS (mg C-mic.kg⁻¹) = carbono biomassa microbiana; Zn solo (mg.dm⁻³); Mn solo (mg.dm⁻³); Ca solo (mmolc.dm⁻³); Cu solo (mg.dm⁻³); Zn foliar (mg.kg⁻¹); Fe solo (mg.dm⁻³); MO (g.dm⁻³); K foliar (g.kg⁻¹); DMG (mm) = diâmetro médio geométrico; S foliar (g.kg⁻¹); Mn foliar (mg.kg⁻¹); GFE (mg.g⁻¹ solo) = glomalina facilmente extraível (EE-GRSP); Fun:Bact = relação fungo:bactéria do solo.

Na safra 15/16, 19 responderam significativamente ($p \leq 0,050$) por 50,05% na dissimilaridade entre tratamentos no extrato 00-20 cm e 18 foram significativos ($p \leq 0,05$) e responderam por 38,31% do efeito no extrato 20-50 cm (Tabela 12 e 13).

Tabela 12. Teste t das médias e resultados do teste SIMPER das variáveis que apresentaram efeito significativo ($p \leq 0,05$), sobre a dissimilaridade entre os tratamentos Transição e Convencional, na PCA dos atributos de solo na profundidade 0 a 20 cm e dos teores de nutrientes foliares da safra 2015/2016.

Variáveis	Médias		Teste t p-valor	Teste SIMPER	
	TRANS	CONV		Efeito (%)	p(simper)
1 P solo	34,52	18,93	0,011	5,77	0,009
2 qCO ₂	0,03	0,06	<0,001	5,40	0,001
3 Cu foliar	23,98	51,35	<0,001	4,80	0,001
4 C-BMS	397,32	203,07	<0,001	4,41	0,001
5 Zn solo	7,12	4,57	0,006	4,25	0,004
6 Mn foliar	14,62	24,60	<0,001	3,45	0,001
7 Zn foliar	21,08	34,48	<0,001	3,15	0,001
8 S solo	4,50	6,35	<0,001	3,13	0,037
9 Mn solo	2,20	2,90	<0,001	2,52	0,007
10 GFE	5,43	4,01	<0,001	2,10	0,001
11 Esporo-FMA	88,70	109,70	<0,001	1,69	0,01
12 B foliar	48,75	61,38	<0,001	1,55	0,001
13 Fe solo	20,92	23,39	0,105	1,53	0,041
14 Fe foliar	140,89	168,64	0,002	1,42	0,005
15 N foliar	23,70	29,15	<0,001	1,41	0,001
16 GlomT	9,29	7,94	<0,001	1,23	0,001
17 S foliar	1,77	1,58	<0,001	1,02	0,001
18 P foliar	1,46	1,37	0,007	0,78	0,035
19 qPCRfun	7,20	7,00	0,193	0,46	0,009
Total				50,05	

P solo (mg.dm⁻³); qCO₂ (mg C-CO₂.C-BMS⁻¹.dia⁻¹); Cu foliar (mg.kg⁻¹); C-BMS (mg C-mic.kg⁻¹) = carbono biomassa microbiana; Zn solo (mg.dm⁻³); Mn foliar (mg.kg⁻¹); Zn foliar (mg.kg⁻¹); S solo (mg.dm⁻³); Mn solo (mg.dm⁻³); GFE (mg.g⁻¹ solo) = glomalina facilmente extraível (EE-GRSP); Esporo-FMA = esporos viáveis de fungos micorrízicos em 50 g de solo; B foliar (mg.kg⁻¹); Fe solo (mg.dm⁻³); Fe foliar (mg.kg⁻¹); N foliar (g.kg⁻¹); GlomT (mg.g⁻¹ solo) = glomalina facilmente extraível (T-GRSP); S foliar (g.kg⁻¹); P foliar (g.kg⁻¹); qPCRfun = relação fungo:bactéria do solo.

Tabela 13. Teste t das médias e resultados do teste SIMPER das variáveis que apresentaram efeito significativo ($p \leq 0,05$), sobre a dissimilaridade entre os tratamentos Transição e Convencional, na PCA dos atributos de solo na profundidade 20 a 50 cm e dos teores de nutrientes foliares da safra 2015/2016.

Variáveis	Médias		Teste t p-valor	Teste SIMPER	
	TRANS	CONV		Efeito (%)	p(simper)
1 qCO ₂	0,03	0,06	<0,001	4,21	0,001
2 Mn solo	0,60	1,29	<0,001	4,02	0,001
3 C-BMS	289,38	142,86	<0,001	4,01	0,001
4 Cu foliar	23,97	51,36	<0,001	3,83	0,001
5 qMIC	6,46	2,95	<0,001	3,79	0,001
6 Macro:PT	0,32	0,25	0,076	2,74	0,039
7 Mn foliar	14,63	24,60	<0,001	2,69	0,001
8 B solo	0,16	0,21	0,019	2,54	0,025
9 Zn foliar	21,08	34,47	<0,001	2,44	0,001
10 B foliar	48,75	61,38	<0,001	1,16	0,001
11 Fe foliar	140,89	168,64	0,002	1,12	0,008
12 GFE	5,22	4,55	<0,001	1,09	0,001
13 S foliar	1,77	1,58	<0,001	0,99	0,002
14 N foliar	23,70	29,15	<0,001	0,99	0,001
15 Dens solo	1,42	1,32	0,016	0,81	0,002
16 Fun:Bact	0,66	0,63	0,002	0,66	0,002
17 P foliar	1,46	1,37	<0,001	0,64	0,001
18 qPCRfun	6,87	6,58	0,006	0,60	0,003
Total				38,31	

qCO₂ (mg C-CO₂.C-BMS⁻¹.dia⁻¹); Mn solo (mg.dm⁻³); C-BMS (mg C-mic.kg⁻¹) = carbono biomassa microbiana; Cu foliar (mg.kg⁻¹); qMIC (mg C-mic.COT⁻¹) = quociente microbiano; Macro:PT (%) = macroporos dentro da porosidade total; Mn foliar (mg.kg⁻¹); B solo (mg.dm⁻³); Zn foliar (mg.kg⁻¹); B foliar (mg.kg⁻¹); Fe foliar (mg.kg⁻¹); GFE (mg.g⁻¹ solo) = glomalina facilmente extraível (EE-GRSP); S foliar (g.kg⁻¹); N foliar (g.kg⁻¹); Dens solo (g.cm⁻³) = densidade do solo; Fun:Bact = relação fungo:bactéria do solo; P foliar (g.kg⁻¹); qPCRfun = n. cópias de DNA de fungo.g solo⁻¹.

O fósforo (P) e o boro (B) do solo ganharam destaque, situando-se entre os que mais contribuíram para o efeito de diferenciação dos tratamentos na PCA nas safras 13/14 e 14/15 (Tabelas 8, 9 e 10). Mesmo o tratamento TRANS tendo recebido uma dosagem menor de P no solo, os seus teores foliares foram similares, constantes e se mantiveram dentro da faixa recomendada para a cultura nas três safras (Anexo B). De maneira geral, as análises de fertilidade química do solo indicam o potencial de disponibilização dos nutrientes no solo, porém nem sempre há correspondência com as análises químicas das folhas, as quais indicam o estado nutricional das plantas, particularmente em espécies perenes (ROMHELD, 2012).

O percentual total de contribuição das variáveis sobre a resposta dos tratamentos foi crescente na safra 13/14 e 14/15 e apresentou um pequeno recuo na safra 15/16, mostrando um comportamento diferenciado para cada safra. Na safra 13/14, as contribuições das variáveis foram maiores na subsuperfície (20-50 cm) e esse efeito se repetiu na safra 14/15. Já na safra 15/16, as maiores contribuições foram originadas do extrato mais superficial. Em resumo, as respostas das variáveis oscilaram em quantidade, qualidade e profundidades, sendo que a maior expressão ocorreu na safra 14/15 sob condições pluviométricas próximas da normalidade (Figura 15).

Figura 15. Contribuições das variáveis no efeito de dissimilaridade entre os tratamentos Transição e Convencional nas três safras.

O volume mais favorável de chuva, associado ao fato de que o manejo do tratamento TRANS já se encontrava no seu penúltimo estágio, para a conversão ao orgânico, portanto, bastante diferenciado em relação ao CONV, ressaltou as diferenças entre os tratamentos. Esses resultados são coerentes, considerando que, comumente, o melhor desempenho das variáveis de solo se expressam nas condições de umidade próximas a capacidade de campo, principalmente nas categorias de microbiologia e de fertilidade do solo (MARSCHNER; RENGEL, 2012; ZHAO et al., 2016).

O avançar do manejo de transição continuou favorecendo as variáveis microbiológicas no tratamento TRANS, a partir da safra 14/15, fato que se confirma com a superioridade de seus resultados perante o tratamento CONV (Anexo A).

5.3.4. Efeitos das categorias de variáveis sobre o conjunto de respostas

Em outra abordagem com os resultados da análise de SIMPER (Tabelas 8 a 13), as variáveis foram separadas nas categorias: microbiológicas, físicas, fertilidade de solo e teor nutricional foliar. Dessa forma, foi possível visualizar as contribuições pela natureza das variáveis nas respostas plotadas nos gráficos de PCA, das safras 13/14, 14/15 e 15/16 (Figura 16).

Figura 16. Contribuições das categorias de variáveis microbiológicas, físicas, químicas, nutrição foliar e produtividade, no efeito de dissimilaridade entre os tratamentos Transição e Convencional na PCA nas três safras.

As variáveis microbiológicas expressaram uma contribuição menor no efeito de dissimilaridade entre tratamentos na safra 13/14, próximo a 9% e, praticamente só no extrato 00-20 cm. Nas safras 14/15 e 15/16 contribuíram em torno de 15% nos dois extratos de solo. As variáveis de física do solo apresentaram efeitos bastante modestos, entre 1,0 a 4,5%, e somente no extrato 20-50 cm. As contribuições das variáveis de fertilidade foram bem expressivas, com maiores percentuais de efeitos no extrato 20-50 cm, nas safras 13/14 e 14/15. Entretanto, na safra 15/16 a contribuição diminuiu fortemente no extrato 20-50 cm e, ao contrário das safras anteriores, o efeito maior se deu no extrato 00-20 cm. As variáveis de nutrição foliar

também mostraram contribuições expressivas, em percentuais próximos nas duas profundidades e de forma crescente ao longo das três safras (Figura 16).

As contribuições das variáveis microbiológicas oscilaram conforme o volume de chuva das safras. Os resultados das análises laboratoriais, tais como qPCR de fungo e bactéria e C-BMS, que dão uma noção da dimensão de volume microbiano, do extrato 00-20 cm deste trabalho, confirmam esse comportamento (Anexo A). Estudos mostram que a limitação hídrica no solo diminui a abundância microbiana, principalmente das espécies sensíveis, embora que, essa condição também estimula a diversidade de espécies, devido à perda de conectividade entre os poros (BACHAR et al., 2010; HUESO; GARCÍA; HERNÁNDEZ, 2012). Inversamente, a saturação do solo pode estimular a abundância em detrimento da diversidade (PAUL, 2007; BACHAR et al., 2010; WOLF et al., 2013).

O tratamento TRANS não alterou as variáveis de física de solo nas três safras avaliadas e não ocorreu diferenciações significativas entre os tratamentos. Apenas na profundidade 20-50 cm apresentou uma pequena contribuição, através das variações na densidade do solo, DMG e proporção de macroporosidade na porosidade total (Macro:PT) (Anexo B). Esse resultado pode estar relacionado ao fato da cultura em questão ser uma espécie perene e não haver mobilização de solo e tráfego de maquinários dentro da área de amostragem. As alterações nos atributos físicos de solo são comumente mais observadas em solo bastante mobilizados (AZIZ; MAHMOOD; ISLAM, 2013) ou, no caso da citricultura, nas faixa onde ocorre o adensamento pelo rodado de tratores e implementos agrícolas na entrelinha (MULLER et al., 2011).

A maior contribuição das variáveis de fertilidade no extrato 20-50 cm no período mais seco pode ser explicada pela maior umidade a essa profundidade, em relação à superfície. É possível que a melhor umidade nesta camada tenha favorecido as reações químicas e atividades microbiológicas, ressaltando as diferenças nas respostas dos tratamentos nessas variáveis (BROCKETT; PRESCOTT; GRAYSTON, 2012). Já para o período mais chuvoso o efeito na diferenciação veio do extrato superficial do solo, supostamente pela condição mais aerada favoreceu as reações das variáveis, principalmente as de fertilidade do solo (MARSCHNER; RENGEL, 2012).

5.3.5. Contribuições das variáveis favoráveis ou indiferentes aos tratamentos

Os percentuais de efeito, fornecidos pela análise de SIMPER, apontam a contribuição das variáveis, ou de seu conjunto, na dissimilaridade dos tratamentos. Todavia, não define se essas são favoráveis ou não aos tratamentos. Para uma análise que permita abordar as contribuições dos tratamentos sobre as respostas do ensaio, os dados da análise SIMPER (Tabelas 8 a 13) foram divididas em variáveis: “Favoráveis TRANS” e “Favoráveis CONV”, sendo aquelas cujas médias dos resultados diferiram no teste t ($p \leq 0,050$) e foram favoráveis a um dos tratamentos e; “Indiferentes”, aquelas cujas médias não diferiram no teste t ($p > 0,050$). Foi também considerado “Indiferente” as variáveis que ultrapassaram a faixa ótima, tecnicamente recomendada para o parâmetro nos dois tratamentos, mesmo havendo diferenças estatísticas. As contribuições dessas variáveis classificadas foram tabuladas e discutidas.

As variáveis, cujos resultados foram favoráveis ao tratamento TRANS, foram hegemônicas no efeito de diferenciação entre os tratamentos. Esse resultado aponta que o manejo de transição responde, de forma absolutamente predominante, pelas diferenças entre o conjunto de respostas dos tratamentos (Figura 17).

As contribuições das variáveis microbiológicas, sobre a dissimilaridade dos tratamentos, foram exclusivamente oriundas das que foram favoráveis ao tratamento TRANS em todas as safras nas duas profundidades. Das 8 variáveis microbiológicas utilizadas neste trabalho 7 contribuíram no efeito de dissimilaridade e foram favoráveis ao tratamento TRANS. Parâmetros como abundância de micro-organismos (qPCR de bactérias e fungos), carbono da biomassa microbiana (C-BMS), quociente metabólico do solo (qCO₂), quociente microbiano (qMIC), glomalina facilmente extraível (GFE) (Anexo A) e colonização micorrízica radicular (Anexo E), apresentaram evoluções robustas e superiores ao CONV, no decorrer das três safras avaliadas. Essas variáveis vêm sendo empregadas em inúmeros trabalhos científicos, mostrando expressiva superioridade dos resultados em áreas de cultivo orgânico, plantio direto e rotações de culturas (KASCHUK; ALBERTON; HUNGRIA, 2010; BEDINI et al., 2013; APARNA et al., 2014).

Figura 17. Distribuição das contribuições das categorias de variáveis (00-20 e 20-50 cm) sobre o efeito de dissimilaridade entre os tratamentos na PCA, divididos pelos resultados favoráveis ou indiferentes aos tratamentos Transição e Convencional, das três safras. Os dados de teor de nutrientes foliares e produtividade foram utilizados na PCA na interação com os dados na profundidade 0a 20 e 20 a 50 cm; Fav. TRANS e Fav. CONV = Resultado da variável é significativamente diferente (teste t $p \leq 0,05$) e favorável a um dos tratamentos; Indif. = Resultado da variável não é significativamente diferente (teste t $p \leq 0,05$) entre tratamentos ou se os valores ultrapassam a faixa ótima recomendada para o parâmetro.

Na safra 13/14 as contribuições das variáveis de fertilidade e nutrição foliar foram majoritariamente das que foram favoráveis ao TRANS nas duas profundidades. Na safra 14/15 as variáveis de fertilidade não contribuíram na superfície, no entanto, expressaram consistentemente na subsuperfície. Das variáveis de fertilidade de solo favoráveis ao TRANS, os teores dos macronutrientes P e Ca, e dos micronutrientes

B, Cu, Mn e Zn, foram os que efetivamente contribuíram na descrição acima (Tabela 8 a 13). Na safra 15/16 essas mesmas variáveis contribuíram de forma mais modestas e as favoráveis ao CONV foram mais presentes.

Os teores de Cu foliar próximo ao recomendado do TRANS foi considerado como favorável a este tratamento, visto que a quantidade discrepante no CONV causa interações negativas com outros nutrientes e perturbações à microbiologia do solo e da planta (DECHEN; NACHTIGALL, 2006; ZHOU et al., 2011; OTTESEN et al., 2015). Todavia, a forte contribuição do Cu foliar foi na diferenciação dos tratamentos, portanto, não pode ser considerada como vantagem nutricional. Afora o Cu, o Zn e Mn foliar também foram contributivos na dissimilaridade e se correlacionaram fortemente com a produtividade no tratamento TRANS (Tabela 14). Dentre os micronutrientes o B, Zn e Mn são considerados os mais limitantes da produção citrícola (MATTOS JUNIOR; BATAGLIA; QUAGGIO, 2005).

Tabela 14. Correlação de Pearson das variáveis de nutrição foliar com a produtividade no tratamento Transição, nas safras 13/14, 14/15 e 15/16

Nutriente foliar	Produtividade	
	R	p-valor
N	0,709	0,001
P	0,355	0,054
K	-0,786	0,001
Ca	0,398	0,030
Mg	0,525	0,003
S	0,275	0,142
B	0,573	0,001
Cu	0,070	0,715
Fe	0,224	0,234
Mn	0,879	0,001
Zn	0,837	0,001

Resultados favoráveis das variáveis de fertilidade e de nutrição, juntamente com os atributos microbiológicos, é a conjugação de fatores que mais explica os bons resultados de colheitas nas safras 13/14 e 14/15 pelo tratamento TRANS. A atividade microbiana propicia a ciclagem dos minerais e a melhor oferta de nutrientes lábeis no solo favorece a absorção pelas plantas (RICHARDSON; SIMPSON, 2011; MARSCHNER; RENGEL, 2012).

A melhoria dos índices microbianos, elevação da matéria orgânica e até mesmo da fertilidade, tem sido observado em áreas de cultivo orgânico, contudo, o suprimento de nutrientes ao nível compatível à mínima produtividade necessária para a sustentabilidade dos modelos orgânicos, continuam sendo um enorme desafio (TUOMISTO et al., 2012; SACCO et al., 2015). Particularmente para os citros, nas quais a remobilização dos nutrientes acumulados na biomassa em um ano, não ocorrerem na mesma safra, na sua maior parte (BOARETTO et al., 2007; ZAMBROSI et al., 2012). Como na agricultura orgânica, a recomendação é a utilização de fontes de pouca solubilidade e a exploração da bio-ciclagem dos minerais no extrato edáfico, conclui-se que as ações devem ser bastante antecipadas no campo. De forma geral, ainda há muitas incertezas na adubação orgânica, cuja eficiência na produção vegetal oscila muito entre os resultados de pesquisas (MARINI; MARINHO, 2011; PETRY et al., 2012; RAMOS; LEONEL, 2014; PONISIO et al., 2015). Portanto, os dados deste trabalho sugerem a maior antecipação na introdução das adubações alternativas no cultivo orgânico.

5.4. Análises de T-RFLP e estrutura de comunidade de bactérias e fungos

5.4.1. Análise global dos dados de T-RFLP na série safras

A ordenação dos dados de T-RFLP na Análise de Coordenadas Principais (PCoA – *Principal Coordinates Analysis*) com plotagem em gráficos de dispersão, expressam as estruturas de comunidades de bactérias e fungos de solo. Os gráficos de PCoA mostraram uma distinção entre os agrupamentos dos dados dos períodos das safras 13/14, 14/15 e 15/16 (Figura 18). Esse resultado indica que as estruturas de comunidades de bactérias e fungos das safras foram diferentes, na escala temporal. O teste ANOSIM expressou o nível de similaridade (R), e respectivas significâncias estatísticas (p), entre os dados de T-RFLP de bactérias e fungos, agrupados por período na PCoA. Os resultados mostraram que houve uma forte dissimilaridade entre períodos e foi mais pronunciado entre as estruturas de comunidades de fungos (Extrato 00-20 cm: $R = 0,7478$, $p = 0,0001$; Extrato 20-50 cm: $R = 0,7854$, $p = 0,0001$), quando comparado às bactérias (Extrato 00-20 cm: $R = 0,4269$, $p = 0,0001$; Extrato 20-50 cm: $R = 0,5156$, $p = 0,0001$) (Tabela 15).

Figura 18. Análise de Coordenadas Principais (PCoA) dos perfis T-RFLP, com matriz de distância de Bray-Curtis, de bactérias e fungos do solo, profundidade 00-20 e 20-50 cm, tratamentos Transição e Convencional, referentes as três safras. Legendas: ■ ▲ = TRANS; ■ ● ▲ = CONV; ■ = safra 13/14; ● = safra 14/15 e ▲ = safra 15/16.

Tabela 15. Análise de Anosim de similaridade entre as estruturas de comunidades de bactérias e fungos de solo, por períodos (safras) e das profundidades 00-20 e 20-50 cm, nas três safras.

Prof. (cm)	T-RFLP Bactérias		T-RFLP Fungos	
	R ¹	p	R	p
00-20	0,4269	0,0001	0,7478	0,0001
20-50	0,5156	0,0001	0,7854	0,0001

¹ Calculado com matriz de distância de Bray-Curtis em 9999 permutações.

O volume de chuva crescente ao longo das três safras também influenciou nas configurações das estruturas de comunidades de bactérias e fungos deste estudo e de forma mais ressaltada do que as mudanças de tratamentos. A prevalência do efeito temporal sobre as variações da estrutura de comunidade de bactérias e fungos do solo ocorrem, sobretudo, quando há variações ambientais no período, como temperatura e umidade (BROCKETT; PRESCOTT; GRAYSTON, 2012; ZEGLIN et al., 2013).

5.4.2. Análise global dos dados de T-RFLP na série tratamentos

Na análise comparativa entre os tratamentos para cada safra, a plotagem dos dados de TRFs das bactérias e fungos de solo na PCoA, mostrou que os agrupamentos de dados do TRANS e do CONV foram mais distintos na safra 13/14, e foram gradativamente mesclando entre si nas safras 14/15 e 15/16 (Figura 19 e 20). O teste ANOSIM apontou as intensidades das dissimilaridades (R) entre tratamentos nas três safras, com as respectivas significâncias estatísticas (p) (Tabela 16).

A variação nas estruturas de comunidade entre tratamentos, na safra 13/14, foi mais pronunciado nas bactérias (R = 0,4610; p = 0,0001) do que em fungos (R = 0,2405; p = 0,0001) no extrato 00-20 cm, sendo o inverso no extrato 20-50 cm (Fungos: R = 0,3356; p = 0,0001; Bactérias: R = 0,1663; p = 0,0003). A partir da safra 14/15 as diferenciações entre as estruturas de bactérias e de fungos foram diminuindo e, praticamente, se tornaram similares nas duas profundidades da safra 15/16 (Tabela 16).

Tabela 16. Análise de Anosim de similaridade entre as estruturas de comunidades de bactérias e fungos de solo, dos tratamentos TRANS e CONV, nas profundidades 00-20 e 20-50 cm, das três safras.

Safra	Prof. (cm)	Bactérias		Fungos	
		R ¹	p	R	p
2013/2014	00-20	0,4610	0,0001	0,2405	0,0001
	20-50	0,1663	0,0003	0,3356	0,0001
2014/2015	00-20	0,2558	0,0001	0,1582	0,0004
	20-50	0,0819	0,0228	0,0797	0,0159
2015/2016	00-20	0,0783	0,0246	0,1151	0,0014
	20-50	0,1332	0,0055	0,0609	0,0432

¹ Calculado com matriz de distância de Bray-Curtis em 9999 permutações.

Figura 19. Análise de Coordenadas Principais (PCoA) dos perfis de T-RFLP, com matriz de distância de Bray-Curtis, de bactérias e fungos do solo, profundidade 00-20, tratamentos Transição e Convencional, das três safras. Legendas: ■ ● ▲ = TRANS; ■ ● ▲ = CONV; ■ = safra 13/14; ● = safra 14/15 e ▲ = safra 15/16.

Figura 20. Análise de Coordenadas Principais (PCoA) dos perfis de T-RFLP, utilizando a matriz de distância de Bray-Curtis, dos fungos do solo, dos tratamentos Transição e Convencional, na profundidade 20-50 cm, das três safras. Legenda: ■ ● ▲ = TRANS; ■ ● ▲ = CONV; ■ = safra 13/14; ● = safra 14/15 e ▲ = safra 15/16.

Embora houvesse a expectativa de que a dissimilaridade nas estruturas de comunidade microbiana do solo fossem se acentuando ao longo das safras, isso não foi observado nas análises. A maior variação entre as estruturas de comunidade de bactérias, na camada 00-20 cm da safra 13/14, coincide justamente com ano mais seco desta avaliação e justamente na camada mais superficial. Em condições de limitação hídrica no solo os micro-organismos tendem a assumir uma maior plasticidade, elevando a diversificação de espécies, refletindo na variação das suas estruturas de comunidade (KAISERMANN et al., 2015). As bactérias se diversificam e alteram sua estrutura de comunidade em situações de potencial mátrico do solo

abaixo da capacidade de campo (CARSON et al., 2010; WOLF et al., 2013), provavelmente em reação a limitação que essa condição impõe a sua mobilidade (OR et al., 2007; VOS et al., 2013) e a alteração da estrutura de sua comunidade varia com a alternância de períodos secos e chuvosos (EVANS; WALLENSTEIN, 2012).

Considerando que as condições climáticas foram similares aos dois tratamentos, as diferenças entre as estruturas de comunidade na safra 13/14, pode ser explicado pelo manejo diferenciado aplicado ao TRANS. Na safra 13/14 o tratamento TRANS já estava no seu terceiro ano de manejo diferenciado, com reduções de agroquímicos na ordem de 50%, em relação ao tratamento CONV. Diferenciação entre estruturas de comunidades de microrganismos do solo, em função dos tipos de fertilizantes, tem sido constatado em alguns estudos, sobretudo quando comparado com fertilizantes orgânicos (RAMIREZ et al., 2010; WAKELIN et al., 2010; KNELMAN et al., 2014).

Com o avançar das safras, mesmo com as substituições do manejo convencional no tratamento TRANS atingindo 75% na safra 14/15 e 100% na safra 15/16, as estruturas da comunidade bacteriana e fúngica do solo foram se tornando próximas em suas configurações de estruturas de comunidade. Neste mesmo tempo também, houve o aumento da pluviosidade com chuvas muito acima da média histórica do local. Uma das possibilidades seria que em condições de solo mais saturadas os micro-organismos tendem a primar pela abundância, em detrimento da diversidade, o que reflete em menor variação na estrutura de comunidade (PAUL, 2007; BACHAR et al., 2010; WOLF et al., 2013).

5.4.3. Explicações das variáveis de solo na estrutura de comunidade

A análise PERMANOVA (*Adonis function*) foi utilizado para testar a força de explicação de cada dado dos atributos de solo na variação da estrutura de comunidade de micro-organismos do solo. Do resultado das análises, foram destacadas somente as variáveis que apresentaram efeitos significativos ($p\text{-perm} \leq 0,050$) na explicação das variações da estrutura de comunidade bacteriana e fúngica (Tabelas 17 e 18).

Tabela 17. Resultados da análise de PERMANOVA (*Adonis function*) com as explicações das variáveis microbiológicas, químicas e físicas de solo, na dissimilaridade entre as estruturas de comunidades de bactérias e fungos do solo, na profundidade 00-20 cm, das safras 13/14, 14/15 e 15/16.

Variáveis	T-RFLP Bactéria				T-RFLP Fungo		
	F-model	R ²	p (perm)		F-model	R ²	p (perm)
Safrá 2013/2014							
Qmic	4,26	0,0858	0,0004	P solo	249,72	0,0597	0,0002
GFE	4,12	0,0829	0,0003	GFE	2,36	0,0570	0,0012
qPCRbact	3,44	0,0692	0,0006	qPCRbact	1,50	0,0363	0,0500
P solo	269,24	0,0616	0,0001	Macrop	132,08	0,0334	0,0169
pH solo	212,95	0,0488	0,0001	pH solo	128,50	0,0307	0,0206
Microp	136,21	0,0338	0,0323				
Cu solo	133,44	0,0305	0,0365				
Resíduo		0,5874		Resíduo		0,7831	
Total		0,4126		Total		0,2169	
Safrá 2014/2015							
C-BMS	3,07	0,0704	0,0035	qMIC	1,70	0,0422	0,0140
Mn solo	208,86	0,0488	0,0001	FMA	1,41	0,0349	0,0448
qPCRfun	2,01	0,0462	0,0275	Mg solo	132,21	0,0329	0,0102
pH solo	159,94	0,0374	0,0071	pH solo	122,01	0,0304	0,0213
B solo	138,40	0,0323	0,0356				
Resíduo		0,7649		Resíduo		0,8596	
Total		0,2351		Total		0,1404	
Safrá 2015/2016							
qPCRbact	4,10	0,0916	0,0014	qPCRfun	3,26	0,0768	0,0008
Fungo:Bact	1,99	0,0444	0,0447	MO solo	191,87	0,0472	0,0122
				qPCRbact	1,99	0,0468	0,0347
				GFE	1,88	0,0442	0,0394
Resíduo		0,8641		Resíduo		0,7849	
Total		0,1359		Total		0,2151	

R² calculado com matriz de distância de Bray-Curtis em 9999 permutações.

Qmic = quociente microbiano; GFE = glomalina facilmente extraível (EE-GRSP); qPCRbact = n. cópias de DNA de bactérias.g solo⁻¹; P solo = fósforo; pH solo; Microp = microporosidade do solo; Cu solo = cobre no solo; C-BMS = carbono da biomassa microbiana do solo; Mn solo = manganês no solo; qPCRfun = n. cópias de DNA de fungo.g solo⁻¹; Fungo:Bact = relação fungo:bactéria do solo

Tabela 18. Resultados da análise de PERMANOVA (*Adonis function*) com as explicações das variáveis microbiológicas, químicas e físicas de solo, na dissimilaridade entre as estruturas de comunidades de bactérias e fungos do solo, na profundidade 20-50 cm, das safras 13/14, 14/15 e 15/16.

Variáveis	T-RFLP Bactéria			Variáveis	T-RFLP Fungo		
	Pseudo-F	R ²	p (perm)		Pseudo-F	R ²	p (perm)
Safr 2013/2014							
pH solo	21,10	0,0479	0,0001	P solo	28,15	0,0658	0,0001
Indice S	179,24	0,0453	0,0117	Dens	179,74	0,0442	0,0029
P solo	19,71	0,0448	0,0002	Macrop	125,94	0,0309	0,0419
qPCRbact	15,38	0,0378	0,0089				
H+Al	16,11	0,0366	0,0009				
Fe solo	12,95	0,0294	0,0388				
Resíduo		0,7581		Resíduo		0,8592	
Total		0,2419		Total		0,1408	
Safr 2014/2015							
DMG	17,64	0,0441	0,0074	B solo	127,02	0,0320	0,0126
S solo	16,76	0,0396	0,0061				
P solo	16,25	0,0383	0,0045				
qPCRfun	14,44	0,0355	0,0422				
GlomT	14,43	0,0355	0,0051				
Resíduo		0,8070		Resíduo		0,9680	
Total		0,1930		Total		0,0320	
Safr 2015/2016							
P solo	198,21	0,0474	0,0005	Macrop	257,08	0,0647	0,0003
qPCRbact	185,37	0,0450	0,0129	qPCRfun	209,22	0,0515	0,0033
GFE	167,80	0,0407	0,005	qPCRbact	184,50	0,0454	0,0143
pH solo	169,40	0,0405	0,0126	H+Al	150,74	0,0369	0,0318
C-BMS	150,62	0,0366	0,0316				
H+Al	141,0	0,0337	0,0403				
Resíduo		0,7561		Resíduo		0,8015	
Total		0,2439		Total		0,1985	

R² calculado com matriz de distância de Bray-Curtis em 9999 permutações.

pH solo; Índice S = variabilidade da porosidade do solo; P solo = fósforo no solo; qPCRbact = n. cópias de DNA de bactérias.solo-1; H+Al = hidrogênio + alumínio no solo; Fe solo = ferro no solo; DMG = diâmetro médio geométrico; S solo = enxofre no solo; P solo = fósforo no solo; qPCRfun = n. cópias de DNA de fungo.g solo-1; GlomT = glomalina total no solo (T-GRSP); GFE = glomalina facilmente extraível (EE-GRSP); C-BMS = carbono da biomassa do solo

De forma geral, as variáveis de solos foram mais explicativas na modulação das estruturas de comunidade de bactérias do que de fungos e foi mais intensa na safra 13/14. Na interação com os dados de T-RFLP, na análise de PERMANOVA (*Adonis function*), as bactérias apresentaram os menores valores de resíduos (porção não explicativa), portanto, maior efeito de explicação (Figura 21). As variáveis microbiológicas e de fertilidade foram as que mais modularam as estruturas de comunidade, tanto de bactérias como de fungos. Das variáveis microbiológicas o C-BMS, qMIC, qPCR de bactérias e fungo e GFE foram as que mais explicaram a modulação de estruturas de comunidade e das variáveis de fertilidade foram o P, pH, Mn e B. As explicações das variáveis de físicas de solo foram bem menores do que as outras variáveis, porém, notadamente, contribuíram mais nas condições pluviométricas extremas das safras 13/14 e 15/16 (Tabelas 17 e 18).

Figura 21. Explicação das variáveis de atributos de solo ($R^2 = 1 - \text{resíduo}$), gerados pela análise de PERMANOVA (*Adonis function*), na variação das estruturas de comunidades de bactérias e fungos do solo, nas profundidades 00-20 e 20-50 cm, nas três safras.

Nesta análise, também, foi aplicada a separação das variáveis classificadas como “favoráveis” ao tratamento TRANS e CONV, bem como, os “indiferentes”, sob o mesmo critério utilizado nos resultados da análise de SIMPER. Por meio das

diferenças obtidas pela subtração do resíduo não explicativo da análise de PERMANOVA calculou-se as taxas de explicações (R^2) das variáveis (Figura 22).

As variáveis classificadas como “favoráveis” ao tratamento TRANS foram mais efetivas, do que os “favoráveis” ao CONV, na modulação da comunidade de bactérias e fungos, notadamente no extrato 00-20 cm. Os resultados das variáveis “favoráveis” ao TRANS explicaram mais a estrutura de comunidade microbiana justamente na safra 13/14, quando o volume de chuva bastante abaixo da média submeteu toda a microbiota a um grande desafio. Esse resultado coincide com as respostas produtiva do tratamento TRANS nas safras 13/14 e 14/15, quando obteve produtividade similar e superior ao CONV, respectivamente.

Figura 22. Explicação (R^2) das variáveis “favoráveis” e “indiferentes” aos tratamentos, nas variações de estruturas de comunidades de bactérias e fungos nos extratos 00-20 e 20-50 cm, das três safras.

Considerando que, os dois tratamentos se situaram em áreas contíguas, com as mesmas características de solo, planta e clima, e o único fator diferente foi o tipo de manejo aplicado em um dos tratamentos, as diferentes respostas da microbiota do

solo registradas neste trabalho, positivas ou não, foram resultantes do manejo de transição aplicado no tratamento TRANS.

Diversos fatores bióticos e abióticos do solo explicam as alterações nas estruturas de comunidades de micro-organismos no solo. Propriedades físicas e químicas do solo, como textura, pH e P são os mais citados como moduladores de comunidade microbiana (KAISER et al., 2016; DURRER et al., 2017). De forma mais ampla, o uso da terra, as plantas, os tipos de manejos e o clima governam de forma mais absoluta as comunidades microbianas do solo (SCHNEIDER et al., 2010; DE VRIES et al., 2012; NG et al., 2015; TAUTGES et al., 2016). Pelos conhecimentos atuais conclui-se que as alterações estruturais da comunidade microbiana induzidas por manejos agronômicos, são em longo prazo e em aplicação contínua (CHAUDHRY et al., 2012; BERTHRONG; BUCKLEY; DRINKWATER, 2013).

6. CONCLUSÕES

O conjunto de variáveis microbiológicas, físicas e químicas do solo, nutrição foliar e produtividade, responderam de forma diferenciada entre os tratamentos. O efeito do manejo de transição, associado ao volume crescente de chuva ao longo das safras, foi preponderante no conjunto de respostas das variáveis. Os atributos microbiológicos do solo foram as variáveis mais responsivas às mudanças no tratamento TRANS, apresentando resultados significativamente superiores aos do tratamento CONV. Os atributos de física do solo apresentaram efeitos bem menores do que as outras variáveis, porém, notadamente, contribuíram mais na profundidade 20-50 cm e em condições pluviométricas extremas, das safras 13/14 e 15/16. As variáveis com respostas favoráveis ao tratamento TRANS foram predominantes nas safras 13/14 e 14/15, quando se obteve produtividade igual e superior ao tratamento CONV, respectivamente. Na safra 15/16 os resultados das variáveis microbiológicas continuaram sendo superiores no tratamento TRANS, entretanto, as respostas na condição nutricional das plantas não foram capazes de manter a produtividade nos mesmos patamares do CONV. Os teores foliares dos nutrientes N, Mn e Zn no tratamento TRANS foram os que mais fortemente correlacionaram com as oscilações da produtividade. A comunidade de bactérias e fungos do solo se estruturaram de forma distinta na safra 13/14, em resposta ao manejo diferenciado do tratamento TRANS, no período de menor volume de chuva. As estruturas de comunidade microbiana não se diferenciaram significativamente nas safras 14/15 e 15/16, embora os parâmetros microbiológicos de solo tenham sido bastante diferentes entre si. Os dados deste trabalho trazem vários indicativos para subsidiar práticas agronômicas voltadas à citricultura orgânica e sustentável.

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Resultados de manejos diferenciados em aplicações progressivas, como o que foi proposto no tratamento TRANS deste estudo, se consolidam ao longo do tempo, por acumulação dos efeitos das ações. É provável que as respostas das variáveis deste trabalho seriam mais pronunciadas se aplicadas em prazo maior e em áreas mais protegidas e exclusivas para o cultivo orgânico.

Os dados de fertilidade e nutrição foliar revelaram a necessidade de investir em novas estratégias para aportar nutrientes no sistema, mantendo os requisitos de sustentabilidade e do equilíbrio ecológico. A forte correlação observada entre os dados de produtividade e as variáveis N, Mn e Zn foliar recomenda aprimoramentos no suprimento desses nutrientes. Os resultados deste trabalho indicam a necessidade de aplicar com maior antecipação a introdução das adubações alternativas, incluindo o plantio de leguminosas como adubos verde, na transição para o cultivo orgânico.

A modulação distinta na estrutura de comunidades de bactérias e fungos do tratamento TRANS, sob menor disponibilidade hídrica e corte de 50% na adubação convencional da safra 13/14, e com bom desempenho produtivo, denota um interessante potencial para as alterações climáticas previstas para o globo. Sugere-se que em estudos futuros sejam inclusos métodos de análise microbiana que avaliem as funcionalidades dos atributos de solo e do agroecossistema.

A pressão fitossanitária exercida pelas doenças HLB e “mancha preta dos citros” foi responsável por parte da queda de produtividade da safra 15/16 no tratamento TRANS. A situação das parcelas do tratamento TRANS dentro de um pomar de citros conduzido de forma convencional, atende aos requisitos da experimentação comparativa, contudo, impossibilita o equilíbrio biológico necessário para o efetivo controle de pragas e doenças dentro das condições da agricultura orgânica.

As informações geradas neste estudo são também aplicáveis em outras frutícolas perenes.

REFERÊNCIAS

- ABD-ALLA, M.H.; OMARA, S.A.; KARANXHA, S. The impact of pesticides on arbuscular mycorrhizal and nitrogen-fixing symbioses in legumes. **Applied Soil Ecology**, n.14, p.191–200, 2000.
- ANDREOTE, F. D.; CARDOSO, E. J. B. N. Introdução à biologia do solo. In: CARDOSO, E. J. B. N.; ANDREOTE, F. D. **Microbiologia do Solo**. 2ª Edição: Piracicaba, ESALQ/USP, 2016. 221p.
- APARNA, K.; PASHA, M. A.; RAO, D. L. N.; KRISHNARAJ, P. U. Organic amendments as ecosystem engineers: Microbial, biochemical and genomic evidence of soil health improvement in a tropical arid zone field site. **Ecological Engineering**, v. 71, p. 268–277, 2014.
- AZIZ, I.; MAHMOOD, T.; ISLAM, K. R. Effect of long term no-till and conventional tillage practices on soil quality. **Soil and Tillage Research**, v. 131, p. 28–35, 2013.
- BACHAR, A.; AL-ASHHAB, A.; SOARES, M. I. M.; SKLARZ, M. Y.; ANGEL, R.; UNGAR, E. D.; GILLOR, O. Soil microbial abundance and diversity along a low precipitation gradient. **Microbial Ecology**, v. 60, n. 2, p. 453–461, 2010.
- BAKER, B. P.; MOHLER, C. L. Weed management by upstate New York organic farmers: Strategies, techniques and research priorities. **Renewable Agriculture and Food Systems**, v. 30, n. 5, p. 418–427, 2015.
- BALZERQUE, C.; CHABAUD, M.; BARKER, D. G.; BÉCARD, G.; ROCHANGE, S. F. High phosphate reduces host ability to develop arbuscular mycorrhizal symbiosis without affecting root calcium spiking responses to the fungus. **Frontiers in Plant Science**, v. 4, p. 1–15, 2013.
- BASSANEZI, R. B.; MONTESINO, L. H.; GASPAROTO, M. C. G.; FILHO, A. B.; AMORIM, L. Yield loss caused by huanglongbing in different sweet orange cultivars in São Paulo, Brazil. **European Journal of Plant Pathology**, v. 130, n. 4, p. 577–586, 2011.
- BECERRA, A.T.; BOTTA, G.F.; BRAVO, X.L.; TOURN, M.; MELCON, F.B.; VAZQUEZ, J.; RIVERO, D.; LINARES, P.; NARDON, G. Soil compaction distribution under tractor traffic in almond (*Prunus amigdalus* L.) orchard in Almería España. **Soil Tillage & Research**, v. 107, n. 1, p. 49–56, 2010.

- BEDINI, S.; AVIO, L.; SBRANA, C.; TURRINI, A.; MIGLIORINI, P.; VAZZANA, C.; GIOVANNETTI, M. Mycorrhizal activity and diversity in a long-term organic Mediterranean agroecosystem. **Biology and Fertility of Soils**, v. 49, n. 7, p. 781–790, 2013.
- BELOTI, V. H.; ALVES, G. R.; ARAÚJO, D. F. D.; PICOLI, M. M.; MORAL, R. D. A.; DEMÉTRIO, C. G. B.; YAMAMOTO, P. T. Lethal and sublethal effects of insecticides used on citrus, on the ectoparasitoid *Tamarixia radiata*. **PLoS ONE**, v. 10, n. 7, p. e0132128, 2015.
- BERNARDO, E. R. A.; BETTIOL, W. Controle da pinta preta dos frutos cítricos em cultivo orgânico com agentes de biocontrole e produtos alternativos. **Tropical Plant Pathology**, v.35, n.1, p. 37-42, 2010.
- BERTHRONG, S. T.; BUCKLEY, D. H.; DRINKWATER, L. E. Agricultural management and labile carbon additions affect soil microbial community structure and interact with carbon and nitrogen cycling. **Microbial Ecology**, v. 66, n. 1, p. 158–170, 2013.
- BOARETTO, R. M.; MATTOS JUNIOR, D.; TRIVELIN, P. C. O.; MURAOKA, T.; BOARETTO, A. E. Acúmulo de nutrientes e destino do nitrogênio (^{15}N) aplicado em pomar jovem de laranjeira. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 29, n. 3, p. 600–605, 2007.
- BORDIN, I.; NEVES, C. S. V. J.; FRANCIO FILHO, P.; PRETI, E. A.; CARDOSO, C. Crescimento de milheto e guandu, desempenho de plantas cítricas e propriedades físicas do solo escarificado em um pomar. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 32, n. 4, p. 1409–1418, 2008.
- BOTEON, M.; CAPPELLO, F. P.; RIBEIRO, R. G.; PALMIERI, F. G.; RIBEIRO, C. Citros: quanto custa formar um pomar de laranja? **Revista eletrônica HortiFruti Brasil**, edição Maio/2017. CEPEA – Centro de Estudos Avançados em Economia Aplicada. Disponível em: <<http://www.hfbrasil.org.br/br/revista/acessar/completo/quanto-custa-um-pomar-de-laranja.aspx>>. Acessado em 26.05.2017.
- BOVÉ, J. M. Huanglongbing: a destructive, newly-emerging, century-old disease of citrus. **Journal Plant Pathology**, v.88, p. 7-37, 2006.
- BRASIL. Presidência da República - Casa Civil. **Lei Federal n.10.831** de 23.12.2003. Disponível em: <http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/leis/2003/L10.831.htm> Acessado: 24.05.2017.

- BREMER NETO, H.; VICTORIA FILHO, R.; MOURÃO FILHO, F. A. A.; MENEZES, G. M.; CANALI, E. Estado nutricional e produção de laranjeira 'Pêra' em função da vegetação intercalar e cobertura morta. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.43, n.1, p.29-35, 2008.
- BREUILLIN, F.; SCHRAMM, J.; HAJIREZAEI, M.; AHKAMI, A.; FAVRE, P.; DRUEGE, U.; HAUSE, B.; BUCHER, M.; KRETZSCHMAR, T.; BOSSOLINI, E.; KUHLEMEIER, C.; MARTINOIA, E.; FRANKEN, P.; SCHOLZ, U.; REINHARDT, D. Phosphate systemically inhibits development of arbuscular mycorrhiza in *Petunia hybrida* and represses genes involved in mycorrhizal functioning. **Plant Journal**, v. 64, n. 6, p. 1002–1017, 2010.
- BROCKETT, B. F.; PRESCOTT, C. E.; GRAYSTON, S. J. Soil moisture is the major factor influencing microbial community structure and enzyme activities across seven biogeoclimatic zones in western Canada. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 44, p. 9–20, 2012.
- BOSSUYT, H.; DENEFF, K.; SIX, J.; FREY, S.D.; MERCKX, R.; PAUSTIAN, K. Influence of microbial populations and residue quality on aggregate stability. **Applied Soil Ecology**, n.16, p.195–208, 2001.
- BRADFORD, M.M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v.72, p.248-254, 1976.
- CAMPOS, A. A. B.; SCOTTON, J. C.; COSTA, W. L. F.; GIASSI, V.; PINTO, D. F. P.; HOMMA, S. K. Seleção de fungicidas visando à preservação de fungos micorrízicos arbusculares nativos no cultivo do feijoeiro. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 199, p. 898–902, 2015.
- CARSON, J. K.; GONZALEZ-QUIÑONES, V.; MURPHY, D. V.; HINZ, C.; SHAW, J. A.; GLEESON, D. B. Low pore connectivity increases bacterial diversity in soil. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 76, n. 12, p. 3936–3942, 2010.
- CARVALHO, J. E. B.; SOUZA, L. S.; JORGE, L. A. C.; RAMOS, W. F.; NETO, A. O. C.; ARAUJO, A. M. A.; LOPES, L. C.; JESUS, M. S. de Manejo de coberturas do solo e sua interferência no desenvolvimento do sistema radicular da laranja 'pêra'. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 21, n. 2, p. 140-145, 1999.
- CARVALHO, C. R. L.; MANTOVANI, D. M. B.; CARVALHO, P. R. N.; DE MORAES, R. M. **Manual Técnico de Análises Químicas de Alimentos**. Biblioteca do ITAL. Campinas: ITAL - Instituto de Tecnologia de Alimentos, 1990. 121p.

- CEPAGRI - Centro de Pesquisas Meteorológicas e Climáticas Aplicadas à Agricultura. Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP. Disponível em: <<http://www.cpa.unicamp.br/outras-informacoes/clima-dos-municipios-paulistas.html>> Acessado em 15.05.2017.
- CHAUDHRY, V.; REHMAN, A.; MISHRA, A.; CHAUHAN, P. S.; NAUTIYAL, C. S. Changes in bacterial community structure of agricultural land due to long-term organic and chemical amendments. **Microbial Ecology**, v. 64, n. 2, p. 450–460, 2012.
- CHERUBIN, M. R.; EITELWEIN, M. T.; FABBRIS, C.; WEIRICH, S. W.; DA SILVA, R. F.; DA SILVA, V. R.; BASSO, C. J. Physical, chemical, and biological quality in an oxisol under different tillage and fertilizer sources. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 39, n. 2, p. 615–625, 2015.
- CRESPO-HERRERA, L. A.; ORTIZ, R. Plant breeding for organic agriculture: Something new? **Agriculture & Food Security**, v. 4, n. 1, p. 25, 2015.
- DA SILVA, M. Z.; SATO, M. E.; DE OLIVEIRA, C. A. L.; VERONEZ, B. Toxicidade de agroquímicos ao ácaro-da-leprose dos citros *Brevipalpus phoenicis* (Geijskes) e ao ácaro predador *Neoseiulus californicus* (McGregor) (Acari : Tenuipalpidae, Phytoseiidae). **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 79, p. 363–370, 2012.
- DE LIMA, F. B.; FÉLIX, C.; OSÓRIO, N.; ALVES, A.; VITORINO, R.; DOMINGUES, P.; ESTEVES, A. C. *Trichoderma harzianum* T1A constitutively secretes proteins involved in the biological control of *Guignardia citricarpa*. **Biological Control**, n. 106, p.99-109, 2017.
- DE OLIVEIRA, J. M. C.; DO NASCIMENTO, A. S.; DE MIRANDA, S. H. G.; BARBOSA, C. D. E. J.; LARANJEIRAS, F. F. Estimativa dos impactos econômicos decorrentes de eventual introdução do Huanglongbing (HLB) no estado da Bahia. **Revista Brasileira Fruticultura**, v. 35, n. 3, p. 755–762, 2013.
- DECHEN, A. R.; NACHTIGAL, G. R. **Nutrição mineral de plantas**. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2006. 432p.
- DE VRIES, F. T.; MANNING, P.; TALLOWIN, J. R. B.; MORTIMER, S. R.; PILGRIM, E. S.; HARRISON, K. A.; HOBBS, P. J.; QUIRK, H.; SHIPLEY, B.; CORNELISSEN, J. H. C.; KATTGE, J.; BARDGETT, R. D. Abiotic drivers and plant traits explain landscape-scale patterns in soil microbial communities. **Ecology Letters**, v. 15, n. 11, p. 1230–1239, 2012.

- DEPERON JÚNIOR, M. A.; NAGAHAMA, H. D. E. J.; OLSZEWSKI, N.; CORTEZ, J. W.; SOUZA, E. B. D. E. Influência de implementos de preparo e de níveis de compactação sobre atributos físicos do solo e aspectos agrônômicos da cultura do milho. **Engenharia Agrícola**, v. 4430, n. 67, p. 367–376, 2016.
- DEXTER, A. R. Soil physical quality. **Soil and Tillage Research**, v.79, n. 2, p.129-130, 2004.
- DONADIO, L. C.; MOURÃO FILHO, F. A. A.; MOREIRA, C. S. Centros de origem, distribuição geográfica das plantas cítricas e histórico da citricultura no Brasil. In: MATTOS JÚNIOR, D.; DE NEGRI, J.D.; PIO, R.M.; POMPEU JÚNIOR, J. (Ed.). **Citros**. Campinas: Instituto Agrônômico e Fundag, p.1-18, 2005.
- DURRER, A.; ANDREOTE, F. D. Introdução aos métodos independentes de cultivo no estudo da microbiologia do solo. In: CARDOSO, E. J. B. N.; ANDREOTE, F. D. **Microbiologia do Solo**. 2ª Edição: Piracicaba, ESALQ/USP, 2016. 221p.
- DURRER, A.; GUMIERE, T.; TAKETANI, R. G.; COSTA, D. P. da; PEREIRA E SILVA, M. de C.; ANDREOTE, F. D. The drivers underlying biogeographical patterns of bacterial communities in soils under sugarcane cultivation. **Applied Soil Ecology**, v. 110, p. 12–20, 2017.
- EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Manual de métodos de análise do solo**. 2ªed. Rio de Janeiro, RJ: Centro Nacional de Pesquisa de Solos, 1997, 212 p.
- EVANS, S. E.; WALLENSTEIN, M. D. Soil microbial community response to drying and rewetting stress: Does historical precipitation regime matter? **Biogeochemistry**, v. 109, n. 1–3, p. 101–116, 2012.
- FABER, B. A.; DOWNER, A. J.; MENGE, J. A. Differential effects of mulch on citrus and avocado. **Acta Horticulturae** (ISHS), n.557, p.303-308, 2001.
- FIALHO COSTA, W. L.; BOTELHO, R. C.; PELIZARI PINTO, D. F.; SCOTTON, J. C.; HOMMA, S. K. Ácaros da família Phytoseiidae em pomar de citros sob transição ecológica. **Cadernos de Agroecologia**, [S.l.], v. 10, n. 3, 2016
- FIDALSKI, J.; TORMENA, C.; SCAPIM, C. Espacialização vertical e horizontal dos indicadores de qualidade para um Latossolo Vermelho. **Revista Brasileira de Ciências do Solo**, v. 31, n. 3, p. 9–19, 2007.
- FIDALSKI, J., TORMENA, C. A., SILVA, A. P. Qualidade física do solo em pomar de laranja no noroeste do Paraná com manejo da cobertura permanente na entrelinha. **Revista Brasileira de Ciências do Solo**, v. 31, n. 3, p. 423-433, 2007.

- FIDALSKI, J.; TORMENA, C. A.; SILVA, Á. P. da. Least limiting water range and physical quality of soil under groundcover management systems in citrus. **Scientia Agricola**, v. 67, n. 4, p. 448–453, 2010.
- FIERER, N.; JACKSON, J. A.; VILGALYS, R.; JACKSON, R. B. Assessment of soil microbial community structure by use of taxon-specific quantitative PCR assays. **Applied and environmental microbiology**, v. 71, n. 7, p. 4117-4120, 2005.
- FNP CONSULTORIA & COMÉRCIO. **Agrianual 2017: Anuário da Agricultura Brasileira**. São Paulo, SP, 2016, p.227.
- FOCCHI, S.S.; SOGLIO, F.K.D.; CARRENHO, R.; SOUZA, P.V.D. de; LOVATO, P.E. Fungos micorrízicos arbusculares em cultivos de citros sob manejo convencional e orgânico. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.39, n.5, p.469-476, 2004.
- FOX, J. E.; GULLEDGE, J.; ENGELHAUPT, E.; BUROW, M. E.; MCLACHLAN, J. A. Pesticides reduce symbiotic efficiency of nitrogen-fixing rhizobia and host plants. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 104, n. 24, p. 10282–10287, 2007.
- FUKUDA, L.A.; FRANCO, D.; FACIO, S.L.; LIMA NETO, R.S. Sustentabilidade econômica da citricultura perante o Huanglongbing Citrus. **Research & Technology**, v.31, n.2, p.107-114, 2010.
- FUNDECITRUS - Fundo de Defesa da Citricultura. **Alerta fitossanitário**. Disponível em: <<http://www.fundecitrus.com.br/alerta-fitossanitario>> Acessado em 26.05.2017.
- GARDES, M.; BRUNS, T.D. ITS primers with enhanced specificity for basidiomycetes – application to the identification of mycorrhizae and rusts. **Molecular Ecology**, Oxford, v. 2, p. 113–118, 1993.
- GERDEMANN, J. W.; NICHOLSON, T. H. Spores of mycorrhizal Endogone species extracted from soil by wet and decanting. **Transactions of the British Mycological Society**, v. 46, n. 2, p. 235-244, 1963.
- GIOVANNETTI M.; TURRINI A.; STRANI P.; SBRANA C.; AVIO, L.; PIETRANGELI, B. Mycorrhizal Fungi in Ecotoxicological Studies: Soil Impact of Fungicides, Insecticides and Herbicides. **Prevention Today**, n. 2, p. 47-62, 2006.
- GLIESSMAN, S. R. **Agroecologia: processos ecológicos em agricultura sustentável**. 4ª Edição. Porto Alegre, Editora UFRGS, 2009. 656p.

- GODOY, M. S.; CARVALHO, G. A.; MORAES, J.C.; COSME, L.V.; GOUSSAIN, M.M.; CARVALHO, C.F.; MORAIS, A.A. Seletividade de seis inseticidas utilizados em citros a pupas e adultos de *Chrysoperla externa* (Hagen) (Neuroptera: Chrysopidae). **Neotropical Entomology**, p.359-364, 2004.
- GOTTWALD, T. R. Current epidemiological understanding of citrus Huanglongbing. **Annual Review Phytopathology**, v. 48, p. 119–39, 2010.
- GRAVENA, S. **Manejo ecológico de pragas dos citros: Manual prático**. Jaboticabal: S. Gravena, 2005. 372p.
- GRAVENA, S. **Manual prático de inspeção de pragas dos citros: Base para o manejo ecológico na produção integrada**. 2ª ed. Jaboticabal, S. Gravena, 2007. 84p.
- GRIFFITHS, B. S.; PHILIPPOT, L. Insights into the resistance and resilience of the soil microbial community. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 37, n. 2, p. 112–129, 2013.
- GRIGOLON, G.B. Curva de retenção de água no solo determinada a partir de um número mínimo de pares de umidade e tensão na câmara de Richard. Piracicaba, 2013. **Dissertação (Mestrado)** – Escola Superior de Agronomia “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo.
- GUPTA, V. V. S. R.; GERMIDA, J. J. Soil aggregation: Influence on microbial biomass and implications for biological processes. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 80, p. A3–A9, 2015.
- HARTMANN, M.; FREY, B.; MAYER, J.; MÄDER, P.; WIDMER, F. Distinct soil microbial diversity under long-term organic and conventional farming. **The ISME Journal**, v. 9, n. 5, p. 1177–1194, 2015.
- HOMMA, S. K.; TOKESHI, H.; MENDES, L. W.; TSAI, S. M. Long-term application of biomass and reduced use of chemicals alleviate soil compaction and improve soil quality. **Soil and Tillage Research**, v. 120, p. 147–153, 2012.
- HUESO, S.; GARCÍA, C.; HERNÁNDEZ, T. Severe drought conditions modify the microbial community structure, size and activity in amended and un-amended soils. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 50, p. 167–173, 2012.
- HUSSAIN, S.; SIDDIQUE, T.; SALEEM, M.; ARSHAD, M.; KHALID, A. Impact of pesticides on soil microbial diversity, enzymes, and biochemical reactions. Chapter 5, p159-200 **Advances in Agronomy**. 1.ed. [s.l.] Elsevier Inc, 2009. v.102.

- IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Levantamento Sistemático da Produção Agrícola – LSPA.** Disponível em: <https://sidra.ibge.gov.br/pesquisa/lspa/tabelas>. Acessado em 24.05.2017a.
- IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Censo Agropecuário de 2006.** Disponível em: <https://sidra.ibge.gov.br/acervo#/S/Q> Acessado em 25.05.2017b.
- JENKINS, W. R. A rapid centrifugal-flotation technique for separating nematodes from soil. **Plant Disease Report**, Washington, v. 48, n. 7, p. 692, 1964.
- KAISER, K.; WEMHEUER, B.; KOROLKOW, V.; WEMHEUER, F.; NACKE, H.; SCHÖNING, I.; SCHRUMPF, M.; DANIEL, R. Driving forces of soil bacterial community structure, diversity, and function in temperate grasslands and forests. **Scientific Reports**, v. 6, n. 1, p. 33696, 2016.
- KAISERMANN, A.; MARON, P. A.; BEAUMELLE, L.; LATA, J. C. Fungal communities are more sensitive indicators to non-extreme soil moisture variations than bacterial communities. **Applied Soil Ecology**, v. 86, p. 158–164, 2015.
- KASCHUK, G.; ALBERTON, O.; HUNGRIA, M. Three decades of soil microbial biomass studies in Brazilian ecosystems: Lessons learned about soil quality and indications for improving sustainability. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 42, n. 1, p. 1–13, 2010.
- RAMIREZ, K. S.; LAUBER, C. L.; KNIGHT, R.; BRADFORD, M. A.; FIERER, N. Consistent effects of nitrogen fertilization on soil bacterial communities in contrasting systems. **Ecology**, v. 91, n. 12, p. 3463–3470, 2010.
- KEMPER, W. D.; CHEPIL, W. S. Size distribution of aggregates. In: BLACK, C. A.; EVANS, D. D.; WHITE, J. L. **Methods of soil analysis**. Madison: American Society of Agronomy, 1965, v. 2, cap.39, p.499-510.
- KIBBLEWHITE, M. G.; RITZ, K.; SWIFT, M. J. Soil health in agricultural systems. **Philosophical Transactions of Royal Society**, v.363, p.685–701, 2008.
- KLEIN, M. N.; DA SILVA, A. C.; KUPPER, K. C. Bacillus subtilis based-formulation for the control of postbloom fruit drop of citrus. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v.32, n.12, p.205, 2016.
- KLINGER, C. R.; LAU, J. A.; HEATH, K. D. Ecological genomics of mutualism decline in nitrogen-fixing bacteria. **Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 283, n. 1826, p. 20152563, 2016.

- KNELMAN, J. E.; SCHMIDT, S. K.; LYNCH, R. C.; DARCY, J. L.; CASTLE, S. C.; CLEVELAND, C. C.; NEMERGUT, D. R. Nutrient addition dramatically accelerates microbial community succession. **PloS one**, v. 9, n. 7, p. e102609, 2014.
- KREMEN, C.; MILES, A. Ecosystem services in biologically diversified versus conventional farming systems: Benefits, externalities, and trade-offs. **Ecology and Society**, v. 17, n. 4, p. 1–23, 2012.
- KUPPER, K. C.; BELLOTTE, J. A. M.; GOES, A. D. Controle alternativo de *Colletotrichum acutatum*, agente causal da queda prematura dos frutos cítricos. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 31, n. 4, p. 1004-1015, 2009.
- KUPPER, K. C.; CORRÊA, É. B.; MORETTO, C.; BETTIOL, W.; GOES, A. D. Control of *Guignardia citricarpa* by *Bacillus subtilis* and *Trichoderma* spp. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 33, n. 4, p. 1111-1118, 2011.
- LEFF, J. W.; JONES, S. E.; PROBER, S. M.; BARBERÁN, A.; BORER, E. T.; FIRN, J. L.; HARPOLE, W. S.; HOBIE, S. E.; HOFMOCKEL, K. S.; KNOPS, J. M. H.; MCCULLEY, R. L.; LA PIERRE, K.; RISCH, A. C.; SEABLOOM, E. W.; SCHÜTZ, M.; STEENBOCK, C.; STEVENS, C. J.; FIERER, N. Consistent responses of soil microbial communities to elevated nutrient inputs in grasslands across the globe. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 112, n. 35, p. 10967–72, 2015.
- LEHNHOFF, E.; MILLER, Z.; MILLER, P.; JOHNSON, S.; SCOTT, T.; HATFIELD, P.; MENALLED, F. Organic agriculture and the quest for the holy grail in water-limited ecosystems: Managing weeds and reducing tillage intensity. **Agriculture**, v. 7, n. 4, p. 33, 2017.
- LIMA, C. L. R.; SILVA, A. P.; IMHOFF, S.; LIMA, H. V.; LEÃO, T. P. Heterogeneidade da compactação de um latossolo vermelho-amarelo sob pomar de laranja. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.28, p.409-414, 2004.
- LIU, Y.; JOHNSON, N. C.; MAO, L.; SHI, G.; JIANG, S.; MA, X.; DU, G.; AN, L.; FENG, H. Phylogenetic structure of arbuscular mycorrhizal community shifts in response to increasing soil fertility. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 89, p. 196–205, 2015.
- LIU, W.; MARSH, T.L.; CHENG, H.; FORNEY, L.J. Characterization of microbial diversity by determining terminal restriction fragment length polymorphisms of genes encoding 16S rRNA. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v.63, n. 11, p. 4516–4522, 1997.

- LUCAS, S. T.; D'ANGELO, E. M.; WILLIAMS, M. A. Improving soil structure by promoting fungal abundance with organic soil amendments. **Applied Soil Ecology**, v. 75, p. 13–23, 2014.
- MCGONIGLE, T.P.; MILLER, M.H.; EVANS, D.G.; FAIRCHILD, G.L.; SWAN, J.A. A new method which gives an objective measure of colonization of roots by vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. **New Phytologist**, v. 115, p. 495-501, 1990.
- MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa n. 46 de 06.10.2011** (Produção vegetal e animal – Regulada pela IN 17/2014). Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/assuntos/sustentabilidade/organicos/legislacao/portugues/instrucao-normativa-no-46-de-06-de-outubro-de-2011-producao-vegetal-e-animal-regulada-pela-in-17-2014.pdf/view>> Acessado 24.05.2017a.
- MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Sistemas de Agrotóxicos Fitossanitários (AGROFIT)**. Disponível em: <http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons>. Acessado 24.05.2017b.
- MARINI, F. S.; MARINHO, C. S. Adubação complementar para a mexeriqueira “Rio” em sistema de cultivo orgânico. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 15, n. 6, p. 562–568, 2011.
- MARSCHNER, P.; RENGEL, Z. Nutrient availability in soil. In: MARSCHNER, P. Ed. **Marschner's Mineral Nutrition Higher Plants**, Third Edition. San Diego: Academic Press, 2012, chapter 12, p315–330.
- MASCHIO, F. Ações adotadas pelo citricultor para o manejo do Huanglongbing (HLB, Greening) no parque citrícola Paulista. Araraquara, 2011. 30p. **Dissertação (Mestrado)** - Mestrado profissional em controle de doenças e pragas dos citros, Fundo de Defesa da Citricultura (FUNDECITRUS).
- MATÍAS, L.; CASTRO, J.; ZAMORA, R. Effect of simulated climate change on soil respiration in a mediterranean-type ecosystem: Rainfall and habitat type are more important than temperature or the soil carbon pool. **Ecosystems**, v. 15, n. 2, p. 299–310, 2012.
- MATTOS, D. JR.; BATAGLIA, O. C.; QUAGGIO, J. A. Nutrição dos citros. In: MATTOS JÚNIOR, D.; DE NEGRI, J.D.; PIO, R.M.; POMPEU JÚNIOR, J. (Ed.). **Citros**. Campinas: Instituto Agrônômico e Fundag, p.198–216, 2005.

- MINATEL, A. L. G.; ANDRIOLI, I.; CENTURION, J. F.; WILLIAM, N. Efeitos da subsolagem e da adubação verde nas propriedades físicas do solo em pomar de citros. **Engenharia Agrícola**, v. 26, n. 1, p. 86–95, 2006.
- MIRSKY, S. B.; RYAN, M. R.; TEASDALE, J. R.; CURRAN, W. S.; REBERG-HORTON, C. S.; SPARGO, J. T.; WELLS, M. S.; KEENE, C. L.; MOYER, J. W. Overcoming weed management challenges in cover crop-based organic rotational no-till soybean production in the eastern United States. **Weed Technology**, v. 27, n. 1, p. 193–203, 2013.
- MUYZER, G.; DEWAAL, E.C.; UITTERLINDEN, A.G. Profiling of complex microbialpopulations by denaturing gradient gel-electrophoresis analysis of polymerase chain reaction amplified genes-coding for 16S ribosomal-RNA. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 59, p. 695–700, 1993.
- MUÑOZ-ROJAS, M.; ERICKSON, T. E.; MARTINI, D.; DIXON, K. W.; MERRITT, D. J. Soil physicochemical and microbiological indicators of short, medium and long term post-fire recovery in semi-arid ecosystems. **Ecological Indicators**, v. 63, p. 14–22, 2016.
- NEGASSA, W. C.; GUBER, A. K.; KRAVCHENKO, A. N.; MARSH, T. L.; HILDEBRANDT, B.; RIVERS, M. L. Properties of soil pore space regulate pathways of plant residue decomposition and community structure of associated bacteria. **PLoS ONE**, v. 10, n. 4, p. 1–22, 2015.
- NG, E. L.; PATTI, A. F.; ROSE, M. T.; SCHEFE, C. R.; SMERNIK, R. J.; CAVAGNARO, T. R. Do organic inputs alter resistance and resilience of soil microbial community to drying? **Soil Biology and Biochemistry**, v. 81, p. 58–66, 2015.
- OR, D.; SMETS, B. F.; WRAITH, J. M.; DECHESNE, A.; FRIEDMAN, S. P. Physical constraints affecting bacterial habitats and activity in unsaturated porous media - a review. **Advances in Water Resources**, v. 30, n. 6–7, p. 1505–1527, 2007.
- OSBORN, A. M.; MOORE, E. R.; TIMMIS, K. N. An evaluation of terminal-restriction fragment length polymorphism (T-RFLP) analysis for the study of microbial community structure and dynamics. **Environmental microbiology**, v. 2, n. 1, p. 39–50, 2000.
- OTTESEN, A. R.; GORHAM, S.; PETTENGILL, J. B.; RIDEOUT, S.; EVANS, P.; BROWN, E. The impact of systemic and copper pesticide applications on the phyllosphere microflora of tomatoes. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 95, n. 5, p. 1116–1125, 2015.

- MULLER, J.; LEVIEN, R.; TREIN, C. R.; SEQUINATTO, L.; MAZURANA, M.; STÜRMER, S. L. K.; PIETRZACKA, R. Atributos físicos e químicos de um argissolo vermelho, em pomar orgânico de citros com manejo da vegetação nas entrelinhas. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 4, n. 33, p.1127–1134, 2011.
- PAUL, E. A. **Soil microbiology, ecology and biochemistry**. 3ª Edição. USA: Academic Press, 2007. 514p.
- PARRA, J. R. P.; OLIVEIRA, H. N.; PINTO, A. S. Predadores. In: **Guia ilustrado de pragas e insetos benéficos dos citros**. Piracicaba: A. S. Pinto, 2003. p.102-117.
- PETRY, H. B.; KOLLER, O. C.; BENDER, R. J.; SCHWARZ, S. F. Qualidade de laranjas ‘Valência’ produzidas sob sistemas de cultivo orgânico e convencional. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.34, n.1, p167-174, 2012.
- POWLSON, D. S.; PROOKES, P. C.; CHRISTENSEN, B. T. Measurement of soil microbial biomass provides an early indication of changes in total soil organic matter due to straw incorporation. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 19, n. 2, p. 159-164, 1987.
- 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**, v. 282, n. 20141396, p. 1–7, 2015.
- PUENTE, M.; DARNALL, N.; FORKNER, R. E. Assessing integrated pest management adoption: Measurement problems and policy implications. **Environmental Management**, v. 48, n. 5, p. 1013–1023, 2011.
- QUAGGIO, J. A.; VAN RAIJ, B.; PIZA JUNIOR. Recomendações para frutíferas. In: VAN RAIJ, B.; CANTARELLA H.; QUAGGIO, J.A.;FURLANI, A.M.C. **Boletim Técnico n. 100: Recomendações de adubações e calagem para o Estado de São Paulo** , 2.ed. Campinas: Instituto Agrônômico/Fundação IAC, 1997. 285p.
- RABBI, S. M. F.; DANIEL, H.; LOCKWOOD, P. V.; MACDONALD, C.; PEREG, L.; TIGHE, M.; WILSON, B. R.; YOUNG, I. M. Physical soil architectural traits are functionally linked to carbon decomposition and bacterial diversity. **Scientific Reports**, v. 6, n. 1, p. 33012, 2016.

- RAGOZO, C. R. A.; LEONEL, S.; CROCCI, A. J. Adubação verde em pomar cítrico. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 28, n. 1, p. 69–72, 2006.
- RAIJ, B., VAN ANDRADE, J.C., CANTARELLA, H., QUAGGIO, J.A., 2001. **Análise química para a avaliação da fertilidade de solos tropicais**. Instituto Agronômico, Campinas, 285pp.
- RAMOS, D. P.; LEONEL, S. Atributos de qualidade de frutos de tangerineira 'Poncã' adubada com composto orgânico, em dois ciclos agrícolas de avaliação. **Scientia Plena**, p.1-10, 2014.
- REGELINK, I. C.; STOOF, C. R.; ROUSSEVA, S.; WENG, L.; LAIR, G. J.; KRAM, P.; NIKOLAIDIS, N. P.; KERCHEVA, M.; BANWART, S.; COMANS, R. N. J. Linkages between aggregate formation, porosity and soil chemical properties. **Geoderma**, v. 247–248, p. 24–37, 2015.
- RIAH, W.; LAVAL, K.; LAROCHE-AJZENBERG, E.; MOUGIN, C.; LATOUR, X.; TRINSOUTROT-GATTIN, I. Effects of pesticides on soil enzymes: A review. **Environmental Chemistry Letters**, v. 12, n. 2, p.257-273, 2014.
- RILLIG, M. C.; RAMSEY, P. W.; MORRIS, S.; PAUL, E. A. Glomalin, an arbuscular-mycorrhizal fungal soil protein, responds to land-use change. **Plant and Soil**, v. 253, p. 293–299, 2003.
- RICHARDS, L. A.; FIREMAN, M. Pressure-plate apparatus for measuring moisture sorption and transmission by soils. **Soil Science**, v.56, p.395-404, 1943.
- RICHARDSON, A. E.; SIMPSON, R. J. Soil microorganisms mediating phosphorus availability update on microbial phosphorus. **Plant Physiology**, v. 156, n. 3, p. 989–996, 2011.
- ROMHELD, V. Diagnosis of deficiency and toxicity of nutrients. In: MARSCHNER, P. Ed. **Marschner's Mineral Nutrition Higher Plants**, Third Edition. San Diego: Academic Press, 2012, chapter 11, p. 299–311.
- RUAMPS, L. S.; NUNAN, N.; CHENU, C. Microbial biogeography at the soil pore scale. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 43, n. 2, p. 280–286, 2011.
- SACCO, D.; MORETTI, B.; MONACO, S.; GRIGNANI, C. Six-year transition from conventional to organic farming: effects on crop production and soil quality. **European Journal of Agronomy**, v. 69, p. 10–20, 2015.
- SALEM, H. M.; VALERO, C.; MUÑOZ, M. Á.; RODRÍGUEZ, M. G.; SILVA, L. L. Short-term effects of four tillage practices on soil physical properties, soil water potential, and maize yield. **Geoderma**, v. 237–238, p. 60–70, 2015.

- SANTOS, V. B.; ARAÚJO, A. S. F.; LEITE, L. F. C.; NUNES, L. A. P. L.; MELO, W. J. Soil microbial biomass and organic matter fractions during transition from conventional to organic farming systems. **Geoderma**, v. 170, p. 227–231, 2012.
- SAPP, M.; HARRISON, M.; HANY, U.; CHARLTON, A.; THWAITES, R. Comparing the effect of digestate and chemical fertiliser on soil bacteria. **Applied Soil Ecology**, v. 86, p. 1–9, 2015.
- SCALCO, A. R.; OLIVEIRA, S. C.; COBRE, J. Caracterização das motivações e entraves para o produtor rural de orgânicos no Brasil. **Espacios**, v. 36, n. 15, p. 14, 2015.
- SCHNEIDER, S.; HARTMANN, M.; ENKERLI, J.; WIDMER, F. Fungal community structure in soils of conventional and organic farming systems. **Fungal Ecology**, v. 3, n. 3, p. 215–224, 2010.
- SHARIFI, M.; LYNCH, D. H.; HAMMERMEISTER, A.; BURTON, D. L.; MESSIGA, A. J. Effect of green manure and supplemental fertility amendments on selected soil quality parameters in an organic potato rotation in Eastern Canada. **Nutrient Cycling in Agroecosystems**, v. 100, n. 2, p. 135–146, 2014.
- SHI, G.; LIU, Y.; JOHNSON, N. C.; OLSSON, P. A.; MAO, L.; CHENG, G.; JIANG, S.; AN, L.; DU, G.; FENG, H. Interactive influence of light intensity and soil fertility on root-associated arbuscular mycorrhizal fungi. **Plant and Soil**, v. 378, n. 1–2, p. 173–188, 2014.
- SCHÜTTE, U. M. E. et al. Bacterial succession in a glacier foreland of the High Arctic. **The ISME journal**, v. 3, n. 11, p. 1258–1268, 2009.
- SILVA, E. E.; DE AZEVEDO, P. H. S.; DE-POLLI, H. Determinação da respiração basal (RBS) e quociente metabólico do solo (qCO₂). **Comunicado Técnico n. 99**. Seropédica, RJ: Embrapa Agrobiologia, 2007.
- SPADOTTO, C. A.; GOMES, M. A. F.; LUCHINI, L. C.; ANDRÉA, M. M. Monitoramento do risco ambiental de agrotóxicos: Princípios e recomendações. Jaguariúna: EMBRAPA, 2004, 29p. **Documentos 42**. Disponível em: <<http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/handle/doc/14523>> Acesso em 02.05.2017.
- STONE, D.; RITZ, K.; GRIFFITHS, B. G.; ORGIAZZI, A.; CREAMER, R. E. Selection of biological indicators appropriate for European soil monitoring. **Applied Soil Ecology**, v. 97, p. 12–22, 2016.

- TAUTGES, N. E.; SULLIVAN, T. S.; REARDON, C. L.; BURKE, I. C. Soil microbial diversity and activity linked to crop yield and quality in a dryland organic wheat production system. **Applied Soil Ecology**, v. 108, p. 258–268, 2016.
- TU, C.; LOUWS, F. J.; CREAMER, N. G.; PAUL MUELLER, J.; BROWNIE, C.; FAGER, K.; BELL, M.; HU, S. Responses of soil microbial biomass and N availability to transition strategies from conventional to organic farming systems. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v. 113, n. 1–4, p. 206–215, 2006.
- TUOMISTO, H. L.; HODGE, I. D.; RIORDAN, P.; MACDONALD, D. W. Does organic farming reduce environmental impacts? A meta-analysis of European research. **Journal of Environmental Management**, v. 112, n. 834, p. 309–320, 2012.
- TURRA, C.; SANTOS, P. S. Characteristics of organic citriculture in Brazil. **European Journal of Sustainable Development**, v. 5, n. 3, p. 113, 2016.
- UPHOFF, N.; BALL, A. S.; FERNANDES, E. C. M.; HERREN, H.; HUSSON, O.; PALM, C.; PRETTY, J.; SANGINGA, N.; THIES, E. J. Understanding the functioning and management of soil. In: Uphoff, N., Ball, A. S., Fernandes, E., Herren, H., Husson, O., Laing, M., Palm, C., Pretty, J., Sanchez, P., Sanginga, N., Thies, J. (Eds.), **Biological approaches to sustainable soil systems**. CRC Press Taylor and Francis, Florida, 2006, p. 3-13.
- VAN BRUGGEN, A. H. C.; GAMLIEL, A.; FINCKH, M. R. Plant disease management in organic farming systems. **Pest Management Science**, v. 72, n. 1, p. 30–44, 2016.
- VAN GENUCHTEN, M.T. A closed-form equation for predicting the hydraulic conductivity of unsaturated soils. **Soil Science Society of America Journal**, v. 44, p. 892-898, 1980.
- VAN GENUCHTEN, M.T.; LIEJ, F.J.; YATES, S.R. **The RETC Code for quantifying the hydraulic functions of unsaturated soils**. USDA, US Salinity Laboratory, Document EPA/600/2-91/065, Riverside, California, USA, 1991.
- VANCE, E.D.; BROOKES, P.C.; JENKINSON, D.S. An extraction method for measuring soil microbial biomass C. **Soil Biology and Biochemistry**, v.19, p.703-707, 1987.
- VIERHEILIG, H.; COUGHLAN, A. P.; WYSS, U.; PICHE, Y. Ink and Vinegar, a Simple Staining Technique for Arbuscular-Mycorrhizal Fungi. **Applied and Environmental Microbiology**, v.64, p.5004-5007, 1998.

- VOS, M.; WOLF, A. B.; JENNINGS, S. J.; KOWALCHUK, G. A. Micro-scale determinants of bacterial diversity in soil. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 37, n. 6, p. 936–954, 2013.
- WAKELIN, S. A.; CHU, G.; LARDNER, R.; LIANG, Y.; MCLAUGHLIN, M. A single application of Cu to field soil has long-term effects on bacterial community structure, diversity, and soil processes. **Pedobiologia**, v. 53, n. 2, p. 149–158, 2010.
- WANG, C.; WANG, F.; ZHANG, Q.; LIANG, W. Individual and combined effects of tebuconazole and carbendazim on soil microbial activity. **European Journal of Soil Biology**, v. 72, p. 6–13, 2016.
- WANG, N.; TRIVEDI, P. Citrus Huanglongbing: A newly relevant disease presents unprecedented challenges. **Phytopathology**, v. 103, n. 7, p. 652–665, 2013.
- WANG, P.; ZHANG, J. J.; SHU, B.; XIA, R. X. Arbuscular mycorrhizal fungi associated with citrus orchards under different types of soil management, southern China. **Plant and Soil Environment**, v.7, n.58, p.302–308, 2012.
- WOLF, A. B.; VOS, M.; DE BOER, W.; KOWALCHUK, G. A. Impact of matric potential and pore size distribution on growth dynamics of filamentous and non-filamentous soil bacteria. **PLoS ONE**, v. 8, n. 12, p. e83661, 2013.
- WRIGHT, S.F.; UPADHYAYA, A. A survey of soils for aggregate stability and glomalin, a glycoprotein produced by hyphae of arbuscular mycorrhizal fungi. **Plant and Soil**, v. 198, p.97-107, 1998.
- YAMAMOTO, P.; ALVES, G.; BELOTI, V. Manejo e controle do huanglongbing (HLB) dos cítricos. **Investigación Agrária**, v. 16, n. 2, p. 69–82, 2015.
- YAMAMOTO, P. T.; BASSANEZI, R. B. Seletividade de produtos fitossanitários aos inimigos naturais de pragas dos citros. **Revista LARANJA**, v.24, n.2, p.353-382, 2003.
- ZAMBROSI, F. C. B.; MATTOS, D.; BOARETTO, R. M.; QUAGGIO, J. A.; MURAOKA, T.; SYVERTSEN, J. P. Contribution of phosphorus (^{32}P) absorption and remobilization for citrus growth. **Plant and Soil**, v. 355, n. 1–2, p. 353–362, 2012.
- ZEGLIN, L. H.; OTTOMLEY, P. J. B.; UMPPONEN, A. J.; ICE, C. W. R.; RANGO, M. A.; INDSLEY, A. L.; OWAN, A. M. C. G. Altered precipitation regime affects the function and composition of soil microbial communities on multiple time scales. **Ecology**, v. 94, n. 10, p. 2334–2345, 2013.

- ZHAO, C.; MIAO, Y.; YU, C.; ZHU, L.; WANG, F.; JIANG, L.; HUI, D.; WAN, S. Soil microbial community composition and respiration along an experimental precipitation gradient in a semiarid steppe. **Scientific reports**, v. 6, n. March, p. 24317, 2016.
- ZHOU, X.; HE, Z.; LIANG, Z.; STOFFELLA, P. J.; FAN, J.; YANG, Y.; POWELL, C. a. Long-term use of copper-containing fungicide affects microbial properties of citrus grove soils. **Soil Science Society of America Journal**, v. 75, n. 3, p. 898, 2011.

ANEXOS

ANEXO A. Resultados das variáveis microbiológicas do solo, profundidade 00-20 cm e 20-50 cm, tratamentos Transição e Convencional, das safras 13/14, 14/15 e 15/16.

Safr	00-20 cm			20-50 cm		
	TRANS	CONV	p-valor	TRANS	CONV	p-valor
qPCRbact (n. cópias DNA.g ⁻¹ solo)						
13/14	9,30	10,00	0,007	10,34	10,47	0,472
14/15	9,43	9,02	0,195	9,51	9,77	0,077
15/16	11,02	10,77	0,004	10,40	10,45	0,489
qPCR fun (n. cópias DNA.g ⁻¹ solo)						
13/14	5,07	6,29	0,001	9,47	9,24	0,017
14/15	6,45	5,40	0,000	7,40	6,79	0,001
15/16	7,20	7,00	0,193	6,87	6,58	0,006
F:B (fungo:bactéria)						
13/14	0,54	0,63	0,011	0,92	0,88	0,068
14/15	0,70	0,60	0,010	0,78	0,70	0,001
15/16	0,65	0,65	0,755	0,66	0,63	0,002
GFE (mg.g ⁻¹ solo)						
13/14	5,34	3,92	0,001	5,22	4,53	0,001
14/15	5,53	4,09	0,001	5,22	4,57	0,001
15/16	5,43	4,01	0,001	5,22	4,55	0,001
GlomT (mg.g ⁻¹ solo)						
13/14	10,59	10,24	0,212	10,48	10,84	0,460
14/15	9,14	8,25	0,001	7,95	8,17	0,467
15/16	9,29	7,94	0,001	7,87	7,63	0,330
C-BMS (mg C-mic.kg ⁻¹)						
13/14	248,17	226,41	0,560	232,79	189,25	0,214
14/15	578,04	278,95	0,001	471,05	145,95	0,001
15/16	397,32	203,07	0,001	289,38	142,86	0,001
qCO ₂ (mg C-CO ₂ .C-BMS ⁻¹ .dia ⁻¹)						
13/14	0,23	0,19	0,616	0,21	0,20	0,898
14/15	0,03	0,06	0,001	0,02	0,09	0,002
15/16	0,03	0,06	0,001	0,03	0,06	0,000
qMIC (mg C-mic.COT ⁻¹)						
13/14	2,48	1,89	0,122	3,51	2,33	0,017
14/15	7,28	3,32	0,001	8,50	3,17	0,001
15/16	4,70	2,47	0,001	6,46	2,95	0,001

qPCRbact = n. cópias de DNA de bactérias; qPCRfun = n. cópias de DNA de fungos; F:B = proporção fungo e bactéria; GFE = glomalina facilmente extraível (EE-GRSP); GlomT = glomalina total (T-GRSP); C-BMS = carbono da biomassa microbiana do solo; qCO₂ = quociente metabólico; qMIC = quociente microbiano. Médias de 10 repetições comparadas pelo teste t de Student. Diferenças significativas (p≤0,05) em negrito.

ANEXO B. Resultados das variáveis de físicas do solo, profundidade 00-20 cm e 20-50 cm, tratamentos Transição e Convencional, das safras 13/14, 14/15 e 15/16.

Safr	00-20 cm			20-50 cm		
	TRANS	CONV	p-valor	TRANS	CONV	p-valor
Dens (g.cm ⁻³)						
13/14	1,39	1,40	0,822	1,49	1,40	0,004
14/15	1,47	1,52	0,232	1,56	1,52	0,058
15/16	1,37	1,36	0,691	1,42	1,32	0,016
Macro (cm ³ .cm ⁻³)						
13/14	0,15	0,13	0,310	0,11	0,13	0,184
14/15	0,10	0,08	0,159	0,10	0,09	0,497
15/16	0,18	0,15	0,235	0,15	0,11	0,107
Micro (cm ³ .cm ⁻³)						
13/14	0,29	0,31	0,001	0,32	0,32	0,860
14/15	0,31	0,31	0,829	0,31	0,32	0,056
15/16	0,29	0,29	0,335	0,30	0,33	0,046
PT (cm ³ .cm ⁻³)						
13/14	0,44	0,44	0,973	0,43	0,45	0,137
14/15	0,41	0,40	0,243	0,40	0,41	0,068
15/16	0,46	0,45	0,353	0,45	0,45	0,909
Macro:PT (%)						
13/14	0,33	0,29	0,146	0,26	0,29	0,232
14/15	0,24	0,21	0,258	0,25	0,22	0,331
15/16	0,37	0,33	0,184	0,32	0,25	0,076
IndiceS (Slope)						
13/14	0,07	0,06	0,778	0,06	0,08	0,022
14/15	0,05	0,05	0,564	0,05	0,05	0,518
15/16	0,09	0,07	0,223	0,07	0,08	0,432
ADP (cm ³ .cm ⁻³)						
13/14	0,10	0,10	0,982	0,12	0,11	0,012
14/15	0,14	0,15	0,807	0,13	0,14	0,111
15/16	0,12	0,14	0,129	0,14	0,18	0,014
DMG (mm)						
13/14	1,44	1,53	0,132	1,20	1,19	0,823
14/15	1,39	1,45	0,317	1,06	1,26	0,001
15/16	1,40	1,48	0,260	1,16	1,18	0,641

Dens = densidade do solo; Macro = macroporosidade; Micro = microporosidade; PT = porosidade total; Macro:PT = relação entre macroporosidade e porosidade total; IndiceS = angulo da tangente no ponto de inflexão da curva de CRA; ADP = água disponível para planta; DMG = diâmetro médio geométrico. Médias de 10 repetições comparadas pelo teste t de Student. Diferenças significativas (p≤0,05) em negrito.

ANEXO C. Resultados das variáveis de fertilidade química do solo, profundidade 00-20 cm e 20-50 cm, tratamentos Transição e Convencional, das safras 13/14, 14/15 e 15/16.

Safra	00-20 cm			20-50 cm		
	TRANS	CONV	p-valor	TRANS	CONV	p-valor
P (mg.dm ⁻³)						
13/14	105,39	82,24	0,052	64,83	25,69	0,001
14/15	48,25	59,50	0,316	14,20	11,55	0,185
15/16	34,51	18,93	0,011	7,99	5,45	0,163
MO (g.dm ⁻³)						
13/14	16,36	17,50	0,312	11,40	9,34	0,011
14/15	20,75	22,45	0,265	16,70	12,80	0,019
15/16	20,80	19,60	0,432	11,45	11,45	1,000
pH(CaCl ₂)						
13/14	5,87	5,91	0,747	5,03	4,99	0,812
14/15	5,18	5,46	0,022	4,25	4,26	0,958
15/16	6,15	5,81	0,001	5,39	5,13	0,275
K (mmolc.dm ⁻³)						
13/14	4,70	4,54	0,670	2,61	3,25	0,013
14/15	4,02	3,42	0,126	2,74	2,52	0,334
15/16	1,66	1,48	0,192	1,00	1,26	0,066
Ca (mmolc.dm ⁻³)						
13/14	50,10	43,50	0,123	23,38	14,38	0,002
14/15	40,50	52,57	0,003	14,69	22,60	0,019
15/16	37,08	34,00	0,258	17,51	14,00	0,201
Mg (mmolc.dm ⁻³)						
13/14	17,43	15,57	0,112	10,78	10,65	0,932
14/15	12,64	11,80	0,255	5,08	5,69	0,438
15/16	11,59	10,22	0,138	6,99	5,92	0,244
H+Al (mmolc.dm ⁻³)						
13/14	14,40	15,55	0,429	22,55	25,10	0,286
14/15	23,50	21,45	0,085	31,40	31,05	0,919
15/16	16,20	16,58	0,687	22,50	23,53	0,666
CTC (mmolc.dm ⁻³)						
13/14	86,62	79,16	0,101	59,31	53,38	0,092
14/15	80,65	89,24	0,030	53,91	61,86	0,047
15/16	66,54	62,28	0,217	48,00	44,70	0,186
S (mg.dm ⁻³)						
13/14	8,07	10,44	0,001	27,84	25,81	0,665
14/15	12,55	10,55	0,340	35,00	37,20	0,787
15/16	4,48	6,34	0,035	11,47	14,24	0,481

(Continua)

(Conclusão)

Safr	00-20 cm			20-50 cm		
	TRANS	CONV	p-valor	TRANS	CONV	p-valor
B (mg.dm ⁻³)						
13/14	0,53	0,39	0,001	0,51	0,31	0,001
14/15	0,37	0,94	0,001	0,15	0,67	0,001
15/16	0,25	0,25	0,995	0,16	0,21	0,019
Cu (mg.dm ⁻³)						
13/14	13,05	16,13	0,026	4,04	4,52	0,437
14/15	14,47	16,50	0,188	3,83	2,89	0,179
15/16	9,46	11,07	0,248	2,67	2,72	0,937
Fe (mg.dm ⁻³)						
13/14	37,67	33,46	0,310	33,17	25,10	0,130
14/15	59,15	41,98	0,005	53,19	39,12	0,045
15/16	20,93	23,38	0,105	17,74	18,97	0,495
Mn (mg.dm ⁻³)						
13/14	5,74	4,85	0,182	2,44	2,55	0,578
14/15	15,62	17,23	0,785	3,14	1,70	0,001
15/16	2,18	2,90	0,012	0,60	1,29	0,001
Zn (mg.dm ⁻³)						
13/14	12,14	10,40	0,400	3,00	2,23	0,124
14/15	10,36	8,44	0,197	2,74	1,50	0,100
15/16	7,12	4,57	0,006	1,68	1,27	0,281

Médias de 10 repetições comparadas pelo teste t de Student. Diferenças significativas ($p \leq 0,05$) em negrito.

ANEXO D. Resultados das variáveis de nutrição foliar, tratamentos Transição e Convencional, das safras 13/14, 14/15 e 15/16.

Nutriente	Safr	TRANS	CONV	p-valor
N-fol (g.kg ⁻¹)	13/14	25,94	25,95	0,993
	14/15	31,15	32,00	0,085
	15/16	23,70	29,15	0,001
P-fol (g.kg ⁻¹)	13/14	1,37	1,44	0,119
	14/15	1,68	1,69	0,656
	15/16	1,46	1,37	0,007
K-fol (g.kg ⁻¹)	13/14	14,51	15,03	0,108
	14/15	11,36	13,73	0,001
	15/16	19,79	20,22	0,666

(Continua)

(Conclusão)

Nutriente	Safrá	TRANS	CONV	p-valor
Ca-fol (g.kg ⁻¹)	13/14	67,85	62,02	0,008
	14/15	42,15	41,26	0,311
	15/16	32,92	33,98	0,453
Mg-fol (g.kg ⁻¹)	13/14	2,24	2,33	0,328
	14/15	5,02	4,85	0,299
	15/16	2,63	2,52	0,276
S-fol (g.kg ⁻¹)	13/14	2,61	2,77	0,073
	14/15	1,90	2,30	0,001
	15/16	1,77	1,58	0,001
B-fol (mg.kg ⁻¹)	13/14	56,51	66,24	0,019
	14/15	77,30	79,78	0,643
	15/16	48,75	61,38	0,001
Cu-fol (mg.kg ⁻¹)	13/14	16,56	118,07	0,001
	14/15	29,09	179,10	0,001
	15/16	23,97	51,36	0,001
Fe-fol (mg.kg ⁻¹)	13/14	196,70	185,31	0,011
	14/15	234,93	266,60	0,667
	15/16	140,89	168,64	0,002
Mn-fol (mg.kg ⁻¹)	13/14	41,10	38,88	0,063
	14/15	54,53	45,48	0,001
	15/16	14,63	24,60	0,001
Zn-fol (mg.kg ⁻¹)	13/14	58,66	54,03	0,222
	14/15	62,15	37,66	0,001
	15/16	21,08	34,47	0,001

Médias de 10 repetições comparadas pelo teste t de Student. Diferenças significativas (p≤0,05) em negrito.

ANEXO E. Resultados de colonização micorrízicas e esporos viáveis no solo, profundidade 00-20 cm, tratamentos Transição e Convencional, das safras 13/14, 14/15 e 15/16.

	Safra	00-20 cm		p-valor
		TRANS	CONV	
FMA (% colonização radicular)	2014	68,35	64,40	0,138
	2015	65,52	61,73	0,111
	2016	66,73	64,16	0,001
Esporo (viáveis.50 g ⁻¹ solo)	2014	43,40	58,10	0,001
	2015	81,40	76,20	0,341
	2016	88,70	109,70	0,001

FMA = fungos micorrízicos arbusculares; Esporo = esporo viáveis de FMA.

Médias de 10 repetições comparadas pelo teste t de Student. Diferenças significativas ($p \leq 0,05$) em negrito.