



MARISÂNGELA VIANA BARBOSA

**FUNGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES EM
INTERAÇÃO COM GÊNERO *Urochloa*: SIMBIOSE E
INFLUÊNCIA NA ESTABILIDADE DE AGREGADOS DO
SOLO**

LAVRAS – MG

2018

MARISÂNGELA VIANA BARBOSA

**FUNGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES EM INTERAÇÃO COM GÊNERO
Urochloa: SIMBIOSE E INFLUÊNCIA NA ESTABILIDADE DE AGREGADOS DO
SOLO**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo, área de concentração em Biologia, Microbiologia e Processos Biológicos do Solo, para obtenção do título de Doutora.

Prof. Dr. Marco Aurélio Carbone Carneiro
Orientador

LAVRAS – MG

2018

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca
Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

Barbosa, Marisângela Viana.

Fungos micorrízicos arbusculares em interação com gênero
Urochloa: simbiose e influência na estabilidade de agregados do
solo / Marisângela Viana Barbosa. - 2018.

104 p. : il.

Orientador(a): Marco Aurélio Carbone Carneiro.

.
Tese (doutorado) - Universidade Federal de Lavras, 2018.
Bibliografia.

1. FMAs. Multiplicação. Inoculação. 2. Glomalina. Micélio
extrarradicular. 3. Estrutura. Agregação. Glomeromycota.. I.
Carneiro, Marco Aurélio Carbone. . II. Título.

MARISÂNGELA VIANA BARBOSA

**FUNGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES EM INTERAÇÃO COM GÊNERO
Urochloa: SIMBIOSE E INFLUÊNCIA NA ESTABILIDADE DE AGREGADOS DO
SOLO**

**ARBUSCULAR MICORRHYTIC FUNGES IN INTERACTION WITH GENDER
Urochloa: SIMBIOSIS AND INFLUENCE ON THE STABILITY OF SOIL
AGGREGATES**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo, área de concentração em Biologia, Microbiologia e Processos Biológicos do Solo, para obtenção do título de Doutora.

APROVADA em 05 de fevereiro de 2018.

Prof. Dr. Edicarlos Damacena de Souza	UFMT
Prof. Dr. Jessé Valentim dos Santos	UFLA
Prof. Dr. Nilton Curi	UFLA
Prof. Dr. Orivaldo José Saggin Júnior	EMBRAPA

Prof. Dr. Marco Aurélio Carbone Carneiro
Orientador

**LAVRAS – MG
2018**

*Aos meus pais mestres da vida, pela confiança,
ensinamento e palavras certas no momento oportuno.*

DEDICO

*Á Deus por todas as bênçãos recebidas durante a minha
formação.*

OFEREÇO

AGRADECIMENTOS

Nessas palavras simples e sinceras, expresso minha alegria e gratidão:

À Deus, por iluminar e guiar os meus passos, pela família admirável e compreensiva em que nasci. Por conhecer tantas pessoas maravilhosas durante a minha trajetória de estudo, pelas inúmeras bênçãos recebidas e oportunidades, que tanto contribuíram para meu crescimento pessoal e profissional. Pela vida, que trouxe tantos desafios a serem vencidos, e a partir deles cresci e aprendi a superá-los.

Aos meus pais, Marinalva Viana Barbosa e Matias Lira Barbosa, pelo apoio, dedicação, incentivo e amor incondicional; aos meus irmãos, Marcio, Marileide, Marcone e Miriam, pelas palavras de incentivo, carinho e exemplo de caráter e honestidade; aos meus sobrinhos que rejuvenesce a minha alma, renovando as minhas energias com toda a sua alegria; aos meus avós (*in memoriam*), por me ensinarem que o melhor de cada um está na sua essência.

À Universidade Federal de Lavras, ao Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo do Departamento de Ciência do Solo (DCS), pela oportunidade concedida para realização do doutorado. E a todos os funcionários que compõem o DCS.

À professora Dra. Fátima Maria de Souza Moreira, Coordenadora da Pós-Graduação do DCS. Aos técnicos do Laboratório Sr. Manoel, Sra. Durce e Sra. Marlene pelo apoio constante, e à secretária Sra. Dirce pela dedicação e competência.

As agências de fomento pela confiança na ciência e financiamento das pesquisas. A CAPES pelo financiamento da bolsa de doutorado/Sanduíche, ao CNPq e FAPEMIG pelos demais financiamentos, que possibilitaram o desenvolvimento do estudo para elaboração dessa Tese.

Ao meu orientador e mestre Dr. Marco Aurélio Carbone Carnerio, pela oportunidade e confiança de desenvolver esse trabalho de pesquisa, pelos ensinamentos repassados, prontidão em atender e auxiliar, pela paciência e principalmente por ser um exemplo de profissional e ser humano, que valoriza as particularidades de cada um, e que será sempre uma referência.

A todos os professores que contribuíram para minha formação durante a minha trajetória acadêmica. Aos mestres que auxiliaram para a base da minha formação (fundamental, médio e graduação), em especial a professora Dra. Júlia Kuklinsky Sobral pelas palavras “sábias” no momento certo. E principalmente aos professores do Departamento de Ciência do Solo, pelos ensinamentos, qualidade de ensino e aprendizado, exemplos de profissionais e seres humanos que estarão sempre em minha memória.

Aos queridos amigos do Laboratório de Microbiologia do Solo, por proporcionar um ambiente agradável de muita harmonia tornando o trabalho mais satisfatório, Aline, Anita, Amanda, Daniela, Douglas, Laíze, Linnajara, Luciane, Flávia, Jaqueline, Jessé, Maraisa, Mateus, Karl, Raquel, Soraya e Tainara, e todos que contribuíram de alguma maneira com companheirismo, ensinamentos, incentivos e momentos de descontração.

O meu agradecimento especial a Daniela Pedroso por toda a ajuda durante o doutorado, confiança, ensino e aprendizado. Ao meu amigo irmão Karl pela ajuda e momentos de discussão científica.

Aos colegas do DCS, pelos momentos de descontração, ensinamentos e troca de experiências de vida no meio acadêmico. E a todos os amigos que auxiliaram de alguma maneira, com um conselho e palavras de incentivo nos momentos de dificuldades.

À Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – Embrapa Agrobiologia e ao Dr. Orivaldo José Saggin Júnior, pela oportunidade de desenvolver parte das atividades de pesquisa em Cuba, por meio do doutorado sanduíche.

Ao Instituto Nacional de Ciências Agrícola – INCA, pela disponibilidade para desenvolver parte da atividade do doutorado. Ao Pesquisador Dr. Ramón Espinosa Rivera, pelo apoio, ensinamentos e aprendizado.

O meu agradecimento especial ao Eng. Agrônomo Andy Bernal Fundora pela amizade, apoio, discussão científica e ajuda nas atividades desenvolvidas no Laboratório de Física do Solo do Instituto Nacional de Ciências Agrícola – INCA Cuba.

Enfim, agradeço a todos que contribuíram direta ou indiretamente para a conclusão de uma fase tão importante na minha vida pessoal e profissional.

MEU MUITO OBRIGADA!!!!

“A humanidade é tão vasta quanto às oportunidades de cada um.”

Autor desconhecido

RESUMO

Os fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) desempenham funções importantes para as plantas e solo, como agregação e estruturação física. Contudo, o efeito da inoculação dos FMAs na agregação do solo ainda não está bem esclarecido. Neste contexto, o objetivo dessa pesquisa foi avaliar a inoculação de diferentes espécies de FMAs em plantas de *Urochloa* sobre a multiplicação desses FMAs e sua influência na formação e estabilidade dos agregados no solo. A pesquisa foi conduzida em três experimentos, sendo dois em casa de vegetação no Departamento de Ciência do Solo (DCS)/Universidade Federal de Lavras (UFLA), utilizando cinco FMAs (*Acaulospora colombiana*, *Acaulospora longula*, *Acaulospora morrowiae*, *Paraglomus occultum* e *Gigaspora margarita*) associados com *Urochloa brizantha* (A. Rich.) Stapf. E em campo na Estação Experimental de Pastos e Forragens/Instituto Nacional de Ciências Agrícolas (INCA), Cuba, inoculando três FMAs (*Funneliformis mosseae*, *Glomus cubense* e *Rhizophagus intraradices*) em *Urochloa* híbrida (cv. CIAT BR 02/1752 "Cayman") num Gleyssole Nodular Ferroginoso. No primeiro estudo em casa de vegetação foi avaliada a multiplicação e a colonização micorrízicas ao longo do tempo. No segundo estudo e em campo foi avaliada a influência da inoculação na estabilidade de agregados do solo (via seco e imerso em água), índice de estabilidade de agregados do solo, quantificação do micélio extrarradicular e produção de proteína do solo relacionada a glomalina nas amostras do solo e dentro das classes dos agregados (este último apenas em casa de vegetação). As análises foram realizadas nos laboratórios do DCS/UFLA e INCA, para os experimentos de casa de vegetação e campo, respectivamente. No primeiro estudo foi observado maior colonização micorrízica em menos tempo de cultivo para a espécie *A. colombiana*, que atingiu a estabilização aos 76 dias e apresentou maior número de esporos aos 120 dias. Por outro lado, *P. occultum* e *G. margarita* não atingiram a máxima colonização micorrízica e densidade de esporos aos 120 dias, indicando ser necessário um período maior para multiplicação desses FMAs associados a *U. brizantha*. Para glomalina houve maior incremento para inoculação com *A. colombiana*, *A. longula* e *P. occultum* aos 120 dias de cultivo. No segundo estudo, a inoculação com *A. colombiana* apresentou maior comprimento do micélio extrarradicular e \emptyset dos agregados imerso em água, quando comparada ao tratamento sem inoculação. Os maiores teores de glomalina foi observado para inoculação com *A. colombiana* e *A. morrowiae* nas classes de agregados com $\emptyset > 2,0\text{mm}$ e $\emptyset < 0,105\text{mm}$, quando comparadas ao tratamento sem inoculação. No estudo de campo foi verificado maior estabilidade dos agregados secos aos 140 e 876 dias de cultivo, quando comparado aos agregados imerso em água, havendo influência da inoculação apenas aos 876 dias. Indicando menor estabilidade dos agregados imersos em água e a influência da "energia cinética" sobre a estrutura do solo. A estabilidade dos agregados foi favorecida pela capacidade cimentante (cumulativa) da glomalina e pelo comprimento dos micélios extrarradiculares (aos 876 dias), devido ao maior enredamento das partículas do solo. As raízes de *U. brizantha* e *U.* híbrido associadas a inoculação exerceram efeito importante no índice de estabilidade dos agregados do solo, em casa de vegetação aos 180 dias e em campo aos 876 dias (com destaque para *G. cubense*). A qual, também apresentou maior potencial competitivo com os FMAs nativos ao longo do tempo. Esses resultados mostraram a importância do conhecimento das interações dos FMAs associados ao hospedeiro, de forma a otimizar a simbiose e seus benefícios, ou mesmo de manejar os FMAs nativos para formação e estabilidade da estrutura física do solo.

Palavras-chave: FMAs. Multiplicação. Inoculação. Glomalina. Micélio extrarradicular. Estrutura. Agregação. Glomeromycota.

ABSTRACT

Arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) play important roles for plants and soil, such as aggregation and physical structuring. However, the effect of AMF inoculation on soil aggregation has not yet been fully elucidated. In this context, the objective of this research was to evaluate the inoculation of different AMF species in *Urochloa* plants on the multiplication of these AMF and their influence on the formation and stability of the aggregates in the soil. The research was conducted in three experiments, two in greenhouse at the Department of Soil Science (DCS)/Federal University of Lavras (UFLA), using five AMF (*Acaulospora colombiana*, *Acaulospora longula*, *Acaulospora morrowiae*, *Paraglomus occultum* and *Gigaspora margarita*) associated with *Urochloa brizantha* (A. Rich.) Stapf. And in the field at the Experimental Station of Pastures and Forages/National Institute of Agricultural Sciences (INCA), Cuba, inoculating three FMAs (*Funneliformis mosseae*, *Glomus cubense* and *Rhizophagus intraradices*) in hybrid *Urochloa* (CIAT BR 02/1752 "Cayman") in a Ferruginous Nodular Gleysol. In the first greenhouse study mycorrhizal multiplication and colonization was evaluated over time. In the second study and in the field, the influence of inoculation on the stability of soil aggregates (dry and immersed in water), soil aggregates stability index, quantification of extraradicular mycelium and glomalin-related soil protein production in the samples of the soil and within the classes of the aggregates (the latter only in greenhouse). The analyzes were carried out in the DCS/UFLA and INCA laboratories, for greenhouse and field experiments, respectively. In the first study, it was observed a higher mycorrhizal colonization in less time of cultivation for the *A. colombiana* species, which reached the stabilization at 76 days and showed a larger number of spores at 120 days. On the other hand, *P. occultum* and *G. margarita* did not reach the maximum mycorrhizal colonization and density of spores at 120 days, indicating that a longer period for multiplication of these AMFs associated with *U. brizantha* was necessary. For glomalin there was a larger increase for inoculation with *A. colombiana*, *A. longula* and *P. occultum* at 120 days of cultivation. In the second study, the inoculation with *A. colombiana* presented a larger extraradicular mycelium length and \emptyset of the aggregates immersed in water, when compared to the treatment without inoculation. The highest levels of glomalin were observed for inoculation with *A. colombiana* and *A. morrowiae* in the classes of aggregates with $\emptyset > 2.0\text{mm}$ and $\emptyset < 0.105\text{mm}$, when compared to the treatment without inoculation. In the field study, it was verified a higher stability of the dry aggregates at 140 and 876 days of cultivation, when compared to the immersed ones in water, having influence of the inoculation only at 876 days. Indicating lower stability of water immersed aggregates and the influence of "kinetic energy" on the soil structure. The stability of the aggregates was favored by the cumulative (cumulative) capacity of the glomalin and the length of the extraradicular mycelia (at 876 days), due to the greater entanglement of the soil particles. The roots of *U. brizantha* and *B. hybrids* associated to inoculation had an important effect on the stability index of soil aggregates, in a greenhouse at 180 days and in the field at 876 days (with emphasis on *G. cubense*). Which also had a greater competitive potential with the native FMAs over time. These results showed the importance of knowing the interactions of host AMFs in order to optimize the symbiosis and its benefits, or even to manage native AMFs for formation and stability of the soil physical structure.

Keywords: AMF. Multiplication. Plant growth. Glomalin. Extraradicular mycelium. Estructure. Aggregation.

LISTA DE FIGURAS

ARTIGO 1

- Figura 1 - Curva padrão obtida por meio de diferentes concentrações (μL) de Albumina Bovina Sérica (BSA) como proteína padrão. Sendo utilizado a equação da curva padrão, para quantificar a produção de proteína do solo relacionada à glomalina, facilmente extraível - PSRG..... 43
- Figura 2 - Número de esporos (NE) das diferentes espécies de FMAs associadas com *U. brizantha* em função do tempo de cultivo (15, 30, 60, 90 e 120 dias de cultivo). (*) Apresenta diferença significativa a 5% de probabilidade..... 44
- Figura 3 - Colonização micorrízica (COL) das diferentes espécies de FMAs, associadas com *U. brizantha* em função do tempo de cultivo (15, 30, 60, 90 e 120 dias de cultivo). (*) Apresenta diferença significativa a 5% de probabilidade..... 46
- Figura 4 - Produção de proteína do solo relacionada à glomalina facilmente extraível (PSRG), produzida pelas diferentes espécies de FMAs, associadas com *U. brizantha*, avaliadas ao longo do tempo de cultivo (15, 30, 60, 90 e 120 dias). (*) Apresenta diferença significativa a 5% de probabilidade..... 50

ARTIGO 2

- Figura 1 - Curva padrão obtida por meio de diferentes concentrações (μL) de Albumina Bovina Sérica (BSA) como proteína padrão. Sendo utilizada a equação da curva padrão, para quantificar a produção de proteína do solo relacionada à glomalina, facilmente extraível - PSRG..... 64
- Figura 2 - Comprimento do micélio extrarradicular - CM, (2A) e produção de proteína do solo relacionada à glomalina facilmente extraível - PSRG, (2B) de diferentes FMAs associados com plantas de *U. brizantha*..... 69
- Figura 3 - Produção de proteína do solo relacionada à glomalina (PSRG) facilmente extraível, avaliadas nas classes de agregados: macroagregados ($\text{Ø} > 2,0\text{mm}$), mesoagregados ($2,0 > \text{Ø} \geq 0,25\text{mm}$) e microagregados ($\text{Ø} < 0,105\text{mm}$). Sob influência das diferentes espécies de FMAs associadas às plantas de *U. brizantha*..... 71
- Figura 4 - Diâmetro médio geométrico via seco - DMGs, diâmetro médio geométrico via úmido - DMGu – figura 4A e o IEA – índice de estabilidade de agregados figura 4B. Avaliação da inoculação das espécies de FMAs associadas com *U. Brizantha*..... 72
- Figura 5 - Resposta biológica da inoculação dos FMAs, sobre as variáveis analisadas nesse estudo. Sendo: *A. colombiana* (Ac); *A. longula* (Al); *A. morrowiae* (Am); *P. occultum* (Po); *G. margarita* (Gm) e tratamento sem inoculação (C)..... 73

ARTIGO 3

- Figura 1 - Localização da área do estudo situada na Estação Experimental de Pastos e Forragens de Cascajal, na Província de Villa Clara região central da República de Cuba. Cujo solo consistia num Gleysolo Nodular Ferroginoso, representado pelo perfil acima..... 86

Figura 2 -	Curva padrão obtida por meio de diferentes concentrações (μL) de Albumina Bovina Sérica (BSA) como proteína padrão. Sendo utilizada a equação da curva padrão, para quantificar a produção de proteína do solo relacionada à glomalina facilmente extraível – PSRG.....	89
Figura 3 -	Efeito da inoculação de diferentes FMAs nos coeficientes de estabilidade estrutural do solo, imerso em água - Keh e via seco - Kes. Analisados em duas épocas de coleta do solo: aos 140 dias e 876 dias após a inoculação.....	91
Figura 4 -	Comprimento dos micélios extrarradiculares, sob efeito da inoculação dos FMAs, sendo: CM – o comprimento do micélio extrarradicular total, determinando aos 876 dias após a inoculação.....	93
Figura 5 -	Densidade de esporos dos FMAs inoculados em plantas de <i>U. híbrido</i> , sendo: NE - número de esporos. Analisados em duas épocas de avaliação: aos 140 e 876 dias após a inoculação.....	96

LISTA DE TABELAS

ARTIGO 1

- Tabela 1 - Espécies de FMAs utilizadas nesse estudo, identificadas por meio do código de depósito na coleção de cultura de FMAs da UFLA..... 41
- Tabela 2 - Altura (ALP), comprimento de raízes (CR); massa das raízes secas (MSR) e massa da parte aérea seca (MSPA) de *U. brizantha* inoculada com diferentes espécies de FMAs e tratamento sem inoculação (S/FMAs) ao longo do tempo de cultivo (15, 30, 60, 90 e 120 dias)..... 48

ARTIGO 2

- Tabela 1 - Avaliação da inoculação para: crescimento raiz - CR; massa seca raiz - MSR; massa seca parte aérea - MSPA; número de esporos - NE e colonização micorrizica das raízes - COL. De *U. Brizantha*, inoculadas com diferentes espécies de FMAs..... 67

ARTIGO 3

- Tabela 1 - Influência da inoculação de diferentes FMAs no índice de estabilidade estrutural do solo - Ie, e na produção de proteína do solo relacionada a glomalina - PSRG (facilmente extraível). Analisadas em duas épocas de coletas: aos 140 e 876 dias após a inoculação..... 92
- Tabela 2 - Incrementos observados para inoculação com FMAs, sendo: PSRG - Produção de proteína do solo relacionada a glomalina facilmente extraível; Ie-Índice de estabilidade estrutural do solo; CAP - Coleta anterior ao plantio (amostragem referência, para avaliar o estado inicial de agregação do solo). Analisados aos 876 dias após a inoculação..... 98

SUMÁRIO

	PRIMEIRA PARTE.....	15
1	INTRODUÇÃO.....	16
2	REFERENCIAL TEÓRICO.....	18
2.1	Fungos micorrízicos arbusculares (FMAs).....	18
2.2	Funcionamento da simbiose micorrízica.....	19
2.3	FMAs: micélio extrarradicular e produção de glomalina.....	21
2.4	Micorriza e estrutura do solo.....	22
2.5	Gênero <i>Urochloa</i> e simbiose com FMAs.....	24
	REFERÊNCIAS.....	27
	SEGUNDA PARTE - ARTIGOS.....	35
	ARTIGO 1 - INTERAÇÃO ENTRE FUNGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES COM <i>Urochloa brizantha</i> (A. Rich.) Stapf: SIMBIOSE, MULTIPLICAÇÃO DE ESPOROS E PRODUÇÃO DE PROTEÍNA DO SOLO RELACIONADA A GLOMALINA.....	36
1	INTRODUÇÃO.....	39
2	MATERIAL E MÉTODOS.....	41
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	44
4	CONCLUSÕES.....	52
	REFERÊNCIAS.....	53
	ARTIGO 2 - DIFERENTES FUNGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES ASSOCIADOS COM <i>Urochloa brizantha</i> (A. Rich.) Stapf INFLUENCIAM A ESTABILIDADE DE AGREGADOS DO SOLO?.....	57
1	INTRODUÇÃO.....	60
2	MATERIAL E MÉTODOS.....	62
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	67
4	CONCLUSÕES.....	75
	REFERÊNCIAS.....	76
	ARTIGO 3 - FUNGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES ASSOCIADOS COM <i>Urochloa</i> híbrido (cv. CIAT BR 02/1752 “Cayman”) INFLUENCIAM A ESTABILIDADE DE AGREGADOS DE UM GLEYSSOLO NODULAR FERRUGINOSO EM CUBA.....	81
1	INTRODUÇÃO.....	84
2	MATERIAL E MÉTODOS.....	86
2.1	Localização, clima e solo da área experimental.....	86
2.2	Condução do experimento.....	87
2.3	Análises realizadas.....	87
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	91
4	CONCLUSÕES.....	99
	REFERÊNCIAS.....	100

PRIMEIRA PARTE

1 INTRODUÇÃO

A micorriza arbuscular é considerada a simbiose mutualista mais antiga e evoluída do reino Plantae, formada entre os fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) e as raízes da grande maioria das plantas vasculares. Os FMAs pertencem ao Filo Glomeromycota e são biotróficos obrigatórios, que necessitam de uma raiz metabolicamente ativa para completar seu ciclo de vida. Essa condição de biotrofismo obrigatório limita a multiplicação desse grupo de fungo em meio de cultivo artificial, fato que eleva os custos de sua multiplicação e dificulta a “adoção” e desenvolvimento de inoculantes micorrízicos em larga escala.

Os FMAs estão amplamente distribuídos na maioria dos ecossistemas temperados, tropicais e subtropicais, e desempenham funções importantes no crescimento vegetal e no equilíbrio das áreas nativas e cultivadas. O benefício da associação dos FMAs com as plantas ocorre principalmente por aspectos nutricionais e/ou influenciando na formação e estabilidade de agregados no solo. A contribuição desses fungos nas plantas e no solo ocorre por meio do crescimento das hifas extrarradiculares, as quais atuam como uma extensão do sistema radicular das plantas exploram um maior volume de solo e microporos e ampliam imensamente a superfície de absorção de nutrientes e água da solução do solo. Além disso, as hifas extrarradiculares atuam como um modificador do ambiente físico na rizosfera, exudando cimentantes e exercendo força de união às partículas, auxiliando na agregação do solo. Os FMAs podem também aumentar a disponibilidade de nutrientes por solubilização e atuam como dreno de CO₂ da atmosfera estocando-o no solo por meio da produção de glomalina e outros compostos estáveis.

A glomalina é glicoproteína complexa, contendo 1-9% de ferro ligado, hidrofóbica, termoestável e recalcitrante (meia vida de 7-42 anos) produzida abundantemente nas hifas e esporos dos FMAs. A glomalina é um importante estoque de C orgânico no solo proveniente da simbiose entre os FMAs e as plantas. A função primária da glomalina está relacionada a termoproteção das hifas no solo, no entanto, também exerce função importante na agregação do solo, por meio de suas propriedades cimentantes “pegajosidade”, que atua na cimentação das partículas primárias, favorecendo a formação dos agregados e melhorando a estabilidade estrutural do solo. Por outro lado, o crescimento extensivo das hifas extrarradiculares exercem função direta na agregação, por meio da orientação, pressão e enredamento das partículas minerais e orgânicas, auxiliando na agregação do solo.

O estabelecimento da simbiose micorrízica, a produção de glomalina e das hifas extrarradiculares podem variar de acordo com as características intrínsecas das espécies de

FMA, de suas interações com a espécie hospedeira e das diferentes formas de uso e manejo do solo. O manejo e a planta também exercem grande influência sobre a diversidade de espécies das FMA, sua multiplicação de propágulos e sobre os seus efeitos no equilíbrio e funcionalidade do solo.

Contudo, torna-se necessário o conhecimento das relações simbióticas entre as diferentes espécies de FMA e as plantas hospedeiras. De forma que a compreensão da dinâmica desse grupo, associado aos vegetais, torne possível estabelecer a melhor forma de manejo funcional nos agroecossistemas, ou na manutenção e multiplicação das FMA em bancos de germoplasma. A complexidade e incerteza do processo simbiótico e as interações entre as espécies de FMA e plantas têm gerado dúvidas, quanto ao desenvolvimento de “modelos” de exploração dos agroecossistemas. Desta forma, o conhecimento das diferentes relações FMA-plantas podem ajudar a, reduzir o impacto dos manejos sobre a estrutura das FMA no solo e manter a sua biodiversidade nativa e seus propágulos infectivos, assegurando as suas funções nos agroecossistemas. Também facilitará a multiplicação e manutenção desses fungos em bancos de germoplasmas.

A multiplicação das FMA comumente é realizada utilizando espécies do gênero *Urochloa* em vasos de cultivo armadilha, mantendo-os em coleção de cultura/banco de germoplasma. O gênero *Urochloa* pertence à família Poaceae anteriormente era conhecido taxonomicamente como *Brachiaria*, possuem cerca de 80 espécies anuais e perenes e são largamente adaptadas nos trópicos. Além disso, são espécies que apresentam crescimento rápido e sistema radicular abundante, essas características favorecem a ampla utilização de plantas do gênero *Urochloa* na multiplicação das FMA.

Ainda é incipiente o volume de informação referente a simbiose entre as diferentes espécies de FMA associadas a mesma espécie hospedeira, e seus efeitos sobre a “qualidade e funcionamento do solo”. Neste aspecto, o objetivo dessa pesquisa foi avaliar a inoculação de diferentes espécies de FMA em plantas de *Urochloa* sobre a multiplicação desses FMA e sua influência na formação e estabilidade dos agregados no solo.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Fungos micorrízicos arbusculares (FMAs)

O relato mais antigo das primeiras observações dos FMAs é datado de 1842, pelo botânico suíço Carl Wilhelm Von Nägeli (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006; VARMA, 2008). Contudo, o termo “micorriza”, formado pelos radicais oriundos das palavras gregas *μύκητες* (*Mýkites*): fungos e *ρίζα* (*ríza*): raiz foi descrito pela primeira vez pelo biólogo alemão Albert Bernhard Frank em 1885 (VARMA, 2008). A presença dos FMAs nas raízes é bem antiga, documentada em raízes fossilizadas e registros fósseis de estruturas parecidas com os atuais FMAs, encontrados juntos com briófitas já no período Ordoviciano há cerca de 450 milhões de anos sugerindo que essa simbiose pode ter ajudado as plantas aquáticas a evoluírem para o ambiente terrestre (REDECKER et al., 2000; SCHWENDEMANN et al., 2009; HARPER et al., 2015).

Assim, os FMAs formam a simbiose conhecida mais antiga e evoluída do Reino Plantae (BERBARA et al., 2006; SCHWENDEMANN et al., 2009; HARPER et al., 2015). Esses fungos são atualmente classificados como pertencentes ao Filo Glomeromycota, Classe Glomeromycetes, possuindo 4 ordens (Archaeosporales, Diversisporales, Glomerales e Paraglomerales) as quais congregam um total de 13 famílias, 19 gêneros (REDECKER et al., 2013) e cerca de 250 espécies (compilado de <http://invam.wvu.edu/>). A atual classificação dos FMAs foi proposta por Schüßler et al. (2001), e está baseada em estudos de análise filogenética da sequência SSU rDNA, a qual possibilita o agrupamento desses microrganismos num grupo monofiléticos, indicando que compartilham de um mesmo ancestral dos Ascomicetos e Basidiomicetos (BERBARA et al., 2006).

Os FMAs consistem em um grupo de fungo de solo biotróficos obrigatórios (PARNISKE, 2008; SIQUEIRA et al., 2010) necessitando de uma raiz metabolicamente ativa para completar seu ciclo de vida (ALLEN, 1991; MOREIRA; SIQUEIRA, 2006; PARNISKE, 2008). Seus propágulos infectivos consistem de fragmentos de hifas, raízes colonizadas e de esporos, sendo que esses últimos consistem na estrutura de resistência dos FMAs que permanecem no solo por longos períodos (ALLEN, 1991; PARNISKE, 2008; KLIRONOMOS, HART, 2002; SMITH, READ, 2008).

Os FMAs desempenham funções importantes para o equilíbrio e funcionamento dos diferentes ecossistemas e agroecossistemas, e seus benefícios na espécie hospedeira vai depender das condições de crescimento das plantas e da dependência micorrízica que elas

apresentam (SIQUEIRA, FRANCO, 1988; CARNEIRO et al., 1996; SIQUEIRA; SAGGIN-JÚNIOR, 2001). Os FMAs beneficiam o crescimento e desenvolvimento vegetal por vários processos importantes, como: ciclagem de nutriente, aumento da absorção de água e nutriente, resistência a patógenos, tolerância a estresses biótico e abiótico e atuação na dinâmica do carbono orgânico e na estrutura física do solo (BERBARA et al., 2006; PARNISKE, 2008; SIQUEIRA et al., 2010; FOLLI-PEREIRA et al., 2012; MARTÍN; RIVERA, 2015; LEHMANN et al., 2017).

2.2 Funcionamento da simbiose micorrízica

O estabelecimento e funcionamento da simbiose entre as plantas e os FMAs são mediados por interações morfológicas, genéticas e funcionais, controlado por genes distintos que desempenham funções diferentes durante a interação planta/fungo (LAMBAIS; RAMOS, 2010; SANDERS; CROLL, 2010). Esse processo inicia-se antes mesmo do contato físico de ambos os simbioses, com a exsudação de sinais moleculares pelas raízes das plantas, que estimulam o crescimento das hifas fúngicas no solo (PARNISKE, 2008; SMITH; READ, 2008; SANDERS; CROLL, 2010; LAMBAIS; RAMOS, 2010).

No primeiro momento, ocorre à emissão de sinais moleculares pelas raízes das plantas “os fatores de ramificação” sob forma de hexose, seguido pelo reconhecimento do fungo no solo “Cross-talking” (NADAL; PASZKOWSKI, 2015), que também emite sinais para ativação dos genes responsáveis pela simbiose na planta (BAGO et al., 2002; SANDERS; CROLL, 2010; BONFANTE; REQUENA, 2011). Em seguida da germinação dos esporos, as hifas crescem no solo de forma aleatória até encontrar a raiz (metabolicamente ativa) da planta, dando início o processo simbiótico (PARNISKE, 2008; SMITH; READ, 2008; SANDERS; CROLL, 2010). Ao entrar em contato com as raízes, as hifas infectivas se diferenciam e formam o apressório na superfície da raiz, e em seguida, penetram no tecido do córtex da raiz através da epideme, completando a fase pré-simbiose e dando início à fase simbiótica (SIQUEIRA; FRANCO, 1988; PARNISKE, 2008; LAMBAIS; RAMOS, 2010).

O crescimento das hifas no tecido do córtex radicular ocorre através de “canais” formando as estruturas fúngicas de forma inter e intracelular (SANDERS e CROLL, 2010; LAMBAIS; RAMOS, 2010). A expressão gênica que regula essas características depende da compatibilidade entre planta-fungo e dos fatores ambientais (COSTA; LOVATO, 2011). No entanto, estudos mostram que a maioria dos genes envolvidos no estabelecimento e

funcionamento da simbiose é de origem vegetal (PARNISKE, 2008 SANDERS; CROLL, 2010).

Após o processo de infecção das raízes pelas hifas dos FMAs, ocorre a formação da estrutura típica desta simbiose micorrízica, “os arbúsculos”, que são de extrema importância no processo de troca bidirecional de metabólitos e nutrientes (ALLEN, 1991; PARNISKE, 2008; VARMA 2008; LAMBAIS; RAMOS, 2010). Simultaneamente à formação das estruturas dos FMAs no cortex das raízes ocorre o crescimento das hifas/micélios externos denominados de “hifas extrarradiculares” formando a grande rede micelial no solo, que explora microambientes não acessíveis para as raízes das plantas (MOREIRA; SIQUEIRA et al., 2006; PARNISKE, 2008; SIQUEIRA et al., 2010). As hifas absorvem nutrientes da solução do solo que são transportados internamente para as raízes das plantas, onde, principalmente nos arbúsculos, ocorre a troca de metabólitos/nutrientes entre os simbioses “efetivando a simbiose” (SIQUEIRA; FRANCO, 1988; SANDERS; CROLL, 2010; LAMBAIS; RAMOS, 2010).

A eficiência e efetividade da simbiose micorrízica depende de vários fatores bióticos e abióticos de solo (SIQUEIRA et al., 2010; CAÑIZARES et al., 2016) e inerentes ao próprio hospedeiro, como: a compatibilidade dos FMAs com as espécies vegetais (reconhecimento e adaptação mútua), a qualidade e quantidade de exsudatos (como os flavanóides) liberados pelas raízes (SILVEIRA; CARDOSO, 2004; PARNISKE, 2008), o estado nutricional, a idade da planta e o meio de cultivo (manejo do solo, tipo de solo, grau de fertilidade, particularmente de P disponível e competitividade dos FMAs nativos) (ALLEN, 1991; PARNISKE, 2008; SIQUEIRA et al., 2010). Além disso, o funcionamento micorrízico depende do fornecimento de Carbono (C) às raízes, que é direcionado a manutenção, funcionamento e crescimento dos micélios, sendo que cerca de 10 a 15% de carbono fixado pela planta é direcionado aos FMAs (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006; SIQUEIRA et al., 2010). Dessa forma, esse grupo de fungo é considerado um importante dreno de carbono CO₂ atmosférico (PURIN; RILLIG, 2007; PENG et al., 2013).

A interação FMAs/planta tem sido amplamente relatada em vários estudos mostrando que as diferenças na eficiência da simbiose dependem do fungo e da planta, com influência do ambiente (KLIRONOMOS et al., 2005; PARNISKE, 2008). Diferentes espécies de FMAs não apresentam a mesma eficiência/resposta para auxiliar no crescimento de uma mesma planta (HEIJDEN et al., 1998; KLIRONOMOS; HART, 2002). Os FMAs podem diferir na atividade fisiológica, conferindo às mais ativas uma maior adaptação às modificações ambientais, que correm de forma natural ou sob interferência antrópica (OEHL et al., 2006:

FERREIRA et al., 2012). Além disso, a simbiose está associada aos fatores intrínsecos das espécies vegetais como a “dependência micorrízica” (CARNEIRO et al., 1996; SIQUEIRA; SAGGIN-JÚNIOR 2001), que consiste no grau de quanto a planta precisa da simbiose para crescer e se reproduzir independente do ambiente (SIQUEIRA; SAGGIN-JÚNIOR 2001). A dependência micorrízica varia entre as espécies vegetais e pode ser quantificada sob diferentes disponibilidades de fósforo, como verificado em estudo realizado com 31 espécies arbóreas (SIQUEIRA; SAGGIN-JÚNIOR 2001; CARNEIRO et al., 1996). A dependência das plantas aos FMAs pode ser facultativa em diferentes graus, obrigatória ou não-micorrízica (SMITH; READ, 1997).

Vários estudos mostram o efeito direto e indireto da inoculação para o crescimento das plantas, aumentando a absorção de nutrientes da solução do solo (MONTAÑEZ, 2005), que pode podem chegar, até 80% de P, 60 % de Cu, 25% de N, 25 % de Zn e 10 % de K (MARSCHNER; DELL, 1994), elevando a disponibilidade dos nutrientes para as plantas (COSTA et al., 2012), o acúmulo de P, N e o rendimento da biomassa parte aérea e raíz (CARNEIRO et al., 1999) e consequentemente aumentando o rendimento das plantas (GONZÁLEZ et al., 2008).

2.3 FMAs: micélio extrarradicular e produção de glomalina

Após o estabelecimento da simbiose, as hifas e micélios crescem para fora das raízes formando a “rede” micelial denominada de “micélios extrarradiculares” (ALLEN, 1991; PARNISKE, 2008). O comprimento do micélio extrarradicular pode alcançar 60,8 m g⁻¹ de solo, dependendo do uso, manejo e tipo de solo (RUBIN; STÜRMER, 2015). As hifas extrarradiculares ocupam os microporos de agregados podendo atingir até 50 m de hifas por agregado estável (TISDALL, 1994). Esse volume micelial aumenta a área de contato com o solo de 5 a 200 vezes por apresentarem hifas longas e finas (2-27 µm) o que resulta em maior superfície específica por volume do que as raízes (SIEVERERDING, 2001). Isto amplia na absorção de nutrientes e são responsáveis pela base do funcionamento da simbiose micorrízica de exploração de microssítios (inexplorados pelas raízes) e aumento do influxo de nutrientes (P) e de água para as plantas.

Assim, a principal função das hifas extrarradiculares está associada com absorção e transporte de água e nutrientes (P) da solução do solo (PARNISKE, 2008; SMITH; READ, 2008). No sentido oposto, ocorre o fluxo de fotoassimilados de 10-20% do C fixado pela planta, que é direcionado ao crescimento micelial e a atividade metabólica dos FMAs

garantindo o funcionamento da simbiose (JAKOBSEN; ROSENDAHL, 1990; MOREIRA; SIQUEIRA, 2006). Portanto, além da função de absorção, as hifas também atuam no armazenamento de C no solo e no alinhamento, pressão e enredamento das partículas minerais e orgânicas do solo, favorecendo diretamente a formação e estabilidade dos agregados (TISDALL, 1994; RILLIG; MUMMEY, 2006). A cimentação das partículas do solo ocorre devido a liberação pelas hifas de polissacarídeos, mucilagem e principalmente da glomalina (RILLIG; MUMMEY, 2006).

A glomalina é uma glicoproteína recalcitrante, estável e abundante no solo (RILLIG et al., 2003), cuja produção ocorre na superfície das hifas dos FMAs em sua menor proporção, sendo a maior parte (> 80%) resultante da decomposição de hifas e esporos (DRIVER; HOLBEN; RILLIG, 2005). Essa glicoproteína é composta por cerca de 60% de carboidratos, rica em carbono orgânico, tem natureza hidrofóbica, resistência ao calor e insolubilidade em água (PENG et al., 2013; CAVALCANTI et al., 2009). É composta por cerca de 0,04-8,8% de Fe (RILLIG et al., 2001), de 3 a 5% de N e um elevado teor de C orgânico de até 27% (LOVELOCK et al., 2004), estando correlacionada positivamente com a estabilidade de agregado e estrutura do solo (WRIGHT et al., 1996; WRIGHT; UPADHYAYA, 1998; PENG et al., 2013).

A glomalina exerce função de proteção e termotolerância contra a dessecação das hifas fúngicas dos FMAs no solo (PARNISKE, 2008). Atua como dreno de carbono atmosférico CO₂ estocando-o no solo e como cimentante de partículas, exercendo ação importante na agregação (PURIN; RILLIG, 2007; PENG et al., 2013). Por apresentar propriedade de “pegajosidade”, a glomalina atua na cimentação das partículas minerais e orgânicas aumentando a estabilidade dos agregados e a conservação do solo (PURIN; RILLIG, 2007; PENG et al., 2013). No entanto, a produção de hifas e o teor de glomalina são regulados por características intrínsecas às diferentes espécies de FMAs associadas às plantas, e dos efeitos do ambiente sobre os simbiossiontes (WRIGHT; NICHOLS 2002; HART; READER 2002; SOUSA et al., 2012; PIOTROWSKI et al., 2004; KLIRONOMOS et al., 2005). Estudo tem mostrado que os FMAs são importantes canais de drenagem de C da atmosfera para o solo através da planta, que pode atingir cerca de 5 Gt anual de C no solo (BAGO et al., 2000).

2.4 Micorriza e estrutura do solo

A estrutura é considerada uma das propriedades mais importantes do solo, por conferir condições ao bom desenvolvimento das raízes, proteção da matéria orgânica, aumento da

atividade microbiana, influenciando no controle de “qualidade” do solo (MARSHALL, 1962; BASTOS et al., 2005; LEHMANN et al., 2017). A estrutura é formada por processos distintos e complementares, que resultam de várias interações dos agentes cimentantes e flocculantes com as partículas (argila–íons–matéria orgânica, silte e areia) do solo (CHAVES; CALEGARI, 2001; BASTOS et al., 2005). O agrupamento e arranjo dessas partículas primárias e do espaço poroso em unidades separadas formam os agregados que compõem a estrutura do solo (MARSHALL, 1962; LEHMANN et al., 2017).

Uma boa estrutura fornece base sólida para o armazenamento e estabilidade do carbono orgânico no solo, apresenta agregados estáveis, com poros formas e tamanhos diferentes, favorecendo a fertilidade, aeração, infiltração, armazenamento e circulação de água. Assim, a boa estrutura “controla” os processos erosivos, promove maior disponibilidade de nutrientes, melhor crescimento das raízes e maior produção das culturas, favorecendo fundamentalmente o equilíbrio e funcionamento do solo (BASTOS et al., 2005; MOREIRA; SIQUEIRA, 2006; LEHMANN et al., 2017). Além disso, a agregação também é importante do ponto de vista ecológico, por exercer proteção aos “microsítios” tornando mais biodiversa a comunidade microbiana do solo (SIX et al., 2004; MOREIRA; SIQUEIRA, 2006; RILLIG et al., 2017).

Desta forma, a comunidade microbiana assegura as suas diversas funções nos processos e ciclos biogeoquímicos que ocorrem no solo (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006; RUBIN; STÜRMER, 2015). Entre os grupos de microrganismos que desempenham funções importantes no processo de agregação do solo, destacam-se os fungos micorrízicos arbusculares (FMAs), considerado o principal grupo de microrganismo que exercem função importante no processo de agregação do solo (PARNISKE, 2008; SIQUEIRA et al., 2010; CARNEIRO et al., 2015; RILLIG et al., 2017).

A ação dos FMAs na agregação do solo torna-se particularmente importante em ambientes frágeis como verificado Koske (1975) em áreas de dunas. Nesse estudo, os autores observaram o efeito positivo dos FMAs na agregação pela formação de uma rede micelial que, juntamente com as raízes das plantas, ligavam as partículas de areia. A produção e quantidade de hifas extrarradiculares são correlacionadas positivamente com a formação dos agregados estáveis em água (TISDALL; OADES, 1979). Além dos FMAs, outros grupos de microrganismo também influenciam na agregação pela produção de polissacarídeos que possuem ação cimentante, contribuindo para formação dos microagregados e posteriormente dos macroagregados. O efeito conjunto dos microrganismos nos diversos processos

biológicos é dependente do uso e manejo adequado do solo, de forma que, a manutenção da estrutura da comunidade microbiana no solo assegura suas funções nos agroecossistemas.

Vários estudos tem relatado a importância do manejo do solo sobre a estrutura da comunidade de FMAs (VILLELA et al., 2014; RILLIG et al., 2010; RUBIN; STÜRMER, 2015). O revolvimento do solo altera as propriedades físicas, químicas e biológicas, reduz a estabilidade dos agregados, favorece a oxidação da matéria orgânica e diminui a atividade dos FMAs no solo (SANTOS et al., 2008; SIQUEIRA et al., 2010). A simbiose micorrízica é afetada pelas diferentes formas de manejos, por reduzir a germinação dos esporos, a quantidade dos inóculo no solo, o potencial infectivo, a colonização micorrízicas das raízes, a formação da rede micelial extrarradicular e conseqüentemente os efeitos benéficos da simbiose para as plantas e para o solo (MERGULHÃO et al, 2010; FERREIRA et al., 2012).

2.5 Gênero *Urochloa* e simbiose com FMAs

O gênero *Urochloa* era conhecido taxonomicamente como *Brachiaria* pertence à tribo Paniceae, subfamília Panicoideae e família Poaceae (RENVOIZE et al., 1996). Baseado em estudos botânicos/florísticos foi sugerido essa nova nomenclatura para o gênero, que antes formalmente inserido no gênero *Brachiaria*, agora oferece a sua inclusão no gênero *Urochloa* (GONZÁLEZ; MORTON, 2005).

O gênero reuniu de 80 a 100 espécies perenes e anuais, que estão amplamente distribuídas nas regiões subtropicais e tropicais, como Ásia, África, Austrália e América (MONTEIRO et al., 1974; RENVOIZE et al., 1996). Essa larga adaptação ocorre em função da alta variabilidade entre as espécies de *Urochloa*, que permiti sua distribuição numa ampla gama de condições edafoclimáticas. Muitas espécies desse gênero são tolerante a solos ácidos, altos níveis de alumínio tóxico, baixa fertilidade, má drenagem, períodos de seca prolongada e persistência/resistência a pragas das pastagens (EMBRAPA, 1984; ALCÂNTARA, 1986; RENVOIZE et al., 1996; OLIVERA et al., 2007).

Várias espécies de *Urochloa* são amplamente cultivadas nos trópicos latino-americanos, conforme sua “adaptabilidade” e importância comercial (sementes, forragens e pastagens) (PIZARRO et al, 2013; PERALTA, 2004). No Brasil a primeira espécie exótica de *Urochloa* foi introduzida oficialmente em 1952 a *U. decumbens*, através do Instituto de Pesquisa Agropecuária do Norte (IPEAN) em Belém do Pará (SERRÃO; SIMÃO NETO, 1971), nas décadas seguintes várias outras cultivares foram trazidas para o País com: *B. ruziziensis*, *B. arrecta* e *B. humidicola*. Mais tarde, em 1984 foi liberada pela EMBRAPA a

U. brizantha cv marandu, que foi amplamente difundida pelo País principalmente pela sua alta produtividade (EMBRAPA; 1984; DIAS-FILHO, 2011).

Devido à importância do gênero *Urochloa* tornou-se necessário a obtenção de novas espécies e cultivares, com melhores características agronômicas de resistência a determinadas condições edafoclimáticas e pragas/doenças (PIZARRO et al., 2013). Assim, em 1988 foi criado o programa de melhoramento da *Urochloa* no CIAT (Centro Internacional de Agricultura Tropical) na Colômbia, que desenvolveu vários híbridos com: Mulato (B. cv híbrido. CIAT 36061), Mulato II (B. cv híbrido. CIAT 36087) e Cayman (cv híbrido. CIAT BR 02/1752) (ARGEL et al., 2007; PIZARRO et al., 2013). Os híbridos desenvolvidos pela CIAT tem sido utilizados em vários Países como Cuba (GONZÁLEZ et al., 2012), Colômbia (ARGEL et al., 2007) e Brasil (SANTOS et al., 2015; PEREIRA et al., 2017).

Espécies de *Urochloa* apresentam sistema radicular abundante e boa capacidade de rebrota (ROCHE et al., 1990; OLIVERA et al., 2006), essas características associadas ao caráter micotrófico da maioria das espécies do gênero favorecem a utilização da *Urochloa* na multiplicação dos FMAs nativos ou inoculados em áreas de pastagens, e em vaso de cultivo armadilha. Vários estudos relatam a simbiose micorrízica em plantas de *Urochloa* (CARNEIRO et al., 1999; DOUDS et al., 2005; PLENCHETTE et al., 2005; LEIGH et al. 2009; CRESPO FLORES et al., 2010; CARNEIRO et al., 2011; GONZÁLEZ et al., 2011; COSTA et al., 2012), mostrando que a interação planta/FMAs aumenta o rendimento das pastagens e melhora o ambiente edáfico, sendo considerado um processo economicamente viável e ambientalmente sustentável.

A ação dos FMAs em interação com espécies de *Urochloa* associada as boas práticas de manejo já é bem documentada (DOUDS et al., 2005; PLENCHETTE et al., 2005). Mostrando o efeito positivo dos FMAs na nutrição das plantas, principalmente nitrogenada e fosfatada (CRESPO FLORES et al., 2010; GONZÁLEZ et al., 2011), rendimento e produtividade das pastagens (LEIGH et al., 2009; CRESPO FLORES et al., 2010), estoque de carbono no solo melhorando a sua estruturação física (BAGO et al., 2000; BERBARA et al., 2006; LEHMANN et al., 2017) e aumento da “eficiência” da adubação (KAVANOVA et al. 2006; GONZÁLEZ et al., 2011). Vale resaltar que a eficiência da inoculação depende de vários fatores de solo, clima, manejo, nutrição, FMAs e dependência micorrízica da espécie hospedeira (SIQUEIRA; SAGGIN-JÚNIOR 2001; CARNEIRO et al., 1996; PARNISKE, 2008; SMITH; READ, 2008; SIQUEIRA et al., 2010).

No entanto, para que ocorram os efeitos benéficos da inoculação nas plantas de *Urochloa* também é necessária uma seleção prévia dos FMAs, que sejam mais eficiente e

competitivo do que os nativos (YAO et al., 2008). Essas características associadas às boas práticas de manejo garantem a eficiência da inoculação.

REFERÊNCIAS

- ALCÂNTARA, P. B. Origem das Brachiarias e suas características morfológicas de interesse forrageiro. In: ENCONTRO PARA DISCUSSÃO SOBRE CAPINS DO GÊNERO BRACHIARIA, L, Nova Odessa, 1986. Anais... Nova Odessa: Instituto de Zootecnia, p.1-18, 1986.
- ALLEN, M. F. **The ecology of mycorrhizae**. New York. Academic Press. 1991.
- ARGEL, P. J. et al. Cultivar Mulato II (brachiaria CIAT 36087): Gramínea de alta qualidade e produção forrageira, resistência às cigarrinhas e adaptada a solos tropicais ácidos. Cali: CIAT, 22p. 2007.
- BAGO, B.; PFEFFER, P.; SHACHAR-HILL, Y. Carbon metabolism and transport in arbuscular mycorrhizas. **Plant Physiol**, v.124, p.949–957, 2000.
- BAGO, B.; ZIPFEL, W.; WILLIAMS, R.M.; JUN, J.; ARREOLA, R.. Translocation and utilization of fungal storage lipid in the arbuscular mycorrhizal symbiosis. **Plant Physiol**, v 128, p.108–24, 2002.
- BASTOS, R. S. et al. Formação e estabilização de agregados do solo influenciados por ciclos de umedecimento e secagem após adição de compostos orgânicos com diferentes características hidrofóbicas. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, n.1, p.29, 2005.
- BERBARA, R. L. L.; SOUZA, F. A. de; FONSECA, H. M. A. C. Fungos Micorrízicos arbusculares: muito além da nutrição. In: Fernandes, M. S. (Ed.). **Nutrição mineral de plantas**, Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, p. 53-88, 2006.
- BONFANTE, P.; REQUENA, N. Dating in the dark: how roots respond to fungal signals to establish arbuscular mycorrhizal symbiosis. **Plant Biology**, v 4, p.451-457, 2011.
- CAÑIZARES, P. J. G.; PEDROSO, J. F. R.; ESPINOSA, R. R.; JIMÉNEZ, A. H.; FLORES, Y. G. C. Efectividad de la inoculación de hongos micorrízicos arbusculares en dos leguminosas forrajeras cultivadas en dos tipos de suelo. **Tropical Grasslands-Forrajeros Tropicales**, v. 4, n.2, p. 82–90, 2016.
- CARNEIRO, M. A. C.; FERREIRA, D. A.; SOUZA, E. C.; HELDER BARBOSA PAULINO, H. B.; SAGGIN-JUNIOR, O. J.; Siqueira, J. O. Arbuscular mycorrhizal fungi in soil aggregates from fields of ‘‘murundus’’ converted to agriculture. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 50, p. 313-321, 2015.
- CARNEIRO, M. A. C.; SIQUEIRA, J. O; CURI, N.; MOREIRA, M. F. S. Efeitos da inoculação de fungos micorrízicos arbusculares e da aplicação de fósforo no estabelecimento de forrageiras em solo degradado. **Pesquisa agropecuária brasileira**, Brasília. v. 34, n.9, p.1669-1677, 1999.
- CARNEIRO, M. A. C; SIQUEIRA, J. O.; DAVIDE, A. C.; GOMES, L. J.; CURI, N.; VALE, F. R. Fungo micorrízico e superfosfato no crescimento de espécies arbóreas tropicais. **Scientia Forestalis**, n. 50, p. 21-36, 1996.

CARNEIRO, R. F. V.; MARTINS, M. A.; ARAÚJO, A. S. F.; NUNES, L. A. P. L. Inoculação micorrízica arbuscular e adubação fosfatada no cultivo de forrageiras consorciadas. **Arch. Zootecnia**, v. 60, n.232, p.1191-1202, 2011.

CAVALCANTE, U. M. T.; GOTO, B. T.; MAIA, L. C. Aspectos da simbiose micorrízica arbuscular. **Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agrônômica**, v. 5, n.6, p.180-208, 2009.

CHAVES, J. C. D.; CALEGARI, A. **Adubação verde e rotação de culturas**. In: Agropecuária. v. 22, p.52-60, 2001.

CORNIS, D. G. Hiding place for a third of the world's stored soil carbon. **Agricultural Research**, v. 50: p.4-16, 2002.

COSTA, M. D.; LOVATO, P. E. Micorrizas arbusculares e a supressão de patógenos. In: Klauber-Filho, O.; Mafra, A.L. e Gationi, L.C., eds. **Tópicos em ciência do solo**. Viçosa, MG, Sociedade Brasileira de Ciência do Solo. v. 6, p.119-139, 2011.

COSTA, N. L.; PAULINO, V. T.; COSTA, R. S. C; PEREIRA, R. G. A.; TOWNSEND, C, R.; MAGALHÃOES, J. A. Efeito de micorrizas arbusculares sobre o crescimento e nutrição mineral de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu. **Ciência Animal**, v. 13, n.4, p. 406-411, 2012.

CRESPO, G.; ARTEAGA, O., VALDÉS, G. Y VEGA, J. Utilización de residuales de las instalaciones pecuarias para la producción de pastos y forrajes tropicales. En VII Congreso de la Sociedad Cubana de la Ciencia del Suelo (julio 7- 9, Ciudad de La Habana). Memorias. CD-ROM. Instituto de Suelos. 2010.

CRESPO FLORES, G.; RAMÍREZ, J. F.; GONZÁLEZ, P. J.; HERNÁNDEZ, I. Co-inoculation of rhizobium strains and one of the arbuscular micorrhizal fungus on *Stylosanthes guianensis* c ROSALES. CIAT-184. **Cuban Journal of Agricultural Science**, v. 48, n. 3, 2014.

DIAS-FILHO, M.B. Degradação de pastagens: processos, causas e estratégias de recuperação. Belém: EMBRAPA, p. 215, 2011.

DOUDS, D. D.; NAGAHASHI, G.; PFEFFER, P. E.; KAYSER, W. M.; REIDER, C. On-farm production and utilization of arbuscular mycorrhizal fungus inoculum. **Can. J. Plant Sci**, v. 85, p.21, 2005.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Centro Nacional de Pesquisa de Gado de Corte, Campo Grande, MS. *Brachiaria brizantha* cv. Marandu. Campo Grande, EMBRAPA-CNPGC, 31p. 1984.

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

FOLLI-PEREIRA, M. S.; MEIRA-HADDAD, L. S.; BAZZOLLI, D. M. S.; KASUYAH, M. C. M. Micorriza arbuscular e a tolerância das plantas ao estresse. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 36: p.1663-1679, 2012.

GONZÁLEZ, P. J.; ARZOLA, J.; MORGAN, O.; ESPINOSA, R. R.; RAMÍREZ, J. F. Efecto de la inoculación de la cepa de hongo micorrízico arbuscular *glomus hoi-like* en la respuesta de *Brachiaria híbrido* cv. Mulato ii (ciat 36087) a la fertilización orgánica y nitrogenada. **Cultivos Tropicales**, v. 32, n. 4, p. 5-12, 2011.

GONZÁLEZ, P. J.; PÉREZ, G.; MEDINA, N.; CRESPO, G.; RAMÍREZ, J. F.; ARZOLA J. Coinoculación de cepas de rizobios y una cepa de hongo micorrízico arbuscular (*Glomus cubense*) y su efecto en kudzú (*Pueraria phaseoloides*). **Revista Cubana de Ciencia Agrícola**, v. 46, n 3, p.331-334, 2012.

GONZÁLEZ, P.J.; PLANA, R.; RIVERA, R.; FERNÁNDEZ, F.; ARBOLA, J. Efectos de la inoculación de hongos micorrízicos arbusculares en pastos del género *Brachiaria*, cultivados en suelo Pardo Mullido. **Revista Cubana de Ciencia Agrícola**, 42, 1, 2008.

GONZÁLEZ, A. M. T.; MORTON, C. M., Molecular and morphological phylogenetic analysis of *Brachiaria* and *Urochloa* (Poaceae). **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 37, p. 36–44, 2005.

HARPER, C. J.; TAYLOR, T.E.M.; KRINGS, M.; TAYL, E.L. Arbuscular mycorrhizal fungi in a voltzialean conifer from the Triassic of Antarctica. **Rev Palaeobot Palynol**, v. 215: p.76-84, 2015.

HART, M. M.; READER, R. J. Taxonomic basis for variation in the colonization strategy of arbuscular mycorrhizal fungi. **New Phytologist**, v. 153, n.2, p.335–344, 2002.

HEIJDEN, C. D.; MARCEL, G. A.; ET, A. I. "Mycorrhizal fungal diversity determines plant biodiversity, ecosystem variability and productivity." **Nature**, v. 69;3 p.96-6706, 1998.

INVAM. **International Culture Collection of Arbuscular Mycorrhizal Fungi**. Disponível em: <<http://invam.wvu.edu/>>. Acesso em: 02 jan. 2018.

JAKOBSEN, B.Y. I. ; ROSENDAHL, L. Carbon flow into soil and external hyphae from roots of mycorrhizal cucumber plants. **New Phytol**. 115, 77-83, 1990.

KAVANOVA, M.; GRIMOLDI, A. A.; LATTANZI, F. A.; SCHNYDER, H. Phosphorus nutrition and mycorrhiza effects on grass leaf growth. P status- and size-mediated effects on growth zone kinematics. **Plant Cell and Environment**, v. 29,511, 2006.

KLIRONOMOS, J. N.; ALLEN, M. F.; RILLIG, M. C.; PIOTROWSKI, J.; MAKVANDI-NEJAD, S.; WOLFE, B.E.; POWELL, J. R. Abrupt rise in atmospheric CO₂ overestimates community response in a model plant-soil system. **Nature**, v. 433, n.7026, p.621–624, 2005.

KLIRONOMOS, J. N.; HART, M. M. Colonization of roots by arbuscular mycorrhizal fungi using different sources of inoculum. **Mycorrhiza**, v. 12: p.181–184, 2002.

Koske, R. E. Endogone spores in Australian sand dunes. **Canad. J. Bot.** 53: 668-672. 1975.

LAMBAIS, M. R.; RAMOS, A. C.. Sinalização e transdução de sinais em micorrizas arbusculares. In: Siqueira, J. O.; Souza, F. A.; Cardoso, E. J. B. N.; TSAI, S. M. **Micorriza: 30 anos de pesquisa no Brasil**, p.119-126, 2010.

LEHMANN, A.; ZHENG, W.; RILLIG, M. C.; Soil biota contributions to soil aggregation. *Nature Ecology e Evolution*, p.1-8, 2017.

LEHMANN, E. F.; LEIFHEIT, A.; RILLIG, M. C. Mycorrhizas and Soil Aggregation Mycorrhizal. *Mediation of Soil*, 2017.

LEIGH, J., HODGE, A.; FITTER, A. H. Arbuscular mycorrhizal fungi can transfer substantial amounts of nitrogen to their host plant from organic material. *New Phyt.* 181:199, 2009.

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

MARSCHNER, H.; DELL, B. Nutrient uptake in mycorrhizal symbiosis. *Plant and Soil*, v. 159, n. 1, p.89–102, 1994.

MARSHALL, T. J. The nature, development and significance of soil structure. In: NEALE, G. J. (ed) Trans. of joint meeting of comissions IV e V (ISSS) Palmerston **North, New Zeland**, p.243-257, 1962.

MARTÍN, G. M.; RIVERA, E. R. Influencia de la inoculación micorrízica en los abonos verdes. Efecto sobre el cultivo principal. *Cultivos Tropicales*. v. 36, p.34-50, 2015.

MERGULHÃO, A.C. DO E.S.; BURITY, H.A.; GOTO, B.T. & MAIA, L.C. Diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in a gypsum mining impacted semiarid area. *Acta Botanica Brasilica*, v.24: p.1052–1061, 2010.

MONTAÑEZ, A. El estudio de las micorrizas arbusculares: Limitantes y perspectivas. *Agrociencia*, v.9 n. 2, p311-315, 2005.

MONTEIRO, M. C. C.; LUCAS, E. D.; SOUTO, S. M. Estudo de seis espécies forrageiras do gênero *Brachiaria*. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v. 9, n. 3, p. 17-20, mar. 1974.

MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. *Microbiologia e Bioquímica do solo*. 2. ed. [s.l.] Universidade Federal de Lavras. 2. ed. Lavras: Ed. UFLA, p. 729, 2006.

NADAL, M.; PASZKOWSKI, U. Polyphony in the rhizosphere: presymbiotic communication in arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Current Opinion in Plant Biology*, n. 1, 6:1–7, 2013.

OEHL, F.; SYKOROVA, Z.; REDECKER, D.; WIEMKEN, A.; SIEVERDING, E. *Acaulospora alpina*, a new arbuscular mycorrhizal fungal species characteristic for high mountainous and alpine regions of the Swiss Alps. *Mycologia*, v. 98, p.286-94, 2006.

OLIVERA, Y.; MACHADO, R.; DEL POZO, P. P. Características botánicas y agronómicas de especies forrajeras importantes del genero *Brachiaria*. *Pastos Forrajes*, v. 29, n. 1, p. 5, 2006.

- OLIVERA, Y.; MACHADO, R.; DEL POZO, P. P.; RAMÍREZ, J.; CERERO, B. Evaluación de accesiones de *Brachiaria brizantha* en suelos ácidos. Época de máximas precipitaciones. **Pastos y Forrajes**, n.30, v. 3, p.303-313, 2007.
- PERALTA, M. A. **Boletín informativo** (*Brachiaria*: potencial y oportunidades de mejoramiento. Iguala, Guerrero, p: 4-22, 2004.
- PARNISKE, M. Arbuscular mycorrhiza: the mother of plant root endosymbioses. **Nature Reviews Microbiology**, v. 6, p.763-75, 2008.
- PENG, S.; GUO, T.; LIU, G. The effects of arbuscular mycorrhizal hyphal networks on soil aggregations of purple soil in sothwest China. **Soil Biology Biochemistry**, v.57, n.2, p.411–417, 2013.
- PEREIRA, D. DE S.; CARVALHO, M. L. M.; GUIMARÃES, R. M.; OLIVEIRA, A. S.; ABREU REIS, G. Physiological changes in hybrid *Brachiaria* cv. Mulato II after accelerated aging to overcome dormancy. **Journal of Seed Science**, v. 39, n.3, p.000-000, 2017.
- PIOTROWSKI, J. S., DENICH, T., KLIRONOMOS, J. N., GRAHAM, J. M., RILLIG, M.C. The effects of arbuscular mycorrhizas on soil aggregation depend on the interaction between plant and fungal species. **New Phytologist**, n.164, p.365–373, 2004.
- PIZARRO, E. A.; HARE, M. L. D.; MUTIMURA, M.; CHANGJUN, B. *Brachiaria* hybrids: potential, forage use and seed yield. **Tropical Grasslands Forrajes Tropicales**, v. 1, 3 p.35, 2013.
- PLENCHETTE, C.; CLERMONT-DAUPHIN, C.; MEYNARD, J. M.; FORTIN, J. A. Managing arbuscular mycorrhizal fungi in cropping systems. **Can. J. Plant Sci.** 85:31, 2005.
- PURIN, S.; RILLIG, M. C. The arbuscular mycorrhizal fungal protein glomalin: Limitations, progress, and a new hypothesis for its function. **Pedobiologia**, v. 51, p.123-30, 2007.
- REDECKER, D. et al. An evidence-based consensus for the classification of arbuscular mycorrhizal fungi (Glomeromycota). **Mycorrhiza**, v. 23, n. 7, p. 515–31, 2013.
- REDECKER, D; KODNER, R; GRAHAM. L. E. Glomalean fungi from the Ordovician. **Science**. v. 289, p.1920–1921, 2000.
- RENVOIZE, S. A.; CLAYTON, W. D.; KABUYE, CHRISTINE, H. S.. Morphology, taxonomy, and natural distribution of *Brachiaria* (Trin.) Griseb. **A Repository of Agricultural Research**, p.1-15, 1996.
- RILLIG MC, MUMMEY DL. Mycorrhizas and soil structure. **New Phytol**, v.171: p.41-53, 2006.
- RILLIG, M. C. et al. (Glomalin, an arbuscularmycorrhizal fungal soil protein, responds to landuse change, **Plant and Soil, The Hague**, v. 253, p.293–299, 2003.

RILLIG, M. C.; MARDATIN, N. F.; LEIFHEIT, E. F.; ANTUNES, P. M. Mycelium of arbuscular mycorrhizal fungi increases soil water repellency and is sufficient to maintain water-stable soil aggregates. **Soil Biology & Biochemistry**, p. 42, 2010.

RILLIG, M. C.; MULLER, L. A. H; LEHMANN, A. Soil aggregates as massively concurrent evolutionary incubators. **The ISME Journal**, p.1–6, 2017.

RILLIG, M. C.; WRIGHT, S. F.; KIMBALL, B. A. PINTER, P. J.; WALL, G. W.; OTTMAN, M. J.; LEAVITT, S. W. Elevated carbon dioxide and irrigation effects on water stable aggregates in a *Sorghum* field: a possible role for arbuscular mycorrhizal fungi. **Global Change Biology**, v.7, p.333-7, 2001.

RILLIG, M. C.; WRIGHT, S. F.; NICHOLS, K. A.; SCHMIDT, W. F.; TORN, M. S. Large contribution of arbuscular mycorrhizal fungi to soil carbon pools in tropical forest soils. **Plant and Soil, The Hague**, v.233, n. 2, p. 167-177, 2001.

ROCHE, R.; MENÉNDEZ, J.; HERNÁNDEZ, J, E. Características morfológicas indispensables para la clasificación del género *Brachiaria*. **Pastos Forrajes**, 13, p.205–222, 1990.

RUBIN, J. G. K. R.; STÜRMER, S. L. Potencial de inóculo micorrízico e importância do comprimento do micélio para a agregação de solos de ambiente fluvial. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.39: p.59-68, 2015.

SANDERS, I.; CROLL, R. D. Arbuscular mycorrhiza: the challenge to understand the genetics of the fungal partner. **Annual review of genetics**, v. 44, p.271-292, 2010.

SANTOS, G. de A., SILVA, L.S. da; CANELLAS, L.P.; CAMARGO, F.A. de O. (Ed.) **Fundamentos da matéria orgânica do solo: Ecosistemas tropicais e subtropicais**. 2ª ed. rev. e atual. Porto Alegre: Metrópole, 654p.: Il, 2008.

SANTOS, L. M.; SIQUEIRA, F. L. T.; SIQUEIRA, G. B.; CALÇADO, J. P. A. Potencial de estabelecimento da *brachiaria* híbrida cultivar mulato ii (convert hd364) no estado do tocantins. **Pesquisas Agrárias e Ambientais**, v. 03, n. 04, p.224-232, 2015.

SCHÜBLER, A.; SCHWARZOTT, D.; WALKER, C. A new fungal phylum, the Glomeromycota: phylogeny and evolution. **Mycol. Res**, v. 105: p.1413-1421, 2001.

SCHWENDEMANN, A. B. et al. Combresomyces cornifer from the Triassic of Antarctica: Evolutionary stasis in the Peronosporomycetes. **Review of Palaeobotany and Palynology**, v. 154: p.1–5, 2009.

SERRÃO, E.A.D. e SIMÃO NETO, M. Informações sobre duas espécies de gramíneas forrageiras do gênero *Brachiaria* na Amazônia: *B. decumbens* Stapf e *B. ruziziensis* Germain et Evrard. Belém, Instituto de Pesquisa e Experimentação Agropecuária do Norte, 1971. 31p. (IPEAN. Série: Estudos sobre forrageiras na Amazônia, v.2., n.1).

SILVEIRA, A. P. D.; CARDOSO, E. J. B. N. Arbuscular mycorrhiza and kinetic parameters of phosphorus absorption by bean plant. **Scientia Agricola**, v. 6, p203-9, 2004.

- SIQUEIRA, J. O. et al. **Micorrizas: 30 anos de pesquisa no Brasil**. Lavras: Editora UFLA, v. 1, p. 279-310, 2010.
- SIQUEIRA, J. O.; FRANCO, A. A. **Biocologia do solo: fundamentos e perspectivas**. Brasília: MEC/ ABEAS/Lavras: ESAL/FAEPE. p. 236, 1988.
- SIQUEIRA, J. O.; SAGGIN-JÚNIOR, O. J. Dependency on arbuscular mycorrhizal fungi and responsiveness of some Brazilian native woody species. **Mycorrhiza**, v. 11, p. 245-255, 2001.
- SIX, J.; BOSSUYT, H.; DEGRYZE, S.; DENEFF, K. A history of research on the link between (micro) aggregates, soil biota, and soil organic matter dynamics. **Soil and Tillage Research**. v. 79, n.1, p. 7–31, 2004.
- SMITH, S. E.; READ, D.J. *Mycorrhizal Symbiosis*. London: **Academic Press**, third edition. p. 787, 2008.
- SMITH, S. E.; READ, D.J. *Mycorrhizal Symbiosis*. Second Edition. Academic Press - San Diego. p. 605, 1997.
- SOUSA, C. S; MENEZES, R. S. C.; SAMPAIO, E. V. DE SÁ B.; LIMA, F. DE S. Glomalina: características, produção, limitações e contribuição nos solos. **Ciências Agrárias**, v. 33, n.1, p. 3033-3044, 2012.
- TISDALL, J. M. Possible role of soil microorganisms in aggregation in soils. In: ROBSON, A.D.; ABBOTT, L.K.; MALAJCZUK, N. (Ed.). **Management of mycorrhizas in agriculture, horticulture and forestry**. Dordrecht: Kluwer academic publishers, p.115-121, 1994.
- TISDALL, J. M. Possible role of soil microorganisms in aggregation in soils. **Plant Soil**, v.159, p.115-21, 1994.
- TISDALL, J. M., AND OADES, J. M. Stabilisation of soil aggregates by the root systems of ryegrass. **Australian Journal of Soil Research**, n. 17, p. 429–41, 1979.
- VARMA, A. **Genetic and Molecular Biology Eco-Function Biotechnology Eco-Physiology Structure and Systematics**. Third Edition, Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, 2008.
- VILELA, L. A. F.; SAGGIN JÚNIOR, O. J.; PAULINO, H. B.; SIQUEIRA, J. O.; SANTOS, V. L. DA S.; CARNEIRO, M. A. C. Arbuscular mycorrhizal fungus in microbial activity and aggregation of a cerrado oxisol in crop sequence. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 38, n. 1, p. 34-42, 2014.
- WRIGHT, S. F.; FRANKE-SNYDER, M.; MORTON, J. B.; UPADHYAYA, A. Time-course study and partial characterization of a protein on hyphae of arbuscular mycorrhizal fungi during active colonization of roots. **Plant and Soil**, v.181, n. 2, p. 193-203, 1996.
- WRIGHT, S.F.; NICHOLS, K. A. Glomalin: hiding place for a third of the world's stored soil carbon. **Agric Research**, v. 50: p. 4-7, 2002.

YAO, Q.; ZHU, H. H.; HU, Y. L.; LI, L. Q. Differential influence of native and introduced arbuscular mycorrhizal fungi on growth of dominant and subordinate plants. **Plant Ecol.** 196:261, 2008.

SEGUNDA PARTE - ARTIGOS

ARTIGO 1**INTERAÇÃO ENTRE FUNGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES COM *Urochloa
brizantha* (A. Rich.) Stapf: SIMBIOSE, MULTIPLICAÇÃO DE ESPOROS E
PRODUÇÃO DE PROTEÍNA DO SOLO RELACIONADA A GLOMALINA**

Marisângela Viana Barbosa⁽¹⁾, Daniela de Fátima Pedroso⁽²⁾, Marco Aurélio Carbone Carneiro⁽³⁾

¹Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo - DCS, Universidade Federal de Lavras – UFLA, Lavras – MG, Brasil. * e-mail: mvbarbosa10@gmail.com

² Engenharia Ambiental, Bolsista de Iniciação Científica PIBIC/FAPEMIG, pelo Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo - DCS, Universidade Federal de Lavras – UFLA, Lavras – MG, Brasil.

³Professor Titular do Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo - DCS, Universidade Federal de Lavras – UFLA, Lavras – MG, Brasil.

RESUMO

Fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) podem apresentar comportamentos distintos quando associados à mesma espécie hospedeira. Desta forma, o objetivo desse estudo foi avaliar a interação das diferentes espécies de FMAs associadas com *Urochloa brizantha* (A. Rich.) Stapf, e analisar sua influência no estabelecimento da simbiose, na multiplicação dos esporos e na produção de proteína do solo relacionada a glomalina. O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado em parcelas subdividida no tempo, com arranjo de 6 x 5 sendo cinco espécies de FMAs (*Acaulospora colombiana*, *Acaulospora longula*, *Acaulospora morrowiae*, *Paraglomus occultum* e *Gigaspora margarita*), o tratamento sem inoculação e cinco épocas de avaliação (15, 30, 60, 90 e 120 dias de cultivo), com quatro repetições. Foram avaliadas: altura das plantas, comprimento raiz, massa seca parte aérea e raiz, número de esporo, colonização micorrízica e produção de proteína do solo relacionada à glomalina. Foi observado maior número de esporos (multiplicação) para *A. longula* e *A. colombiana*, a qual também apresentou maior colonização micorrízica em menos tempo de cultivo atingindo a estabilização aos 76 dias. A inoculação exerceu efeito positivo a partir de 15 dias para crescimento das raízes, 60 dias para altura das plantas e massa seca das raízes de *U. brizantha* e 90 dias para rendimento de massa seca da parte aérea, com destaque para as espécies do gênero *Acaulospora*. Já para produção de glomalina houve maior incremento para inoculação com *A. colombiana*, *A. longula* e *P. occultum* aos 120 dias de cultivo. *G. margarita* e *P. occultum* não atingiram a máxima colonização micorrízica e densidade de esporos, indicando ser necessário um período maior que 120 dias para multiplicação desses FMAs associados a *U. brizantha*. O conhecimento da biologia e ecologia dos FMAs é importante para ser estabelecido o tempo ideal de multiplicação dos propágulos infectivos de cada espécie. Tendo em vista, que essas informações permitem o planejamento de estudos de inoculação em campo ou ambiente controlado, e principalmente, para manutenção em banco de germoplasma.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: FMAs. Banco de germoplasma. Multiplicação. Glomalina. Glomeromycota.

ABSTRACT

Arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) may present different behaviors when associated with the same host species. Thus, the objective of this study was to evaluate the interaction of the different AMF species associated with *Urochloa brizantha* (A. Rich.) Stapf, and to analyze its influence in the establishment of symbiosis, in spore multiplication and in the production of soil related protein glomalin. The experiment was conducted in a completely randomized design in plots subdivided in time, with 6 x 5 arrangement being five species of AMF (*Acaulospora colombiana*, *Acaulospora longula*, *Acaulospora morrowiae*, *Paraglomus occultum* and *Gigaspora margarita*), treatment without inoculation and five seasons of (15, 30, 60, 90 and 120 days of cultivation), with four replications. Plant height, root length, aerial and root dry mass, spore number, mycorrhizal colonization, and glomalin related soil protein production were evaluated. A greater number of spores (multiplication) were observed for *A. longula* and *A. colombiana*, which also presented higher mycorrhizal colonization in less time of culture reaching the stabilization at 76 days. The inoculation exerted a positive effect from 15 days for root growth, 60 days for plant height and dry mass of roots of *U. brizantha* and 90 days for dry mass yield of the aerial part, especially the species of the genus *Acaulospora*. Already for the production of glomalina there was greater increase for inoculation with *A. colombiana*, *A. longula* and *P. occultum* at 120 days of cultivation. *G. margarita* and *P. occultum* did not reach the maximum mycorrhizal colonization and spore density, indicating that a period longer than 120 days is required to multiply these AMF associated with *U. brizantha*. Knowledge of the biology and ecology of AMF is important to establish the optimal time of multiplication of infective propagules of each species. Considering that this information allows the planning of inoculation studies in the field or controlled environment, and mainly, for maintenance in a germplasm bank.

INDEX TER: AMF. Germplasm bank. Multiplication. Glomalina. Glomeromycota.

1 INTRODUÇÃO

A micorriza do tipo arbuscular é considerada a simbiose mutualista mais antiga e evoluída do reino Plantae (CORDEIRO et al., 2005; SCHWENDEMANN et al., 2009; BUCKING et al., 2016). Essa relação simbiótica é estabelecida entre as raízes das plantas e os fungos micorrízicos arbusculares (FMAs), caracterizada por uma perfeita integração funcional entre as plantas e os FMAs (SMITH; READ, 1997; PARNISKE, 2008). Que resulta da troca bidirecional e simultânea de metabólitos e nutrientes entre o microssimbionte e a planta hospedeira (SMITH; READ, 2008; PARNISKE, 2008; OEHL et al., 2009).

Os FMAs ocupam um importante nicho ecológico e desempenha funções relevantes para o equilíbrio ambiental em áreas nativas ou cultivadas (CORDEIRO et al., 2005; PARNISKE, 2008; BUCKING et al., 2016). Ao contrário de outros grupos de microrganismos, os FMAs são biotróficos obrigatórios e necessitam de uma raiz metabolicamente ativa para estabelecer simbiose e completar seu ciclo de vida, renovando os seus propágulos infectivos (SIQUEIRA; FRANCO, 1988; ALLEN, 1991; DECLERCK et al., 2005). O biotrofismo obrigatório limita a produção de esporos dos FMAs em grande escala, devido à dependência de uma planta hospedeira para sua sobrevivência (SIQUEIRA; FRANCO, 1988; SELVAKUMAR et al., 2018).

A multiplicação dos FMAs é realizada pelo cultivo *in vitro* de forma axênica usando raízes transformadas e principalmente pela forma clássica, em vasos de cultivo armadilha utilizando plantas (DECLERCK et al., 1998; SELVAKUMAR, et al., 2018). O cultivo *in vitro* permitiu a multiplicação, produção de propágulos viáveis, puros, livres de contaminação, em menor espaço de tempo e eficiente na multiplicação dos FMAs de crescimento rápido que estabelecem simbiose entre 3 a 4 dias (TISDALL et al., 1991; DALPE; SEGUIN, 2010). No entanto, o cultivo *in vitro* também apresenta limitações ao crescimento dos FMAs no meio de cultura, podendo reduzir o crescimento e a capacidade de colonizar as raízes. Por outro lado, a multiplicação dos FMAs em vaso de cultivo armadilha utilizando substrato/solo é amplamente utilizado principalmente por ser menos artificial e mais econômico (SELVAKUMAR et al., 2018), podendo atingir grandes quantidade de inóculos (DOUDS et al., 2010) e elevada eficiência na colonização micorrízicas das raízes das plantas (SCHLEMPER; STURMER 2014).

O uso de plantas do gênero *Urochloa* para multiplicação de FMAs em banco de germoplasma já é bem difundido, no entanto, pouco se sabe sobre a interação entre este hospedeiro e as diferentes espécies de FMAs, com relação ao tempo de colonização

micorrízica, produção dos esporos e de proteína do solo relacionada a glomalina. Estudos mostram que há preferência entre FMAs e plantas hospedeiras, resultando numa variação na multiplicação dos esporos e colonização micorrízica (SIQUEIRA; FRANCO, 1988; AHMAD; RADDAD, 1995; PARNISKE, 2008; SMITH; READ, 2008; SIQUEIRA et al., 2010).

Diferentes FMAs podem apresentar comportamentos diversos ao colonizarem a mesma espécie hospedeira, no tempo de estabelecimento da simbiose, multiplicação dos propágulos infectivos, produção de proteína do solo relacionada á glomalina e efeito no crescimento vegetal. Portanto, o objetivo desse estudo foi avaliar a interação das diferentes espécies de FMAs associadas com *Urochloa brizantha* (A. Rich.) Stapf, e analisar sua influência no estabelecimento da simbiose, multiplicação dos esporos e na produção de de proteína do solo relacionada glomalina.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Este estudo foi conduzido em casa de vegetação com delineamento inteiramente casualizado em parcelas subdividida no tempo, com seis tratamentos e cinco épocas de avaliação, sendo: cinco espécies de FMAs (Tabela 1), o tratamento sem inoculação e cinco épocas de avaliação (15, 30, 60, 90 e 120 dias após a germinação), com quatro repetições. As espécies de FMAs utilizadas nesse estudo (Tabela 1) estão depositadas na coleção de cultura de FMAs do Departamento de Ciência do Solo/UFLA.

O substrato utilizado foi preparado com a mistura na proporção de 2:1 (v/v) de areia lavada e um *Latosolo Vermelho distrófico típico* (EMBRAPA, 2013), correspondente ao Oxisol (SOIL SURVEY STAFF, 1999). A caracterização química do substrato apresentou: pH (água) = 5,4; H+Al= 2,9 cmol_c dm⁻³; Ca= 1,70 cmol_c dm⁻³; Mg = 0,10 cmol_c dm⁻³; K= 18 mg dm⁻³; P= 1,13 mg dm⁻³; MO= 2,11 dag kg⁻¹. O substrato foi autoclavado a 121 °C durante 1 h por 2 dias consecutivos, em seguida, foi acondicionado em vasos com capacidade para 1 kg.

Foi realizada a inoculação a 5 cm de profundidade no vaso, utilizando solo-inóculo proporcional a fornecer a densidade de 150 esporos por vaso, além das hifas e raízes colonizadas que também atuam como propágulos infectivos dos FMAs.

Tabela 1 - Espécies de FMAs utilizadas nesse estudo, identificadas por meio do código de depósito na coleção de cultura de FMAs da UFLA.

	Espécies de FMAs	Códigos
<i>Acaulospora colombiana</i>	(Spain & Schenck) Kaonongbua, Morton & Bever	537 UFLA
<i>Acaulospora longula</i>	Spain & Schenck	242 UFLA
<i>Acaulospora morrowiae</i>	Spain & Schenck	467 UFLA
<i>Gigaspora margarita</i>	Becker & Hall	252 UFLA
<i>Paraglomus occultum</i>	(Walker) Morton & Redecker	438 UFLA

*As espécies foram todas multiplicadas em *Urochloa decumbens* e foram isoladas inicialmente do Bioma Cerrado associadas ao gênero *Urochloa*.

Fonte: Da autora.

A semeadura foi realizada utilizando sementes de *Urochloa brizantha* (A. Rich.) Stapf, as quais foram desinfestadas em solução de hipoclorito de sódio a 0,5 % (v/v) durante 5 min e lavadas com água destilada. Foram semeadas 20 sementes por vaso, realizando desbaste 15 dias após a germinação mantendo 10 plantas por vaso. Durante a condução do experimento

foram aplicados 20 mL da solução de Hoagland e Arnon (1950) em cada vaso, a cada 15 dias. A solução nutritiva era composta de N, P e K nas concentrações de 210 mg L⁻¹ de N, 234 mg L⁻¹ de K e 15,05 mg L⁻¹ de P correspondente a 50 % da concentração do P recomendada. Os vasos foram casualizados e mantendo o substrato com umidade considerando 60 % do volume total de poro (VTP).

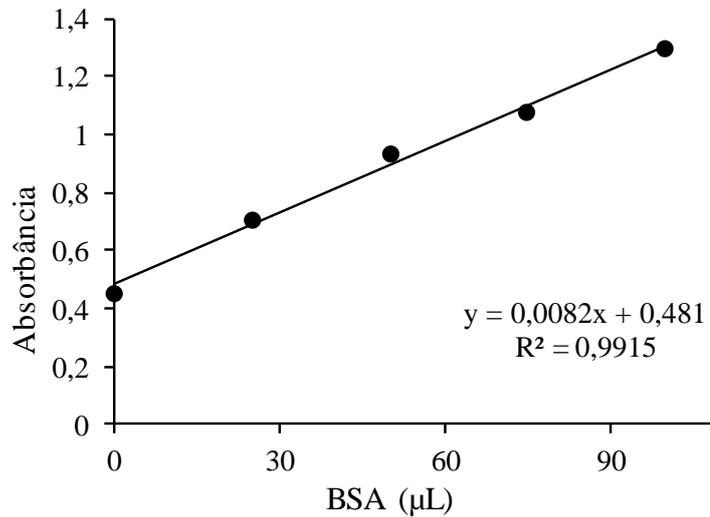
O estudo foi conduzindo até 120 dias com avaliações periódicas em cinco épocas diferentes (15, 30, 60, 90 e 120 dias após a germinação). Para cada época foram colhidos os vasos e analisado: altura da planta (ALP), comprimento das raízes (CR), massa seca da parte aérea (MSPA), massa seca da raiz (MSR), número de esporos (NE), colonização micorrízica (COL) e produção de proteína do solo relacionada à glomalina facilmente extraível (PSRG).

O número de esporos foi quantificado após sua extração de 50 mL do substrato pela técnica do peneiramento úmido (GERDEMANN; NICOLSON, 1963) e centrifugação em água e solução de sacarose (JENKINS, 1964). A contagem foi realizada diretamente em placas reticuladas sob microscópio estereoscópico.

A colonização micorrízica foi quantificada em amostras de 1g de raízes finas. As raízes foram lavadas, diafanizadas com KOH (10%) e H₂O₂, acidificadas com HCl (1%) e coradas com azul de Tripiano em lactoglicerol (0,05%) (PHILLIPS; HAYMAN; 1970). A quantificação das raízes colonizadas foi realizada pela técnica de interseção em placas reticuladas (GIOVANNETTI; MOSSE, 1980; PHILLIPS; HAYMAN, 1970).

A concentração de proteína do solo relacionada à glomalina facilmente extraível (PSRG) foi determinada utilizando o método proposto por Wright e Upadhyaya (1998). Para tanto, foi utilizada amostras de 1 g de solo adicionado 8 ml de solução de citrato de sódio (20 mM a pH 7,2), autoclavada por (121°C) por 30 minutos, seguida de centrifugação (3.200 rpm/20 minutos), sendo obtido o extrato da PSRG das amostras do solo e dos agregados (WRIGHT; UPADHYAYA, 1998; BRADFORD, 1976). Em seguida, os sobrenadantes foram quantificados em espectrofotômetro pelo método de Bradford, e determinado as concentrações de PSRG (mg g⁻¹ solo) utilizando a equação da curva padrão (Figura 1). A qual foi obtida por meio da Albumina Bovina Sérica (BSA) como proteína padrão purificada (PURIN, 2005).

Figura 1 - Curva padrão obtida por meio de diferentes concentrações (μL) de Albumina Bovina Sérica (BSA) como proteína padrão. Sendo utilizado a equação da curva padrão, para quantificar a produção de proteína do solo relacionada à glomalina, facilmente extraível - PSRG.



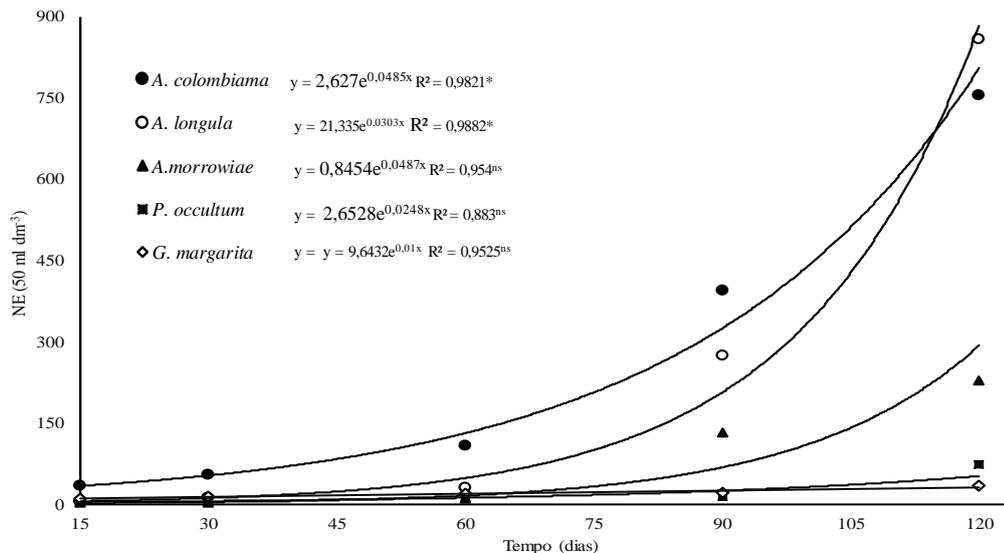
Fonte: Da autora.

De posse dos dados, foi realizada a normalização da distribuição. Os dados de colonização micorrízica e número de esporos foram transformados para $\text{Log}(x+1)$. Em seguida realizou-se a análise variância (ANOVA) e as médias foram comparadas por meio do teste Tukey a 5 % de probabilidade, utilizando o software SISVAR (FERREIRA, 2011).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Todas as espécies de FMAs apresentaram aumento no número de esporos ao longo do tempo de cultivo (Figura 2). No entanto, havendo variação na multiplicação dos esporos em função da espécie de FMA e da época de avaliação, com maior destaque para espécies do gênero *Acaulospora*. Essa distinção na resposta dos FMAs associada à mesma espécie hospedeira é considerada comum, tendo em vista que a capacidade de esporulação é uma característica inerente à espécie de FMA, sendo afetada pelo hospedeiro apenas quando se refere a compatibilidade e eficiência do sistema simbiótico (KLIRONOMOS et al., 2005; PARNISKE, 2008).

Figura 2 - Número de esporos (NE) das diferentes espécies de FMAs associadas com *U. brizantha* em função do tempo de cultivo (15, 30, 60, 90 e 120 dias de cultivo). (*) Apresenta diferença significativa a 5% de probabilidade.



Fonte: Da autora.

O maior potencial de multiplicação dos esporos em *U. brizantha* foi observado para *A. longula* seguida por *A. colombiana* e *A. morrowiae*, produzindo aos 120 dias de cultivo 859, 755 e 228 esporos em 50 mL de substrato, respectivamente. O alto potencial de multiplicação de esporos de *A. longula* em plantas de *Urochloa* também foi verificado em outros estudos Coelho et al. (2014). Por outro lado, a menor multiplicação de esporos foi observada com *G. margarita* e *P. occultum*, que apresentaram aos 120 dias de cultivo 73 e 34 esporos em 50 mL de substrato, respectivamente (Figura 2). Esse resultado sugere que para o uso de *U. brizantha*

como planta multiplicadora de *G. margarita* e *P. occultum* é necessário um período maior que 120 dias de cultivo, ou que essas espécies geralmente apresentam baixa esporulação, o que particularmente pode ser verdade para *G. margarita* (OEHL et al., 2009). Ainda é possível que essas espécies não tenham se adaptado ao solo substrato utilizado, que apresentava pH 5,4 neste caso particularmente o *P. occultum*, que pode reduzir a dinâmica de esporulação em função das variações de pH (acidez).

A densidade de esporos observado nesse estudo reforça a eficiência e o potencial de adaptação das *Acaulosporas*, cuja maioria das espécies comumente apresenta elevado potencial de multiplicação dos esporos, fato, que confere uma larga adaptação desse gênero às variações do ambiente (OEHL et al., 2006). Contudo, espécies de *Acaulospora* são consideradas mais agressivas no seu estabelecimento, formação da simbiose e multiplicação dos propágulos infectivos (STÜRMER et al., 2006). Esse gênero é muito comum em solos brasileiros (STÜRMER et al., 2006; ASSIS et al., 2014) e a maioria das espécies são largamente encontradas em solos de regiões tropicais, distribuídas nos diferentes Biomas em área nativas e cultivadas (CARNEIRO et al., 2015; MIRANDA et al., 2008; MOREIRA; SIQUEIRA, 2006; FERREIRA et al., 2012; STÜRMER; SIQUEIRA, 2011).

A dinâmica de esporulação em função do tempo verificada nesse estudo evidencia-se os efeitos distintos dos FMAs quando associados com a mesma espécie de planta, que mostrou uma maior ou menor atividade ao longo dos quatro meses do estudo. Esta variação sugere que é necessário um maior período de cultivo, para que ocorra a máxima multiplicação para algumas espécies ou que alguns FMAs não se adaptaram às condições desses estudos, por meio do substrato ou da planta hospedeira, ou ainda que o período do ano não era adequado para sua esporulação.

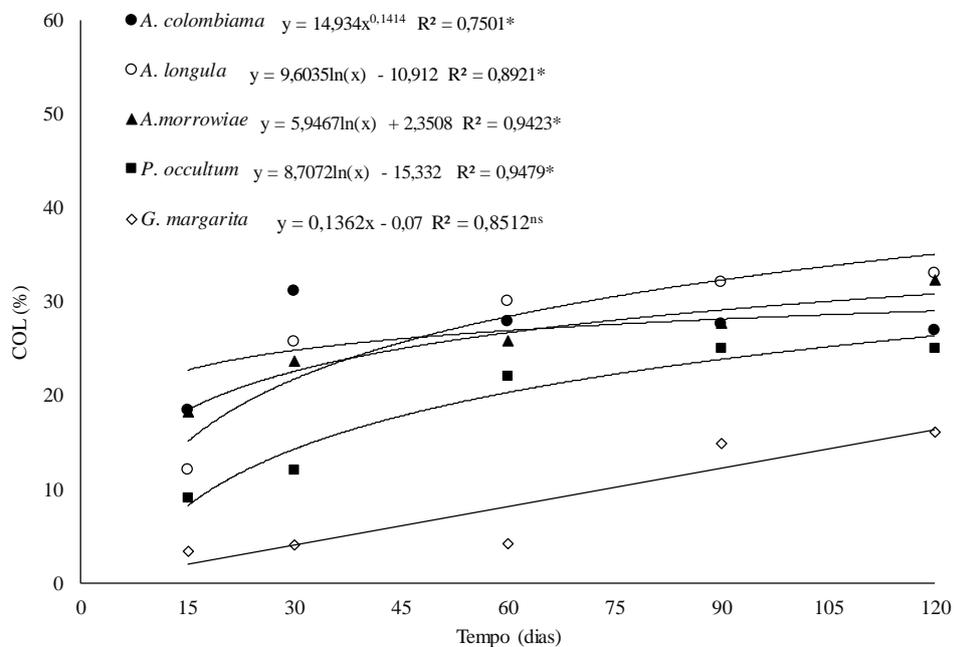
O comportamento observado reforça a necessidade de mais conhecimento sobre a interação simbiótica dos diferentes FMAs associadas à mesma espécie vegetal, particularmente às espécies “multiplicadoras” do gênero *Urochloa*. Isto fornecerá subsídio para um melhor manejo do solo em pastagens ou para produção de inoculantes e para manutenção de coleções de cultura de FMAs em banco de germoplasma, ou mesmo para uso de “cultivo armadilha”, quando se desenvolve estudos de levantamento de espécies de FMAs em amostras de campo.

A elevada densidade de esporo normalmente resulta em uma maior colonização micorrízica. Esse resultado foi verificado no presente estudo, no qual a inoculação com *A. colombiana* alcançou a máxima colonização micorrízica (30%) em menos tempo de cultivo aos 76 dias após a germinação (Figura 3). Seguida pela *A. longula*, com 34,6 % de

colonização aos 96 dias de cultivo, *A. morrowiae* com 32 % aos 120 dias, *P. occultum* com 26,9 % aos 112 dias e *G. margarita* com 16,2 % de colonização micorrízica aos 120 dias de cultivo.

Esses resultados mostram as diferenças das espécies de FMAs quanto ao estabelecimento da simbiose funcional com *U. brizantha*. Com destaque para *A. colombiana* que apresentou a máxima colonização em menos tempo de cultivo. Por outro lado, a menor colonização foi verificada para *G. margarita* aos 120 dias.

Figura 3 - Colonização micorrízica (COL) das diferentes espécies de FMAs, associadas com *U. brizantha* em função do tempo de cultivo (15, 30, 60, 90 e 120 dias de cultivo). (*) Apresenta diferença significativa a 5% de probabilidade.



Fonte: Da autora.

As espécies de FMAs apresentam diferentes estratégias de colonização, conforme a espécie hospedeira, as condições de cultivo e às características de cada espécie de FMAs (potencial de propágulos infectivos e quantidade de tubos germinativos por esporos) (SIQUEIRA; KLAUBERG-FILHO, 2002; PARNISKE, 2008; STÜRMER; SIQUEIRA, 2013). Isto foi verificado no presente estudo, onde *U. brizantha*, mesmo sendo considerado um gênero que se associa a grande diversidade de FMAs apresentou variação na esporulação e na colonização dos FMAs ao longo do tempo. Fato verificado para inoculação com *P. occultum*, que apresentou inicialmente baixa esporulação, mas alcançou 73 esporos em 50 ml

de substrato aos 112 dias, mostrando evolução do potencial de propágulos infectivos inclusive com aumento da colonização micorrízica para 27% aos 112 dias de cultivo (Figura 3). Já para *G. margarita*, estudos mostram que a germinação dos esporos ocorre naturalmente de forma mais lenta, sendo necessário por vezes um período de “dormência” dos esporos no solo (GAZEY et al. 1993; OEHL et al. 2009). No entanto, no presente estudo não se verificou a “dormência” para *G. margarita*, uma vez que se utilizou de solo-inóculo para sua inoculação, onde há uma mistura de esporos de diferentes idades e outros tipos de propágulos infectivos. Outros estudos também tem relatado que diferentes espécies de FMAs apresentam comportamentos distintos quando associados à mesma espécie vegetal, contudo, contribuindo de forma diferente para o crescimento das plantas (HEIJDEN et al., 1998).

Para as avaliações de crescimento da *U. brizantha* no geral foi verificado maior efeito da inoculação com *A. colombiana* e *A. longula* (Tabela 2). As plantas de *U. brizantha* apresentaram um incremento de MSPA de até 91,1 % quando inoculadas com *A. longula* e de 47,08 % para *A. colombiana* aos 120 dias de cultivo, quando comparadas as plantas não inoculadas.

Tabela 2 - Altura (ALP), comprimento de raízes (CR); massa das raízes secas (MSR) e massa da parte aérea seca (MSPA) de *U. brizantha* inoculada com diferentes espécies de FMAs e tratamento sem inoculação (S/FMAs) ao longo do tempo de cultivo (15, 30, 60, 90 e 120 dias).

Espécies	Tempo (dias)				
	15	30	60	90	120
ALP (cm)					
<i>A. colombiana</i>	5,90 Ad	6,77 Ad	8,77Ac	10,43Ab	13,99Aa
<i>A. longula</i>	5,65Ac	6,57 Ac	8,00Ab	9,17Ab	14,91Aa
<i>A. morrowiae</i>	5,57Ac	6,70 Ac	8,62Ab	9,49Ab	11,74Ba
<i>P. occultum</i>	5,74Ac	6,73 Ac	8,05Ab	8,38Bb	11,49Ba
<i>G. margarita</i>	4,90Ac	6,08Ac	6,76Bb	7,66Bb	9,82Ba
S/FMAs	4,65Ad	6,08Ac	6,78Bc	7,95Bb	10,45Ba
CR (cm)					
<i>A. colombiana</i>	19,45Aa	14,99Aa	19,45Aa	19,99Aa	24,74Aa
<i>A. longula</i>	13,91Bb	14,87Ab	16,62Ab	18,08Aa	23,08Aa
<i>A. morrowiae</i>	19,00Ab	19,25Ab	21,16Ab	26,16Aa	27,08Aa
<i>P. occultum</i>	16,70Ab	18,79Ab	21,99Ab	22,66Aa	27,66Aa
<i>G. margarita</i>	12,49Bb	15,99Ab	17,58Ab	20,99Aa	24,83Aa
S/FMAs	11,60Bb	15,58Ab	15,62Ab	19,21Aa	20,62Ba
MSR (g vaso⁻¹)					
<i>A. colombiana</i>	0,051Ac	0,253Ac	0,373Bc	0,610Ab	1,003Aa
<i>A. longula</i>	0,154Ac	0,394Ac	0,711Ab	0,814Ab	1,205Aa
<i>A. morrowiae</i>	0,333Ab	0,333Ab	0,420Bb	0,670Aa	0,818Ba
<i>P. occultum</i>	0,111Ac	0,308Ab	0,351Bb	0,495Ab	0,805Ba
<i>G. margarita</i>	0,238Ab	0,238Ab	0,345Bb	0,464Aa	0,672Ba
S/FMAs	0,055Ab	0,238Ab	0,275Bb	0,527Aa	0,637Ba
MSPA (g vaso⁻¹)					
<i>A. colombiana</i>	0,198Ac	0,449Ac	0,739Ab	0,831Ab	1,340Aa
<i>A. longula</i>	0,223Ad	0,402Ad	0,711Ac	1,039Ab	1,480Aa
<i>A. morrowiae</i>	0,175Ac	0,436Ac	0,648Ab	0,725Bb	1,131Aa
<i>P. occultum</i>	0,245Ac	0,398Ac	0,586 Ac	0,841Bb	1,212Aa
<i>G. margarita</i>	0,152Ab	0,334Ab	0,485Aa	0,553Ba	0,593Ba
S/FMAs	0,127Ab	0,275Ab	0,643Aa	0,674Ba	0,771Ba

*As médias seguidas de mesmas letras maiúsculas nas colunas e minúsculas nas linhas, não diferem pelo teste Tukey a 5% de significância.

Fonte: Da autora.

Todas as espécies de FMAs inoculadas exceto *G. margarita* apresentaram incrementos na MSPA aos 120 dias de cultivo. No geral, o menor efeito no crescimento e desenvolvimento das plantas de *U. brizantha* foi verificado para a inoculação de *G. margarita* (Tabela 2). Isto possivelmente está relacionado a uma menor adaptação de *G. margarita* à espécie *U.*

brizantha ou ao substrato empregado, verificando baixa eficiência do funcionamento da simbiose pela menor colonização micorrízica.

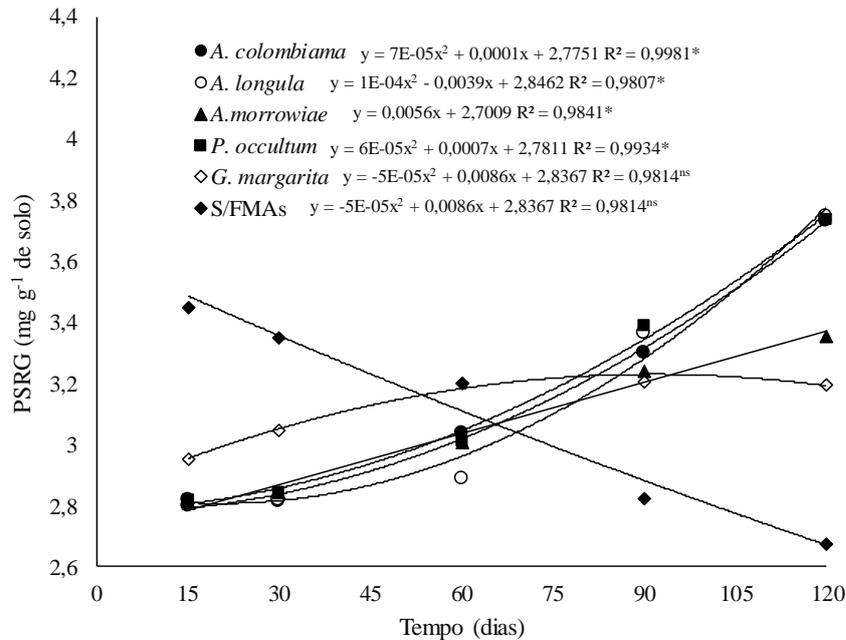
Por outro lado, a inoculação com *A. longula* e *A. colombiana* promoveu maior altura e massa seca das raízes (MSR) de *U. brizantha*, aos 120 dias de cultivo. A altura e massa seca das raízes são variáveis importantes, por contribuir com a cobertura do solo e com o aporte de carbono orgânico no solo, principalmente em solos tropicais, onde a erosão e taxa de decomposição da matéria orgânica ocorrem de forma muito mais acentuada (LAL; LOGAN, 1995).

Carneiro et al. (1999) também verificaram incremento na produção de massa das raízes de *Urochloa decumbens*, em áreas degradadas, quando inoculadas com FMAs, cujo o incremento passou de 3,5 Mg para 26,7 Mg de raízes ha⁻¹. A capacidade dos FMAs em promover o crescimento do gênero *Urochloa* é outro aspecto importante, pois, ocorre aumento da biomassa foliar proporcionando uma maior atividade fotossintética (aumento na fixação CO₂ atmosférico), favorecendo o acúmulo de carbono orgânico por meio da produção de raízes, e com isso, aumentando o fluxo e ciclagem de nutrientes no sistema solo/planta (WANG et al., 2016). Além disso, os incrementos em massa seca parte aérea é uma característica desejável, tendo em vista a importância do gênero *Urochloa* na formação de pastagens/forragens para alimentação animal.

A inoculação dos diferentes FMAs também apresentaram comportamentos distintos para o aumento da concentração de glomalina (PSRG) ao longo do tempo de cultivo (Figura 4). Havendo maior destaque para inoculação com as espécies de *Acaulospora*, sendo verificado um acréscimo de até 40 % para *A. longula*, *A. colombiana* e *P. occultum*, e de 25 e 19% para *A. morrowiae* e *G. margarita*, quando comparadas ao solo não inoculado, cuja concentração era de 2,67 mg g⁻¹ de solo. O teor de PSRG aos 120 dias de cultivo, variou de 3,74 mg g⁻¹ a 3,30 mg g⁻¹ de solo respectivamente para as espécies de *A. longula* e *G. margarita* que apresentaram a maior e menor concentração de PSRG (Figura 4).

O comportamento observado na figura 4 para a PSRG nas amostras do solo, onde não houve inoculação para as plantas de *Urochloa* é considerado um resultado esperado, na medida em que, mesmo sendo recalcitrante a glomalina sofre degradação ao longo do tempo por fatores diversos no solo. As permanências da glomalina no solo dependem da intensidade dos processos que ocorrem no ambiente, cuja meia vida pode ocorrer de 7 a 42 anos.

Figura 4 - Produção de proteína do solo relacionada à glomalina facilmente extraível (PSRG), produzida pelas diferentes espécies de FMAs, associadas com *U. brizantha*, avaliadas ao longo do tempo de cultivo (15, 30, 60, 90 e 120 dias). (*) Apresenta diferença significativa a 5% de probabilidade.



Fonte: Da autora.

Esses incrementos na concentração de PSRG representam um acréscimo de 1000 kg ha^{-1} para *G. margarita* e 2.140 kg ha^{-1} para *A. longula*. O acúmulo da concentração dessas glicoproteína no solo é importante devido a sua elevada capacidade de reter carbono orgânico no solo, contribuindo para redução da emissão de CO_2 , auxiliando o maior aporte de C e N na fração orgânica do solo (RILLIG et al. 2001; CORNIS, 2002; WRIGHT; NICHOLS, 2002). Portanto, do ponto de vista prático, a PSRG representa uma importante entrada de C orgânico no sistema, que favorece o aumento da diversidade e atividade biológica, contribuindo para melhoria da estrutura e qualidade do solo.

No geral, a inoculação com *A. longula* apresentou a melhor resposta ao longo do tempo para o número de esporos, elevado incremento na MSR com até 89 % e MSPA com 91 % e para PSRG com um acréscimo de 40 %, o que representa um acúmulo de até 2.140 kg ha^{-1} de glomalina. Nesse estudo, foi verificado resultados distintos da inoculação dos diferentes FMAs associados às plantas de *U. brizantha*, para as variáveis analisadas ao longo do cultivo.

O uso de espécies do gênero *Urochloa* como planta multiplicadora de FMAs já é amplamente conhecido, no entanto, ainda é incipiente o volume de informação que estuda as

interações dos diferentes FMAs para colonização micorrízica e multiplicação de esporos em coleção de culturas de FMAs. Portanto, os resultados do presente estudo indicam que há necessidade de mais informação, referente a compreensão das relações simbióticas entre as diferentes espécies de FMAs associados ao mesmo hospedeiro. E que esses dados possa contribuir para otimizar a multiplicação e manutenção das diferentes espécies de FMAs associadas ao gênero *Urochloa*.

4 CONCLUSÕES

A *A. colombiana* apresentou a maior colonização micorrízica em menos tempo de cultivo, atingindo a estabilização aos 76 dias.

A *U. brizantha* foi mais eficiente para multiplicação dos esporos de *A. longula* e *A. colombiana* com 120 dias de cultivo.

Para *A. morrowiae*, *P. occultum* e *G. margarita* é necessário um tempo maior que 120 dias de cultivo, para o estabelecimento da simbiose.

A *G. margarita* apresentou baixo número de esporos, colonização micorrízica, menor teor de glomalina e efeito no crescimento das plantas de *U. brizantha*

A *G. margarita* e *P. occultum* não atingiram a máxima colonização micorrízica e densidade de esporos, indicando ser necessário um período maior que 120 dias para multiplicação desses FMAs associados a *U. brizantha*.

REFERÊNCIAS

- AHMAD, M.; AL-RADDAD. Mass production of **Glomus mosseae** spores. **Mycorrhiza**, 5:229-231 p. 1995.
- ALLEN, M.F. **The ecology of mycorrhizae**. New York. Academic Press. 1991.
- ASSIS, P. C. R.; SAGGIN-JÚNIOR, O. J.; PAULINO, H. B.; STÜRMER, S. L.; SIQUEIRA, J. O.; CARNEIRO, M. A. C. Fungos micorrízicos arbusculares em campos de murundus após a conversão para sistemas agrícolas no cerrado. **Revista Brasileira de Ciencia do Solo**, (38):1703-11, 2014.
- BRADFORD, M. M. A. rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Anal Biochemistry**, (72):248-54, 1976.
- BUCKING, H.; MENSAH, J. A.; FELLBAUM C.R. Common mycorrhizal networks and their effect on the bargaining power of the fungal partner in the arbuscular mycorrhizal symbiosis. **Communicative e Integrative Biology**, v. 9, n. 1, 2016,
- CARNEIRO, M. A. C.; SIQUEIRA, J. O.; VALE, F. R.; CURI, N. Efeito da inoculação e fungos micorrízicos arbusculares e da aplicação de fósforo no estabelecimento de forragens em solo degradado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 34, p.1669-77, 1999.
- CARNEIRO, M. A. C.; FERREIRA, D. A; SOUZA, E. D.; PAULINO, H. B.; SAGGIN JUNIOR, O. J.; SIQUEIRA, J. O. Arbuscular mycorrhizal fungi in soil aggregates from fields of “murundus” converted to agriculture **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 50, n. 4, p. 313-321, 2015.
- COELHO, I. R.; PEDONE-BONFIM, M. V. L.; SILVA, F. S. B.; MAIA, L. C. Optimization of the production of mycorrhizal inoculum on substrate with organic fertilizer. **Braz J Microbiol**, v. 45 p. 1173-8, 2014.
- CORDEIRO, M. A. S.; CARNEIRO, M. A. C.; PAULINO, H. B.; SAGGIN JUNIOR, O. J. Colonização e densidade de esporos de fungos micorrízicos em diferentes sistemas de manejo em dois solos de cerrado. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 35, p. 129-135, 2005.
- CORNIS, D. GLOMLIN. Hiding place for a third of the world’s stored soil carbon. **Agricultural Research**, n.50, p. 4-16, 2002.
- DALPE, Y.; SEGUIN, S. A “paper bridge” system to improve in-vitro propagation of arbuscular mycorrhizal fungi. **Botany**, n. 88, p. 617–620, 2010.
- DECLERCK, S.; STRULLU, D. G.; PLENCHETTE, C.; Monoxenic culture of the intraradical forms of *Glomus* sp. isolated from a tropical ecosystem: a proposed methodology for germplasm collection. **Mycologia**, n. 90, n. 4, p. 579-585, 1998.

DECLERCK, S.; FORTIN, A.; STRULLU, DÉSIÉ-GEORGES. **In Vitro Culture of Mycorrhizas**. In: Declerck, S.; Sylvie Séguin, S.; Dalpé, Y. *The Monoxenic Culture of Arbuscular Mycorrhizal Fungi as a Tool for Germplasm Collections*. *Soil Biology*, v. 4, p. 17-30, 2005.

DOUDS, D. D. JR.; NAGAHASHI, G.; HEPPELRY, P. R. On-farm production of inoculum of indigenous arbuscular mycorrhizal fungi and assessment of diluents of compost for inoculum production. **Biores Technol.** n.101, p. 2326–2330, 2010.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA (**EMBRAPA**). Sistema brasileiro de classificação de solos, 3a edição revista e ampliada. Embrapa, Brasília, 2013.

FERREIRA, D. A.; CARNEIRO, M. A. C.; SAGGIN-JUNIOR, O. J. Fungos Micorrízicos Arbusculares em um Latossolo Vermelho sob Manejos e Usos no Cerrado. **Revista Brasileira de Ciencia do Solo**, v. 36, p. 51-61, 2012.

FERREIRA, D. F. Sisvar. A computer statistical analysis system. **Ciencia e Agrotecnologia**, n. 35, p. 1039-42, 2011.

GAZEY, C.; ABBOTT, K. K.; ROBSON, A. D. VA mycorrhizal spores from 3 species of Acaulospora-germination, longevity and hyphal growth. **Mycological Research**, n. 97, p. 785-790, 1993.

GERDEMANN, J. W.; NICOLSON, T. H. Spores of mycorrhizal Endogone species extracted from soil by wet sieving and decanting. **Transactions of the British Mycological**, n. 46, p. 235-44, 1963.

GIOVANNETTI, N.; MOSSE, B. An evaluation of techniques to measure vesicular-arbuscular infection in roots. **New Phytologist**, n. 84, p. 489-500, 1980.

HEIJDEN, C. D.; MARCEL, G. A.; E. T, A. I. "Mycorrhizal fungal diversity determines plant biodiversity, ecosystem variability and productivity." **Nature**, n. 69, p. 396-6706, 1998.

HOOGLAND, D. C.; ARNON, D. I. The water culture method of growing plants without soil. Berkeley: **University of California**, p. 32, 1950.

JENKINS WR. A rapid centrifugal-flotation technique for separating nematodes from soil. **Plant disease reporter**, n. 48, p. 692, 1964.

KLIRONOMOS, J. N.; ALLEN, M. F.; RILLIG, M. C.; PIOTROWSKI, J.; MAKVANDI-NEJAD, S.; WOLFE, B.E.; POWELL, J. R. Abrupt rise in atmospheric CO₂ overestimates community response in a model plant-soil system. **Nature**, v. 433 n. 7026, p. 621–624, 2005.

LAL, R.; LOGAN, J. **Agricultural activities and greenhouse gas emissions from soils of the tropics**. In: LAL, R.; KIMBLE, J.M.; LEVINE, E.; STEWART, B.A. editors. *Soil management greenhouse effect*. Boca Roton: CRC Press, 293-307, 1995.

MIRANDA, E. M.; SAGGIN-JÚNIOR, O. J.; SILVA, E. M. R. Seleção de fungos micorrízicos arbusculares para o amendoim forrageiro consorciado com braquiária. **Pesquisa agropecuária brasileira, Brasília**, n. 43, p. 1185-91, 2008.

MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e bioquímica do solo**. Lavras: Editora UFLA, p.729, 2006.

OEHL, F.; EWALD, SIEVERDING, E.; INEICHEN, K; MÄDER, P.; WIEMKEN, A.; BOLLER, T. Distinct sporulation dynamics of arbuscular mycorrhizal fungal communities from different agroecosystems in long-term microcosms. **Agriculture, ecosystems & Environment**, n. 134, p. 257-68, 2009.

OEHL, F.; SYKOROVA, Z.; REDECKER, D.; WIEMKEN, A.; SIEVERDING, E. *Acaulospora alpina*, a new arbuscular mycorrhizal fungal species characteristic for high mountainous and alpine regions of the Swiss Alps. **Mycologia**, n. 98, p. 86-94, 2006.

PARNISKE, M. Arbuscular mycorrhiza: the mother of plant root endosymbioses. **Nature Reviews Microbiology**, n. 6, p. 763-75, 2008.

PHILLIPS, J. M.; HAYMAN, D. S. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. **Transactions of the British mycological Society**, 55, p. 158-61, 1970.

PURIN, S. **Fungos micorrízicos arbusculares: atividade, diversidade e aspectos funcionais em sistemas de produção de maçã**. 152 f. Dissertação (Mestrado) – Ciência do Solo, Universidade do Estado de Santa Catarina – UDESC, Lages 2005.

RILLIG, M. C.; WRIGHT, S. F.; KIMBALL, B. A. PINTER, P. J.; WALL, G. W.; OTTMAN, M. J.; LEAVITT, S. W. Elevated carbon dioxide and irrigation effects on water stable aggregates in a *Sorghum* field: a possible role for arbuscular mycorrhizal fungi. **Global Change Biology**, n. 7, p. 333-7, 2001.

SCHLEMPER, R. T.; STURMER, S. L. On farm production of arbuscular mycorrhizal fungi inoculum using lignocellulosic agrowastes. **Mycorrhiza**. n. 24, p. 571–580, 2014.

SCHWENDEMANN, A. B.; TAYLOR, T. N.; TAYLOR, E. L.; KRINGS, B. M. L.; DOTZLER, B. N. Combresomyces cornifer from the Triassic of Antarctica: Evolutionary stasis in the Peronosporomycetes. **Review of Palaeobotany and Palynology**, n. 154, p.1–5, 2009.

SELVAKUMAR, G.; SHAGO, C. C.; KANG, Y.; CHUNG, B. N.; GAB, H. S.; SA T.-M. Arbuscular mycorrhizal fungi spore propagation using single spore as starter inoculum and a plant host. **Journal of applied**. p. 1-27, 2018.

SIQUEIRA, J. O.; FRANCO, A. A. **Biotechnology do solo: fundamentos e perspectivas**. Brasília: MEC/ ABEAS/Lavras: ESAL/FAEPE. p. 236, 1988.

SIQUEIRA, J. O.; KLAUBERG-FILHO, O. Micorriza arbuscular: A pesquisa brasileira em perspectivas. **Tópicos Ciência do Solo**, n.1, p. 235-64, 2002.

- SIQUEIRA, J. O.; SOUZA, F. A.; CARDOSO, E. J. B. N.; TSAI, S. T. **Micorrizas: 30 anos de pesquisa no Brasil**. Lavras: Editora UFLA, v.1, p.279-310, 2010.
- SMITH, S. E.; READ, D.J. *Mycorrhizal Symbiosis*. London: **Academic Press**, p.787, 2008.
- SMITH, S. E.; READ, D.J. *Mycorrhizal Symbiosis*. Second Edition. Academic Press - San Diego. p. 605, 1997.
- SOIL SURVEY STAFF. **Soil taxonomy**: a basic system of soil classification for making and interpreting soil surveys. Natural Resources Conservation Service. Department of Agriculture, United States, 1999.
- STÜRMER, S. L.; KLAUBERG FILHO, O.; HERING DE QUEIROZ, GM. H.; Margarida Matos de Mendonça. Occurrence of arbuscular mycorrhizal fungi in soils of early stages of a secondary succession of Atlantic Forest in South Brazil. **Acta bot. Bras**, v. 20, n. 3, 513-521, 2006.
- STÜRMER, S. L.; SIQUEIRA, J. O. **Fungos micorrízicos**. In: Moreira FMS, editor. *O Ecossistema Solo*. Lavras: UFL. 291-310, 2013.
- STÜRMER, S. L.; SIQUEIRA, J. O. Species richness and spore abundance of arbuscular mycorrhizal fungi across distinct land uses in western Brazilian Amazon. **Mycorrhiza**, n. 21, p. 255-67, 2011.
- TISDALL, J. M. Fungal Hyphae and Structural Stability of Soil. **Aust. J. Soil Res.**, 29, 729-43, 1991.
- WANG, ZHI-GANG; BI, YIN-LI; JIANG, BIN; ZHAKYPBEK, Y.; PENG, SU-PING; LIU, WEN-WEN; LIU, H. Arbuscular mycorrhizal fungi enhance soil carbon sequestration in the coalfields, northwest China. **Scientific Reports**. n. 6, p. 34336, 2016.
- WRIGHT, S. F.; NICHOLS, K. A. Glomalin: hiding place for a third of the world's stored soil carbon. **Agricultural Research**, n. 50, p. 4-7, 2002.
- WRIGHT, S.; UPADHYAYA, A. A survey of soils for aggregate stability and glomalin, a glycoprotein produced by hyphae of arbuscular mycorrhizal fungi. **Plant and soil**, n. 198, p. 97-107, 1998.

ARTIGO 2

DIFERENTES FUNGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES ASSOCIADOS COM *Urochloa brizantha* (A. Rich.) Stapf INFLUENCIAM A ESTABILIDADE DE AGREGADOS DO SOLO?

Marisângela Viana Barbosa⁽¹⁾, Daniela de Fátima Pedroso⁽²⁾, Marco Aurélio Carbone Carneiro⁽³⁾

¹Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo - DCS, Universidade Federal de Lavras – UFLA, Lavras – MG, Brasil. * e-mail: mvarbosa10@gmail.com

² Engenharia Ambiental, Bolsista de Iniciação Científica PIBIC/FAPEMIG, pelo Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo - DCS, Universidade Federal de Lavras – UFLA, Lavras – MG, Brasil.

³Professor Titular do Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo - DCS, Universidade Federal de Lavras – UFLA, Lavras – MG, Brasil.

RESUMO

A estrutura é uma das propriedades mais importantes do solo, composta pelo arranjo das partículas e do espaço poroso entre elas formando os agregados, os quais compõem a estrutura do solo. Esses são influenciados pelas relações ecológicas que exercem efeito importante na melhoria e equilíbrio das áreas cultivadas. Entre as relações ecológicas existentes, destacam-se os fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) que auxiliam no processo de formação e estabilidade de agregados do solo. Nesse contexto, o objetivo desse estudo foi avaliar a inoculação de diferentes FMAs associados com *Urochloa brizantha* (A. Rich.) Stapf e seus efeitos na estabilidade de agregados do solo. O estudo foi conduzido em casa de vegetação, utilizando Latossolo Vermelho distrófico (LVd) e areia lavada, na proporção de 2:1 (v/v). Para tanto, foram utilizados sete tratamentos: cinco FMAs (*Acaulospora colombiana*, *Acaulospora longula*, *Acaulospora morrowiae*, *Paraglomus occultum* e *Gigaspora margarita*) associados com *U. brizantha*; os tratamentos com planta sem inoculação e com apenas o solo, em delineamento inteiramente casualizado com 5 repetições. O experimento foi conduzido durante 180 dias, avaliando: o comprimento raiz (CR), massa seca parte aérea (MSPA) e raiz (MSR); o número de esporo (NE); colonização micorrízica (COL); comprimento do micélio extrarradicular (CM); produção de proteína do solo relacionada à glomalina facilmente extraível (PSRG), no solo e nas classes (interior) de agregados; a estabilidade de agregados via seco (s) e imerso em água (u), através do diâmetro médio geométrico (DMG) e diâmetro médio ponderado (DMP) e o Índice de Estabilidade de Agregados do solo (IEA). Foi observado incrementos na MSPA para inoculação com *A. longula*, *A. morrowiae* e *P. occultum*, maior NE para *A. longula* e menor COL para *G. margarita*, não havendo efeito dos FMAs para CR e MSR. A inoculação com *A. colombiana* apresentou o maior CM, DMGu e produção de PSRG no agregados com $\varnothing > 2,0\text{mm}$, e para *A. colombiana* e *A. morrowiae* nos agregados com $\varnothing < 0,105\text{mm}$, quando comparadas ao tratamento sem inoculação. Não havendo influência dos FMAs para PSRG nos agregados com $2,0 > \varnothing \geq 0,25\text{mm}$ e nas amostras do solo. Foi verificado uma contribuição importante das raízes de *U. brizantha* para o IEA, cujo ação das raízes é potencializada pela inoculação com FMAs. Esses resultados mostram o efeito importante que a simbiose micorrízica exerce no processo de formação e estabilidade dos agregados do solo.

Palavras-chave: FMAs. *Urochloa brizantha*. Micélio extrarradicular. Agregação. Estrutura.

ABSTRACT

The structure is one of the most important properties of the soil, composed of the arrangement of the particles and the porous space between them forming the aggregates, which make up the structure of the soil. These are influenced by ecological relationships that have an important effect on the improvement and balance of cultivated areas. Among the existing ecological relationships, arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) are important to assist in the formation and stability of soil aggregates. In this context, the objective of this study was to evaluate the inoculation of different AMF associated with *Urochloa brizantha* (A. Rich.) Stapf and their effects on soil aggregate stability. The study was conducted in a greenhouse, using Latossolo Vermelho distrófico (LVd) and washed sand, in a ratio of 2: 1 (v / v). Seven treatments were used: five FMAs (*Acaulospora colombiana*, *Acaulospora longula*, *Acaulospora morrowiae*, *Paraglomus occultum* and *Gigaspora margarita*) associated with *U. brizantha*; treatments with no inoculation and with soil only, in a completely randomized design with 5 replicates. The experiment was conducted during 180 days, evaluating: root length (CR), aerial dry mass (MSPA) and root (MSR); spore number (NE); Mycorrhizal colonization (COL); extraradicular mycelium length (CM); production of soil protein related to easily extractable glomalin (PSRG), in the soil and in the (interior) classes of aggregates; the stability of aggregates through dry (s) and immersed in water (u), through the geometric mean diameter (DMG) and weighted average diameter (WMD) and the Soil Aggregate Stability Index (IEA). Increases in MSPA were observed for inoculation with *A. longula*, *A. morrowiae* and *P. occultum*, higher NE for *A. longula* and lower COL for *G. margarita*, with no effect of FMAs for CR and MSR. The inoculation with *A. colombiana* presented the highest MC, DMG and PSRG production in the aggregates with $\varnothing > 2.0\text{mm}$, and for *A. colombiana* and *A. morrowiae* in the aggregates with $\varnothing < 0.105\text{mm}$, when compared to the treatment without inoculation. There was no influence of the FMAs for PSRG in the aggregates with $2.0 > \geq 0.25\text{ mm}$ and in the soil samples. An important contribution of the roots of *U. brizantha* to the IEA was verified, whose root action is potentialized by inoculation with FMAs. These results show the important effect that mycorrhizal symbiosis exerts on the formation process and stability of the soil aggregates.

Keywords: FMAs. *Urochloa brizantha*. Extraradicular mycelia. Aggregation. Structure.

1 INTRODUÇÃO

A estrutura é considerada uma das propriedades mais importantes do solo, por ser determinante do desenvolvimento das plantas e da atividade e equilíbrio da biota, resultando numa influência direta na qualidade do solo (MARSHALL, 1962; LEHMANN et al., 2017). A formação da estrutura envolve processos diferentes e complementares, que são resultado das interações dos agentes cimentantes e flocculantes com as partículas sólidas do solo (CHAVES; CALEGARI, 2001). O arranjo das partículas e do espaço poroso entre elas formam os agregados, os quais compõem a estrutura do solo (MARSHALL, 1962; LEHMANN et al., 2017).

Uma boa estrutura fornece bases sólidas para o armazenamento e estabilidade do carbono orgânico do solo. Apresentam agregados estáveis e poros, com tamanhos e formas diferentes, que favorecem a aeração do solo, o armazenamento e circulação de água. Tem, portanto, controle dos processos erosivos, maior disponibilidade de nutrientes/fertilidade e permite o estabelecimento de relações ecológicas diversas (SIQUEIRA et al., 1994; BASTOS et al., 2005; LEHMANN et al., 2017). A melhor estrutura do solo favorece o crescimento das raízes eo aumento da atividade biológica e este ciclo se perpetua por meio da liberação de exsudatos ou da morte das raízes e microrganismos, que resulta na entrada de agentes cimentantes húmicos, polissacarídeos, hemicelulose, glomalina, etc. fortalecendo os agregados do solo (TISDALL; OADES, 1982; RILLIG et al., 2010; LEHMANN et al., 2017).

O papel da atividade microbiana na estabilidade de agregado, associado aos benefícios que os microrganismos exercem no crescimento das plantas, têm contribuído para aumentar o interesse da inoculação de grupos microbianos, visando a melhoria da estabilidade dos agregados nos solos agrícolas e a promoção do crescimento vegetal. Entre esses grupos de microrganismos destacam-se os fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) que exercem efeitos importantes na dinâmica de formação e estabilização dos agregados e promove acentuados benefícios nutricionais, de suporte a estresses diversos e promoção de crescimento às plantas (ALLEN, 1991; SIQUEIRA et al., 1994; MOREIRA; SIQUEIRA, 2006; PARNISKE, 2008).

A influência dos FMAs na agregação é atribuída principalmente às hifas extrarradiculares e à produção de glomalina (SIX et al., 2004; PURIN; RILLIG 2007; PARNISKE, 2008; LEHMANN et al., 2017). As hifas favorecem a agregação através da orientação das partículas de argila durante o crescimento dos micélios fúngicos, pela cimentação destas partículas com a exsudação de polissacarídeos e glomalina e pelo efeito

(mecânico) de pressão e enredamento das partículas formando microestrutura/microagregados adjacente aos micélios (DORIOZ et al., 1993; RILLIG, 2004; BEDINI et al., 2009; SIQUEIRA et al., 2010). Desta forma, as hifas extrarradiculares são consideradas a principal “propriedade” dos FMAs que contribui para a formação dos agregados e estabilidade estrutural do solo (SIX et al., 2004; PURIN; RILLIG 2007; LEHMANN et al., 2017; RILLIG et al., 2017).

O crescimento e extensão das hifas fúngicas e a produção de glomalina dependem das espécies de FMAs envolvidas, à medida que diferentes espécies podem produzir micélios extrarradiculares e glomalina de tamanhos e quantidades distintas (OEHL et al., 2009; HART; READER, 2002). Essas características estão relacionadas às diferenças intrínsecas das espécies de FMAs e aos efeitos da planta e do ambiente sobre elas (WRIGHT; NICHOLS, 2002; HART; READER, 2002; SOUSA et al., 2012; PIOTROWSKI et al., 2004; ENKHTUYA; VOSATKA, 2005; KLIRONOMOS et al., 2005).

Nesse contexto, o objetivo desse estudo foi avaliar a inoculação de diferentes espécies de fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) associadas com *Urochloa brizantha* (A. Rich.) Stapf e seus efeitos na estabilidade de agregados do solo.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi conduzido em casa de vegetação do Departamento de Ciência do Solo da Universidade Federal de Lavras – UFLA, em delineamento inteiramente casualizado (DIC) com sete tratamentos: sendo cinco espécies de FMAs (*Acaulospora colombiana*, *Acaulospora longula*, *Acaulospora morrowiae*, *Paraglomus occultum* e *Gigaspora margarita*); o tratamento com planta sem inoculação e o tratamento com apenas o solo (sem plantas e sem inoculação), com 5 repetições. O tratamento com ausência de plantas foi utilizado para avaliar o efeito positivo da presença das raízes (associadas ou não a inoculação) sobre a agregação do solo. As espécies de FMAs utilizadas nesse estudo estão depositadas na coleção de culturas de FMAs do Departamento de Ciência do Solo/UFLA.

O substrato utilizado nesse estudo foi preparado com a mistura na proporção de 2:1 (v/v) de areia lavada e um *Latosolo Vermelho distrófico típico* (EMBRAPA, 2013), correspondente ao Oxisol (SOIL SURVEY STAFF, 1999). A caracterização química do substrato apresentou: pH (água) = 5,4; H+Al= 2,9 cmol_c dm⁻³; Ca= 1,70 cmol_c dm⁻³; Mg = 0,10 cmol_c dm⁻³; K= 18 mg dm⁻³; P= 1,13 mg dm⁻³; MO= 2,11 dag kg⁻¹. E para análise física foi observado uma textura argilosa com 41 dag kg⁻¹ da fração argila, 53 dag kg⁻¹ da fração areia e 6 dag kg⁻¹ da fração silte. O substrato foi autoclavado a 121 °C durante 1 h por 2 dias consecutivos, em seguida, foi acondicionado em vasos com capacidade para 1 kg.

Foi realizada a inoculação a 5 cm de profundidade no vaso, utilizando solo-inóculo proporcional a fornecer a densidade de 150 esporos por vaso, além das hifas e raízes colonizadas que também atuam como propágulos infectivos do FMAs. A semeadura foi realizada utilizando sementes de *Urochloa brizantha* (A. Rich.) Stapf, as quais foram desinfestadas em solução de hipoclorito de sódio a 0,5 % (v/v) durante 5 min, lavadas com água destilada. Foram semeadas 20 sementes por vaso, realizando desbaste 15 dias após a germinação mantendo 10 plantas por vaso. Durante a condução do experimento foram aplicados 20 mL da solução de Hoagland e Arnon (1950) em cada vaso, a cada 15 dias. A solução nutritiva era composta de N, P e K nas concentrações de 210 mg L⁻¹ de N, 234 mg L⁻¹ de K e 15,05 mg L⁻¹ de P correspondente a 50 % da concentração do P recomendada. Os vasos foram casualizados e mantendo o substrato com umidade considerando 60 % do volume total de poro VTP.

O estudo foi conduzindo durante 180 dias, sendo realizadas avaliações no solo e nas plantas, analisando: comprimento raiz (CR), massa seca parte aérea (MSPA) e raiz (MSR), número de esporos (NE); colonização micorrízica (COL); comprimento do micélio

extrarradicular (CM); produção de proteína do solo relacionada à glomalina facilmente extraível (PSRG), no solo e nas classes (interior) de agregados; a estabilidade de agregados, por meio do diâmetro médio geométrico (DMG) e diâmetro médio ponderado (DMP) e o Índice de Estabilidade de Agregados do solo (IEA).

O número de esporos foi quantificado após sua extração de 50 mL do substrato pela técnica do peneiramento úmido (GERDEMANN; NICOLSON, 1963) e centrifugações em água e solução de sacarose (JENKINS, 1964). A contagem foi realizada diretamente em placas reticuladas em estereoscópico.

A colonização micorrízica foi quantificada em amostras de 1g de raízes finas. As raízes foram lavadas, diafanizadas com KOH (10%) e H₂O₂, acidificadas com HCl (1%) e coradas com azul de Tripano em lactoglicerol (0,05%) (PHILLIPS; HAYMAN, 1970). A quantificação foi pela técnica de interseção em placas reticuladas (GIOVANNETTI; MOSSE, 1980; PHILLIPS; HAYMAN, 1970).

A quantificação do comprimento do micélio extrarradicular (CM) do solo, foi determinada pelo método proposto por Melloni e Cardoso (1999). Para tanto, foram utilizados 10 g de solo suspenso em um volume de 1,5 L de água, em seguida o sobrenadante foi transferido para peneiras sobrepostas (710 e 180 µm). O extrato obtido foi agitado em liquidificador durante 30 s na menor velocidade, deixado em repouso por 2 min, retirada uma alíquota de 500 mL do sobrenadante e filtrada novamente em peneira de 45 µm. O extrato obtido foi coletado utilizando água destilada num volume de 11 mL, em seguida retirado uma alíquota de 5 mL do extrato, adicionado 5 mL de uma solução de diacetato de fluoresceína-FDA por 5 min, e corada por 10 min com 2 mL de Azul de Tripán 0,05 % (aquecido por 15 s em micro-ondas). Em seguida submetida à filtração a vácuo (em conjunto Kitassato) utilizando membrana de triacetato de celulose, com diâmetro de 4,7 mm e porosidade de 0,45 µm. Logo após, foi realizada a avaliação em microscópio utilizando um aumento de 50x.

O comprimento do micélio foi determinado utilizando a equação a seguir:

$$C = [(0,23562 \times N) / (10-U)]$$

Onde,

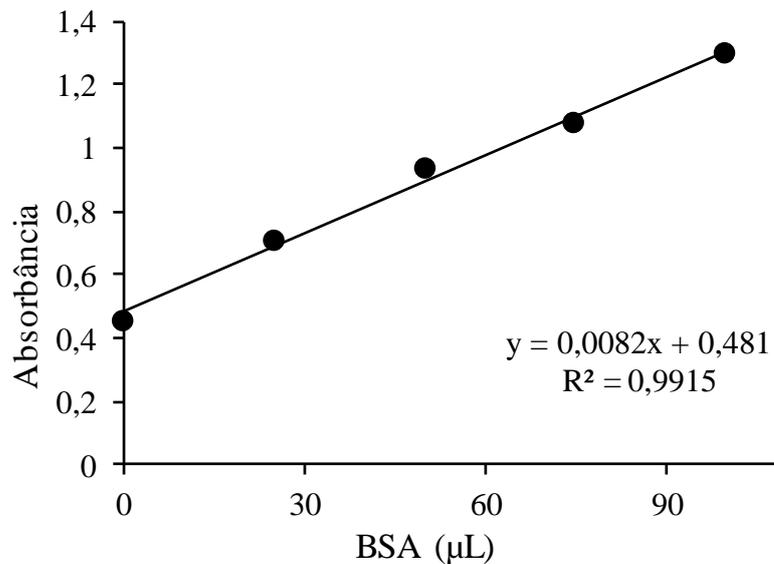
C = comprimento de micélio no solo seco (m g⁻¹ de solo);

N = soma do número de interseções entre as hifas verticais e linhas horizontais do gride, e;

U = umidade da amostra de solo (g de água).

A concentração de proteína do solo relacionada à glomalina facilmente extraível – PSRG foi determinada utilizando o método proposto por Wright e Upadhyaya (1998). Para tanto, foi utilizada amostras de 1 g de solo adicionado 8 ml de solução de citrato de sódio (20 mM a pH 7,2), autoclavada por (121°C) por 30 minutos, seguida de centrifugação (3.200rpm/20 minutos), sendo obtido o extrato da PSRG das amostras do solo e dos agregados (WRIGHT; UPADHYAYA, 1998; BRADFORD, 1976). Em seguida, os sobrenadantes foram quantificados em espectrofotômetro pelo método de Bradford, e determinado as concentrações de PSRG (mg g^{-1} solo) utilizando a equação da curva padrão (Figura 1). A qual foi obtida por meio da Albumina Bovina Sérica (BSA) como proteína padrão purificada (PURIN, 2005).

Figura 1 - Curva padrão obtida por meio de diferentes concentrações (μL) de Albumina Bovina Sérica (BSA) como proteína padrão. Sendo utilizada a equação da curva padrão, para quantificar a produção de proteína do solo relacionada à glomalina, facilmente extraível - PSRG.



Fonte: Da autora.

A estabilidade dos agregados do solo foi determinada segundo Kemper e Chepil (1965), utilizando os parâmetros de diâmetro médio geométrico (DMG) e diâmetro médio ponderado (DMP). Para tanto, foi determinado a distribuição de agregados do solo, utilizando os métodos indiretos: através do peneiramento dos agregados pré-umedecimento (via úmida) e o método de peneiramento dos agregados secos (via seco). Esses métodos permitem inferir sobre os efeitos da erosão eólica (via seca) e da erosão hídrica (via úmida) na estabilidade dos agregados que influenciam na estrutura do solo.

Para determinação do tamanho dos agregados, o solo foi previamente seco ao ar e peneirado em malha de 8,0 e 4,76 mm. Em seguida, os agregados retidos na malha de 4,76 mm foram pesados 25 g e utilizados para determinação do DMG e DMP. As amostras foram submetidas ao pré-umedecimento (via úmida) durante 15 min, antes do procedimento de “fracionamento” dos agregados. O solo com e sem o pré-umedecimento foi adicionado no conjunto de peneiras de malhas ($\emptyset \geq 2,0$; $2,0 > \emptyset \geq 0,25$ e $\emptyset < 0,105$ mm), adaptado a um dispositivo mecânico de vibração (Solo Teste PBX 289-0211SP), segundo a metodologia de Yoder (1936). O material retido em cada peneira foi classificado em macroagregados ($\emptyset \geq 2,00$ mm), mesoagregados ($2,0 > \emptyset \geq 0,25$ mm), e microagregados ($\emptyset < 0,105$ mm), partir dos quais foram determinados o DMG, DMP e o IEA.

O DMG e DMP foram obtidos em (mm) utilizando as seguintes equações (KEMPER; CHEPIL, 1965), onde X_i é diâmetro médio das classes (mm) e W_i é a proporção de cada classe em relação ao peso total (%):

$$DMP = \sum_{i=1}^n (x_i \cdot w_i) \quad DMG = \exp \left[\frac{\sum_{i=1}^n w_i \log x_i}{\sum_{i=1}^n w_i} \right]$$

Após esses procedimentos fracionamento do solo, os agregados retidos nas peneiras de malhas ($\emptyset > 2,0$ mm) macroagregados, ($2,0 > \emptyset \geq 0,25$ mm) mesoagregados e ($\emptyset < 0,105$ mm) microagregados, foram utilizados para a determinação do teor de PSRG facilmente extraível do interior dos agregados.

E para o Índice de Estabilidade de Agregados utilizou-se a seguinte equação, de acordo com Silvia e Mielniczuk (1997).

$$IEA = \frac{DMP_u}{DMP_s}$$

Em que:

IEA = Índice de estabilidade de Agregados;

DMP_u = Diâmetro médio ponderado, obtido pelo peneiramento úmido (mm);

DMP_s = Diâmetro médio ponderado, obtido pelo peneiramento seco (mm);

De posse dos dados, foi realizada a normalização da distribuição. Os dados de colonização micorrízica e número de esporos foram transformados para Log (x+1). Em

seguida realizou-se a análise variância (ANOVA) e as médias foram comparadas por meio do teste Tukey a 5 % de probabilidade, utilizando o software SISVAR (FERREIRA, 2011).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foi observada uma variação na resposta da inoculação dos diferentes FMAs associados às plantas de *U. Brizantha*, fato que indica que a eficiência simbiótica depende da interação fungo/planta e das características intrínsecas de cada espécie de FMAs (KLIRONOMOS et al., 2005; PARNISKE, 2008). As características de cada espécie fúngica, confere um maior ou menor efeito do FMAs associados à mesma espécie vegetal, seja por meio do grau de dependência micorrízica da espécie hospedeira, da qualidade e quantidade dos exsudatos liberados pelas plantas, ou ainda da fisiologia do FMAs (KLIRONOMOS, 2003; SILVEIRA; CARDOSO, 2004; OEHL et al., 2006; CAVALCANTE et al., 2009).

O resultado do presente estudo, mostra que houve efeitos distintos da inoculação com os diferentes FMAs para produção de massa seca parte aérea (MSPA), colonização micorrízica (COL) e número de esporos (NE) (Tabela 1). Por outro lado, não houve resposta da inoculação para o comprimento (CR) e massa seca das raízes (MSR). Nesse estudo foi observada maior resposta para as espécies do Gênero *Acaulospora* seguido pelo *P. occultum*. Normalmente, tem sido verificado uma melhor interação da inoculação com espécies de *Acaulospora*, que está relacionado com a ampla capacidade de adaptação do gênero as diferentes condições de cultivo (OEHL et al., 2006; STÜRMER; SIQUEIRA, 2011; ASSIS et al., 2014; FERREIRA et al., 2012). Portanto, a inoculação com espécies do gênero *Acaulospora* geralmente são mais responsivas, e exercem efeitos diversos nas diferentes espécies vegetais e no solo.

Tabela 1 - Avaliação da inoculação para: crescimento raiz - CR; massa seca raiz - MSR; massa seca parte aérea - MSPA; número de esporos - NE e colonização micorrízica das raízes - COL. De *U. Brizantha*, inoculadas com diferentes espécies de FMAs.

FMAs	CR	MSR	MSPA	NE	COL
	cm	(g vaso ⁻¹)	(g vaso ⁻¹)	50 dm ⁻³	(%)
<i>A. colombiana</i>	13,680 a	1,751 a	1,757 b	41 c	24,80 a
<i>A. longula</i>	14,966 a	1,428 a	2,281 a	423 a	33,80 a
<i>A. morrowiae</i>	14,200 a	1,726 a	2,200 a	36 c	21,80 a
<i>P. occultum</i>	14,866 a	1,340 a	2,290 a	138 b	30,00 a
<i>G. margarita</i>	12,790 a	1,452 a	1,469 b	10 d	5,40 b
S/FMAs	11,800 a	1,421 a	1,494 b	0	0
S/plantas	-----	-----	-----	-----	-----
CV (%)	14,49	30,21	24,57	14,06	8,7

As médias seguidas de mesma letra não diferem pelo teste Tukey a 5% de significância.

Fonte: Da autora.

A micorriza favorece a maior absorção de nutrientes, disponibilizando-os para as plantas e contribuindo para o incremento de nutriente parte aérea e raiz (CARNEIRO et al., 1999; SIQUEIRA et al., 2010; COSTA et al., 2012). A biomassa é resultante do aumento da atividade fotossintética das plantas, que favorece a absorção de nutrientes da solução do solo e o acúmulo de carbono e nutrientes na biomassa vegetal (parte aérea e raiz) (MONTAÑEZ, 2005). A formação de biomassa e o acúmulo e nutrientes são características importantes, particularmente, para produção de pastagens e forragens, visando o balanceamento nutricional da alimentação animal.

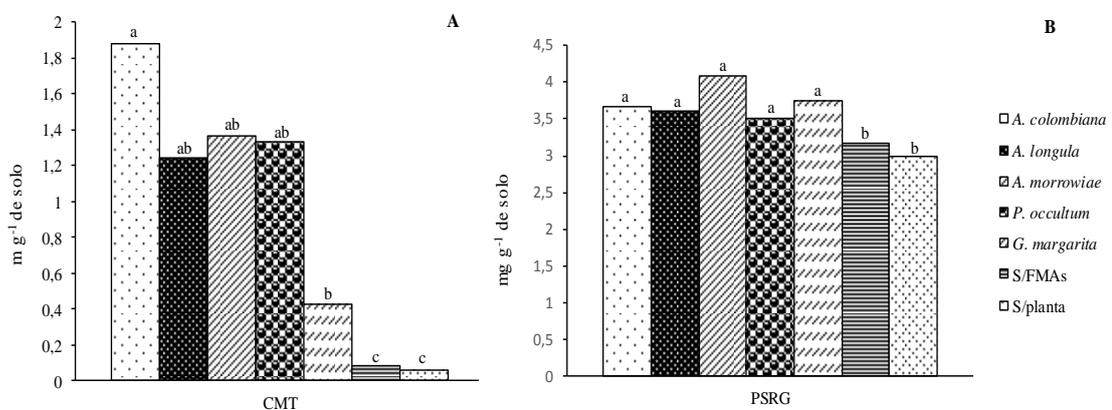
Para simbiose foi verificado que mesmo apresentando maior número de esporos (NE) para *A. longula* e *P. occultum*, não houve diferença para colonização micorrízica (COL) entre as espécies de *Acaulospora* e o *P. occultum* (Tabela 1). Por outro lado, a *G. margarita* apresentou menor NE, COL e desenvolvimento das plantas de *Urochloa*. Em estudo realizado por Miranda et al. (2008) também verificaram baixa colonização micorrízica 10,8% em plantas de *U. brizantha* cv. Marandu, quando inoculada com *G. margarita*. Os resultados do presente estudo mostram que nem sempre a maior esporulação resulta na maior colonização micorrízica. No entanto, a maior colonização geralmente está associada ao maior rendimento das plantas.

O comprimento do micélio extrarradicular (CM) também foi influenciado pelos diferentes FMAs inoculados (Figura 2A). Havendo maior destaque da *A. colombiana* que apresentou aumento de até 4,4 vezes quando comparada com a espécie *G. margarita* que teve o menor CM. Por outro lado, não houve diferença entre as espécies de *Acaulospora* e o *P. occultum* (Figura 2A). Para a produção de proteína do solo relacionada à glomalina (PSRG) não houve distinção entre os diferentes FMAs inoculados, no entanto, houve incremento de PSRG no solo quando comparado com o tratamento sem inoculação (Figura 2B). Esse incremento variou de 0,51 mg g⁻¹ de solo para *G. margarita* até 1,09 mg g⁻¹ de solo para *A. morrowiae*, quando comparado com o teor de PSRG do solo sem inoculação. Esse resultado ocorre devido o efeito residual/ recalcitrante da glomalina no solo, que foi produzida por espécies de FMAs nativas do solo antes da execução desse estudo (Figura 2B). A deposição de glomalina ao longo do tempo é uma característica importante, por exercer função relevante no processo de agregação do solo (DRIVER; HOLBEN; RILLIG, 2005; PURIN; RILLIG, 2007).

O comportamento dos FMAs para CM e PSRG observado nesse estudo está relacionado com as características inerente á espécie inoculada, que podem apresentar maior ou menor potencial de produção de hifas extrarradiculares e/ou produção de glomalina,

conforme a fisiologia do FMA (HART; READER, 2002; OEHL et al., 2006). Diversos estudos, também tem mostrado que a produção de glomalina é bastante variável, e depende da sua interação com o hospederio e dos sistemas de uso e manejo do solo, sendo menor em solos agrícolas do que em solos nativos ou não cultivados (SOUSA et al., 2012; VILELA et al., 2014; CARNEIRO et al., 2015; SOUZA et al., 2016).

Figura 2 - Comprimento do micélio extrarradicular - CM, (2A) e produção de proteína do solo relacionada à glomalina facilmente extraível - PSRG, (2B) de diferentes FMAs associados com plantas de *U. brizantha*.



Fonte: Da autora.

A glomalina é produzida em sua maioria nas camadas mais internas da parede das hifas e esporos e em menor proporção no citoplasma (WRIGHT; UPADHYAYA, 1996; PURIN; RILLIG, 2007). O acúmulo da glomalina no solo ocorre principalmente pela decomposição de hifas e esporos (> 80%) e fração produzida pelas hifas extrarradiculares em menor proporção (DRIVER; HOLBEN; RILLIG, 2005). No presente estudo foi observada uma elevada correlação positiva de ($r=0,69$, $p<0,05$) entre o CM e PSRG. Esses dados sugerem que quanto maior o comprimento do micélio, maior é a produção e o acúmulo de glomalina no solo.

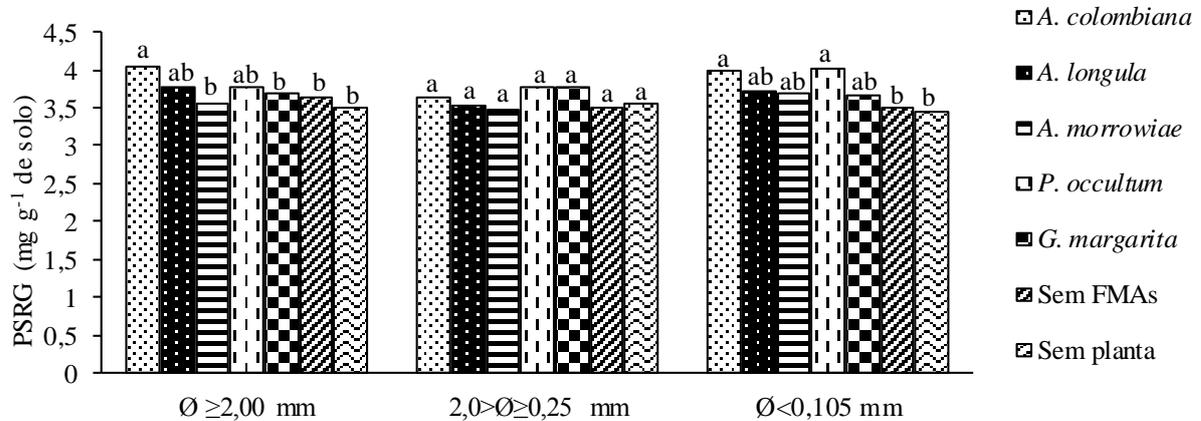
Esse efeito foi verificado no presente estudo para *A. colombiana*, a qual apresentou esporulação relativamente baixo com 41 esporos em 50 dm⁻³ de solo, por outro lado teve o maior CM, portanto, não diferindo das demais espécies inoculadas para a produção de PSRG (Tabela 1 e Figura 2A e 2B). Para *A. longula* e *P. occultum* foi verificado efeito inverso, no qual, as espécies apresentaram menor CM e maior NE com 423 e 138 esporos em 50 dm⁻³ de solo respectivamente, mostrando que a produção de PSRG está associada a esporulação, tendo

em vista, que a glomalina também é resultante da degradação dos esporos de FMAs (DRIVER; HOLBEN; RILLIG, 2005). Para *A. morrowiae* foi verificado baixa esporulação e CM, no entanto, não diferiu dos demais FMAs inoculados para produção de PSRG, que pode está associado a característica intrínsecas da espécie, uma vez que, *A. morrowiae* normalmente apresenta maior potencial de produção de glomalina (WRIGHT; NICHOLS, 2002). Por outro lado, a *G. margarita* apresentou baixo CM e NE (10 esporos em 50 dm⁻³ de solo), contudo, não diferiu das demais espécies para produção de PSRG, esse resultado sugere uma relação de proporção, tendo em vista, que os esporos da *G. margarita* é bem maior que os esporos das demais espécies estudadas, além disso, cada esporo da *G. margarita* emiti mais de um tubo germinativo favorecendo a produção da PSRG (Tabela 1 e Figura 2A e 2B).

No geral, foi verificado que houve maior incremento de glomalina nas amostras do solo para *A. morrowiae* quando comparado com o tratamento sem inoculação, a qual apresentou um incremento de até 2.180 kg de PSRG ha⁻¹, seguida pelo *P. occultum* com 1.500 kg de PSRG ha⁻¹, *A. colombiana* com 1.340 kg de PSRG ha⁻¹, *A. longula* com 1.240 kg de PSRG ha⁻¹ e pela *G. margarita* com 1.020 kg de PSRG ha⁻¹. Levando em consideração, que a glomalina tem em sua composição uma elevada quantidade de C, a inoculação com essas espécies de FMAs representam um incremento importante de C orgânico no solo (PENG et al., 2013; CAVALCANTI et al., 2009; SOUSA et al., 2012; RILLIG et al., 2017). Portanto, o manejo e uso do solo são de grande relevância para multiplicar e/ou manter os propágulos infectivos dos FMAs nativos do solo, de forma que, auxiliem para maior formação dos agregados, melhor estabilidade estrutural e equilíbrio funcional do solo.

Por outro lado, a produção de glomalina nas classes de agregados (interior dos agregados) houve maior destaque para inoculação com *A. colombiana* nos agregados com $\varnothing \geq 2\text{mm}$ (Figura 3). Esse resultado está associado ao maior CM verificado para a inoculação com *A. colombiana*, tendo em vista, que o micélio está diretamente relacionado com a agregação do solo, como verificado nesse estudo uma alta correlação positiva ($r=0,69$, $p<0,05$) entre o CMT e PSRG. Por outro lado, o efeito da inoculação para produção de PSRG nos agregados com $\varnothing < 0,105\text{mm}$, certamente ocorre mais por influência do acúmulo de glomalina, do que mesmo pelo CMT (Figura 3). Uma vez que, o comprimento dos micélios quase sempre está associado com a formação dos macroagregados do solo, enquanto os microagregados são formados sob influência das interações física-química do solo, que certamente está mais associada a produção de glomalina (DRIVER; HOLBEN; RILLIG, 2005; BRAIDA et al., 2011; SOUSA et al., 2012; LEHMANN et al., 2017).

Figura 3 - Produção de proteína do solo relacionada à glomalina (PSRG) facilmente extraível, avaliadas nas classes de agregados: macroagregados ($\text{Ø} > 2,0\text{mm}$), mesoagregados ($2,0 > \text{Ø} \geq 0,25\text{mm}$) e microagregados ($\text{Ø} < 0,105\text{mm}$). Sob influência das diferentes espécies de FMAs associadas às plantas de *U. brizantha*.



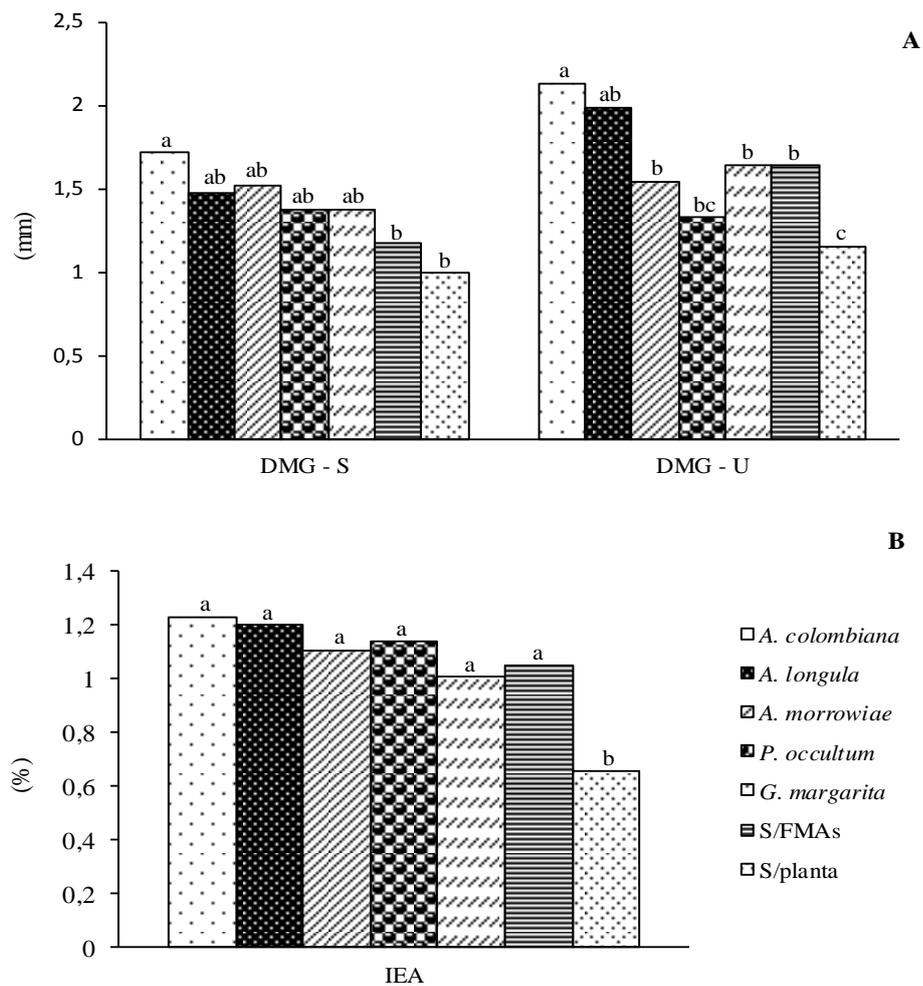
Fonte: Da autora.

Para a agregação do solo por meio dos parâmetros DMGu e DMGs foi verificado que não houve diferença entre as espécies inoculadas, no entanto, quando comparado a inoculação com o tratamento com planta e sem inoculação, também foi verificado maior destaque para *A. colombiana* (Figura 4A e 4B). Esse resultado mostra a importância dos micélios extrarradiculares dos FMAs na agregação do solo, tendo em vista, que a inoculação com *A. colombiana* também apresentou maior CM (Figura 2A). Por outro lado, não houve diferença para o IEA entre os FMAs inoculados e o tratamento com plantas e sem FMAs (Figura 4). Esse resultado reportam a importância das raízes de *Urochloa* na agregação do solo, e que a ação conjunta das raízes inoculadas com FMAs potencializam seus efeitos na agregação e estabilidade solo (TISDALL; OADES, 1982). A ação das hifas extrarradiculares exercem efeitos mecânico através do enredamento das partículas sólidas do solo e químico através da produção de glomalina, favorecendo a formação e estabilidade dos agregados do solo (WRIGHT; UPADHYAYA, 1998; RUBIN; STÜRMER, 2015; LEHMANN et al., 2017; RILLIG et al., 2017).

No geral o CM exerceu melhor efeito para DMG, resultado que foi verificado por meio da elevada correlação positiva ($r=0,91$, $p<0,05$) entre o CM e DMGs e uma correlação positiva ($r=0,51$, $p<0,05$) entre o CMT e o DMGu. Podendo ser observado pela inoculação com *A. colombiana* que apresentou maior CM e exerceu melhor efeito no DMGu e DMGs (Figura 2A e Figura 4A). Mostrando que os micélios exercem ação importante na proteção dos agregados contra os efeitos da energia cinética da água (DMGu) e da erosão eólica

(DMGs). Esse resultado também foi verificado em outros estudos, onde o crescimento extensivo de hifas extrarradiculares tem sido amplamente correlacionado com parâmetros de formação dos agregados do solo (WILSON et al., 2009).

Figura 4 – Diâmetro médio geométrico via seco - DMGs, diâmetro médio geométrico via úmido - DMGu – figura 4A e o IEA – índice de estabilidade de agregados figura 4B. Avaliação da inoculação das espécies de FMAs associadas com *U. Brizantha*.

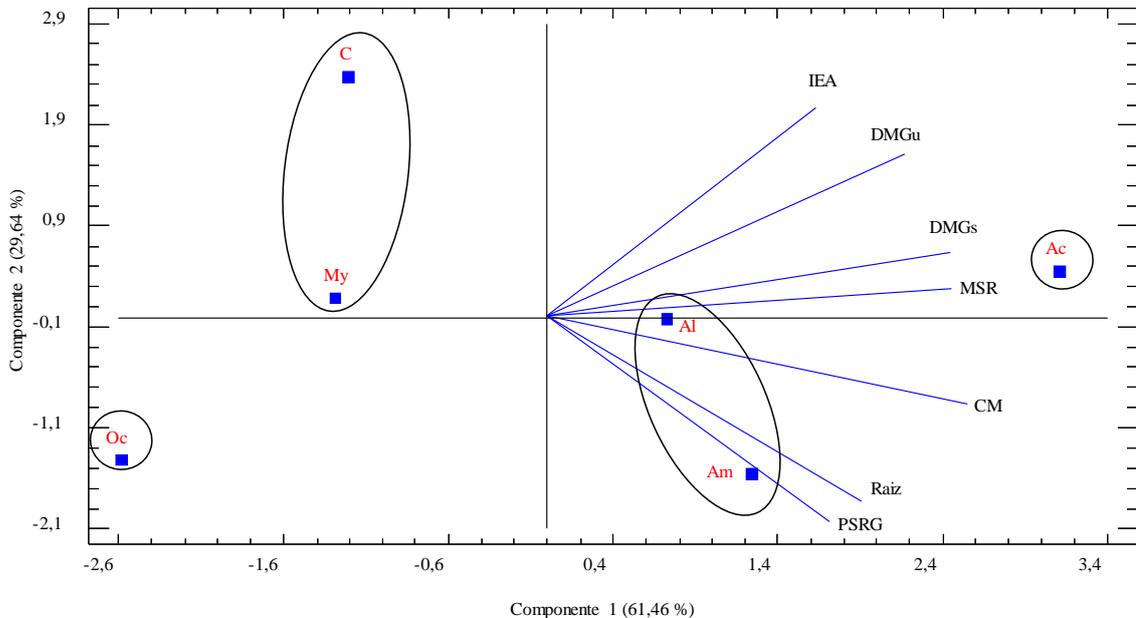


Fonte: Da autora.

Para o comprimento (CR) e massa seca das raízes (MSR) *U. brizantha* foi verificado que não houve diferença entre as espécies de FMAs inoculadas, contudo, foi verificado uma correlação positiva entre essas duas variáveis e o DMG. Esses resultados mostram que as raízes exercem efeito mecânico importante na união das partículas do solo, e a massa seca representa uma importante fonte de entrada de C orgânico no solo, o qual exerce efeito direto na estabilidade dos agregados do solo (SANTOS et al., 2008).

De maneira geral, a melhor resposta da inoculação sobre as variáveis analisadas foi verificado para inoculação com as espécies de *Acaulospora*, com destaque para *A. colombiana* que apresentou maior CMT e consequentemente melhor DMGs e DMGu (Figura 5). Tendo em vista, que as hifas extrarradiculares são estruturas importantes do FMAs que atuam no enredamento das partículas do solo, além disso, cerca de 80% da glomalina (em peso) está contida na superfície das hifas fúngicas e nos esporos, cuja ação conjunta das hifas e glomalina favorecem a agregação do solo (DRIVER; HOLBEN; RILLIG, 2005; RUBIN; STÜRMER, 2015; RILLIG et al., 2017).

Figura 5 - Resposta biológica da inoculação dos FMAs, sobre as variáveis analisadas nesse estudo. Sendo: *A. colombiana* (Ac); *A. longula* (Al); *A. morrowiae* (Am); *P. occultum* (Po); *G. margarita* (Gm) e tratamento sem inoculação (C).



Legenda: Índice de estabilidade de agregado (IEA); diâmetro médio geométrico - Via Úmido (DMGu); massa seca raiz (MSR); diâmetro médio geométrico-Via Seco (DMGs); comprimento do micélio total (MC); proteína do solo relacionada a glomalina (PSRG) o comprimento raiz (CR).

Fonte: Da autora.

Espécies do gênero *Urochloa* naturalmente apresentam sistema radicular abundante e representa um importante dreno de CO₂ da atmosfera, por meio da elevada produção de resíduos vegetais e do estoque de C orgânico solo (ZINN et al., 2005). Conforme a decomposição das raízes ocorre à disponibilidade de nutrientes para as plantas e a liberação dos colóides orgânicos, os quais se associam com partículas da fração mineral e favorece a formação da agregação e a estruturação física do solo (SANTOS et al., 2008). Além do

estoque de C no solo, as raízes das plantas de *Urochloa* também atuam na formação dos agregados, por exercer ação mecânica através do enredamento das partículas do solo, e/ou por meio da liberação de exsudatos que favorece a biodiversidade na rizosfera e melhora o ambiente edáfico (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006; SANTOS et al., 2008).

Estudo tem mostrado que o acúmulo de C no solo está baseado nos mecanismos de estabilização, levando em consideração as interações que ocorrem entre o material orgânico e a superfície das partículas minerais, e que a formação dos agregados exerce efeito de proteção do C contra o ataque enzimático de microrganismos decompositores (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006; SANTOS et al., 2008; SOUSA et al., 2012). Essas informações sustentam a afirmação que o acúmulo de C é maior nos macroagregados, os quais, geralmente estão mais correlacionados com o comprimento do micélio do que com a produção de glomalina (SIX et al., 2004; RUBIN; STÜRMER, 2015; LEHMANN et al., 2017; RILLIG et al., 2017).

4 CONCLUSÕES

Não houve diferença entre os FMAs inoculados para a produção de proteína do solo relacionada à glomalina facilmente extraível, nas amostras do solo.

Houve correlação positiva entre o número de esporo e a produção de proteína do solo relacionada à glomalina facilmente extraível

Os maiores teores de produção de proteína do solo relacionada á glomalina facilmente extraível foi verificado nos agregados com $\varnothing > 2,0$ mm, para inoculação com *A. colombiana*.

A *A. morrowiae* e *A. colombiana* apresentaram os maiores incrementos para produção de proteína do solo relacionada à glomalina facilmente extraível nos agregados $2,0 > \varnothing \geq 0,25$ mm.

A *A. colombiana* apresentou maior comprimento do micélio extrarradicular e diâmetro médio geométrico (via seco e úmido).

Não houve diferença entre os FMAs inoculados para o índice de estabilidade de agregados do solo, comprimento e massa seca das raízes.

Houve correlação positiva entre o micélio extrarradicular e o diâmetro médio geométrico (via seco e úmido).

REFERÊNCIAS

- ALLEN, M. F. **The ecology of mycorrhizae**. New York. Academic Press. 1991.
- ALLEN, M.F. Modeling arbuscular mycorrhizal infection: is % infection an appropriate variable? **Mycorrhiza**, v. 10, p. 255-258, 2001.
- ASSIS, P. C. R.; SAGGIN-JÚNIOR, O. J.; PAULINO, H. B.; STÜRMER, S. L.; SIQUEIRA, J. O.; CARNEIRO, M. A. C. Fungos micorrízicos arbusculares em campos de murundus após a conversão para sistemas agrícolas no cerrado. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.38, p.1703-11, 2014.
- BASTOS, R. S. et al. Formação e estabilização de agregados do solo influenciados por ciclos de umedecimento e secagem após adição de compostos orgânicos com diferentes características hidrofóbicas. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 1, p. 29 2005.
- BEDINI, S.; PELLEGRINO, E.; AVIO, L.; PELLEGRINI, S.; BAZZOFFI, P.; ARGESE, E. E GIOVANNETTI, M. Changes in soil aggregation and glomalin-related soil protein content as affected by arbuscular mycorrhizal fungal species *Glomus mosseae* and *Glomus intraradices*. **Soil Biol. Biochem**, v. 41, p. 1491-1496, 2009.
- 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 (1): p. 248-254, 1976.
- BRAIDA, J. A.; BAYER, C.; ALBUQUERQUE, J. A.; REICHERT, J. M. Matéria orgânica e seu efeito na física do solo. In: Klauberg-Filho O, Mafra AL, Gatiboni LC, editores. Tópicos em ciência do solo. Viçosa, MG: **Sociedade Brasileira de Ciência do Solo**, v. 7, p. 221-77, 2011.
- CARNEIRO, M. A. C.; SIQUEIRA, J. O; CURI, N.; MOREIRA, M. F. S. Efeitos da inoculação de fungos micorrízicos arbusculares e da aplicação de fósforo no estabelecimento de forrageiras em solo degradado. **Pesquisa agropecuária brasileira**, Brasília. v. 34, n. 9, p.1669-1677, 1999.
- CARNEIRO, M. A. C; FERREIRA, D. A.; SOUZA, E. D.; PAULINO, H. B.; SAGGIN JUNIOR, O. J.; SIQUEIRA, J. O.; Arbuscular mycorrhizal fungi in soil aggregates from fields of “murundus” converted to agriculture. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 50, n. 4, p. 313-321, 2015.
- CAVALCANTE, U. M. T.; GOTO, B. T.; MAIA, L. C. Aspectos da simbiose micorrízica arbuscular. **Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agrônômica**, v. 5, n. 6, p. 180-208, 2009.
- CHAVES, J. C. D.; CALEGARI, A. **Adubação verde e rotação de culturas**. In: **Agropecuária**, v. 22, p. 52-60, 2001.
- COSTA, N. L.; PAULINO, V. T.; COSTA, R. S. C; PEREIRA, R. G. A.; TOWNSEND, C, R.; MAGALHÃOES, J. A. Efeito de micorrizas arbusculares sobre o crescimento e nutrição mineral de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu. **Ciência Animal**, v. 13, n. 4, p. 406-411, 2012.

- DORIOZ, J. M.; ROBERT, M.; CHENU, C. The role of roots, fungi and bacteria on clay particle organization. An experimental approach. **Geoderma**, Amsterdam. v. 56, p. 179-194, 1993.
- DRIVER, J. D.; HOLBEN, W. E.; RILLIG, M. C. Characterization of glomalin as a hyphal wall component of arbuscular mycorrhizal fungi. **Soil Biology e Biochemistry**, v.37, n.1, p.101-106, 2005.
- EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA (**EMBRAPA**). Sistema brasileiro de classificação de solos, 3a edição revista e ampliada. Embrapa, Brasília, 2013.
- ENKHTUYA, B.; VOSATKA, M. Interaction between grass and trees mediated by extraradical mycelium of symbiotic arbuscular mycorrhizal fungi. **Symbiosis**, v. 38, n. 3, p. 261–276, 2005.
- FERREIRA, D. A; CARNEIRO, M. A. C.; JUNIOR, O. J. S. Fungos Micorrízicos arbusculares em um Latossolo Vermelho sob manejos e usos no cerrado. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 36, n. 1, p.51-61, 2012.
- FERREIRA, D. F. Sisvar. A computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**. (UFLA) v. 35; p. 1039–1042, 2011.
- GERDEMANN J. W., NICOLSON T. H. Spores of mycorrhizal Endogone species extracted from soil by wet sieving and decanting. **Transaction of British Mycology Society**, v. 46, n. 2 p. 235-244, 1963.
- GIOVANNETTI, N.; MOSSE, B. An evaluation of techniques to measure vesicular-arbuscular infection in roots. **The New Phytologist**, v. 84, n. 4: p. 489- 500, 1980.
- HART, M. M.; READER, R. J. Taxonomic basis for variation in the colonization strategy of arbuscular mycorrhizal fungi. **New Phytologist**, v. 153, n. 2, p. 335–344, 2002.
- HOOGLAND, D. C.; ARNON, D. I.: The water culture method of growing plants without soil. Berkeley. **University of California**, p. 32, 1950.
- JENKINS WR. A rapid centrifugal-flotation technique for separating nematodes from soil. **Plant Disease Report**, Beltsville. p. 48, n. 1, p. 692, 1964.
- KEMPER, W.; CHEPIL, W. **Size distribution of aggregates**. In: BLACK, C. A. (Ed.). **Methods of Soil Analysis. Part 1. Physical and Mineralogical Properties, Including Statistics of Measurement and Sampling**. Madison: American Society of Agronomy / **Soil Society of America**, p. 499-510, 1965.
- KLIRONOMOS, J. N.; ALLEN, M. F.; RILLIG, M. C.; PIOTROWSKI, J.; MAKVANDI-NEJAD, S.; WOLFE, B.E.; POWELL, J. R. Abrupt rise in atmospheric CO₂ overestimates community response in a model plant-soil system. **Nature**, v. 433, n.7026, p.621–624, 2005.
- KLIRONOMOS, J. N.; Variation in plant response to native and exotic arbuscular mycorrhizal fungi. **Ecology**, v. 84, n. 9, p. 2292–2301, 2003.

LEHMANN, A.; ZHENG, W.; RILLIG, M. C.; Soil biota contributions to soil aggregation. *Nature Ecology e Evolution*, p.1-8, 2017.

LEHMANN, E. F.; LEIFHEIT, A.; RILLIG, M. C. Mycorrhizas and Soil Aggregation Mycorrhizal. *Mediation of Soil*, 2017.

MARSHALL, T. J. The nature, development and significance of soil structure. In: NEALE, G. J. (ed) Trans. of joint meeting of comissions IV e V (ISSS) Palmerston North, New Zeland, p. 243-257, 1962.

MELLONI, R.; CARDOSO, E. J. B. N. Quantificação de micélio extraradicular de fungos micorrízicos arbusculares em plantas cítricas e endófitos. I. Método empregado. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, v. 23, p. 53-8, 1999.

MIRANDA, E. M.; SAGGIN-JÚNIOR, O. J.; SILVA, E. M. R. Seleção de fungos micorrízicos arbusculares para o amendoim forrageiro consorciado com braquiária. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 43, p. 1185-91, 2008.

MONTAÑEZ, A. El estudio de las micorrizas arbusculares: Limitantes y perspectivas. *Agrociencia*, v. 9, n. 2, p. 311-315, 2005.

MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. *Microbiologia e Bioquímica do solo*. 2. ed. [s.l.] Universidade Federal de Lavras. p. 729, 2006.

OEHL, F.; SIEVERDING, E. E.; INEICHEN, K.; MÄDER, P.; WIEMKEN, A.; BOLLER, T.; Distinct sporulation dynamics of arbuscular mycorrhizal fungal communities from different agroecosystems in long-term microcosms. *Agric Ecosyst Environ*, v. 134: p. 257-68, 2009.

OEHL, F.; SYKOROVA, Z.; REDECKER, D.; WIEMKEN, A. SIEVERDING, E. *Acaulospora alpina*, a new arbuscular mycorrhizal fungal species characteristic for high mountainous and alpine regions of the Swiss Alps. *Mycologia*, v. 98, p. 286-94, 2006.

PARNISKE, M. Arbuscular mycorrhiza: the mother of plant root endosymbioses. *New Rev Microbiol*, v. 6, v. 763-75, 2008.

PENG, S.; GUO, T.; LIU, G. The effects of arbuscular mycorrhizal hyphal networks on soil aggregations of purple soil in sothwest China. *Soil Biology Biochemistry*, v. 57, n. 2, p.411-417, 2013.

PHILLIPS, J. M.; HAYMAN, D. S.: Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Transactions of the British Mycological Society*, v. 55, p. 158-161, 1970.

PIOTROWSKI, J. S., DENICH, T., KLIRONOMOS, J. N., GRAHAM, J. M., RILLIG, M.C. The effects of arbuscular mycorrhizas on soil aggregation depend on the interaction between plant and fungal species. *New Phytologist*, v. 164, n. 2, p. 365-373, 2004.

- PURIN, S. **Fungos micorrízicos arbusculares: atividade, diversidade e aspectos funcionais em sistemas de produção de maçã.** 152 f. Dissertação (Mestrado) – Ciência do Solo, Universidade do Estado de Santa Catarina – UDESC, Lages 2005.
- PURIN, S.; RILLIG, M. C. The arbuscular mycorrhizal fungal protein glomalin: Limitations, progress, and a new hypothesis for its function. **Pedobiologia**, v.51, p.123-30, 2007.
- RILLIG, M. C. Arbuscular mycorrhizae and terrestrial ecosystem processes. **Ecology Letters**, p. 7, p. 740–754, 2004.
- RILLIG, M. C.; MARDATIN, N. F.; LEIFHEIT, E. F.; ANTUNES, P. M. Mycelium of arbuscular mycorrhizal fungi increases soil water repellency and is sufficient to maintain water-stable soil aggregates. **Soil Biology e Biochemistry**, p. 42, 2010.
- RILLIG, M. C.; MULLER, L. A.; L. ANIKA. Soil aggregates as massively concurrent evolutionary incubators. **The ISME Journal**, p. 1–6, 2017.
- RUBIN, J. G. K. R.; STÜRMER, S. L. Potencial de inóculo micorrízico e importância do comprimento do micélio para a agregação de solos de ambiente fluvial. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 39, p. 59-68, 2015.
- SANTOS, G. de A., SILVA, L.S. da; CANELLAS, L.P.; CAMARGO, F.A. de O. (Ed.) **Fundamentos da matéria orgânica do solo: Ecossistemas tropicais e subtropicais.** 2ª ed. rev. e atual. Porto Alegre: Metrópole, 654p.: Il, 2008.
- SILVEIRA, A. P. D.; CARDOSO, E. J. B. N. Arbuscular mycorrhiza and kinetic parameters of phosphorus absorption by bean plant. **Scientia Agricola**, v. 61, p. 203-9, 2004.
- SILVIA, I. F.; MIELNICZUK, J. Ação do sistema radicular de plantas na formação e estabilização de agregação do solo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 20, p. 113-117, 1997.
- SIQUEIRA, J. O.; MOREIRA, F. M. S.; GRISI, B. M.; HUNGRIA, M.; ARAUJO, R. S. Microrganismos e processos biológicos do solo: perspectiva ambiental. Brasília: EMBRAPA, 142 p. 1994.
- SIQUEIRA, J. O. et al. **Micorrizas: 30 anos de pesquisa no Brasil.** Lavras: Editora UFLA, v. 1, p. 279-310, 2010.
- SIX, J.; BOSSUYT, H.; DEGRYZE, S.; DENEFF, K. A history of research on the link between (micro) aggregates, soil biota, and soil organic matter dynamics. **Soil and Tillage Research**, v. 79, 1, p. 7–31, 2004.
- SOIL SURVEY STAFF. **Soil taxonomy: a basic system of soil classification for making and interpreting soil surveys.** Natural Resources Conservation Service. Department of Agriculture, United States, 1999.
- SOUSA, C. S; MENEZES, R. S. C.; SAMPAIO, E. V. DE SÁ B.; LIMA, F. DE S. Glomalina: características, produção, limitações e contribuição nos solos. **Ciências Agrárias**, v. 33, n. 1, p. 3033-3044, 2012.

SOUZA, E. D.; CARNEIRO, M. A. C.; PAULINO, H. B.; RIBEIRO, D. O.; BAYER, C.; ROTTA, L. A. Matéria orgânica e agregação do solo após conversão de “campos de murundus” em sistema plantio direto. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 51, n. 9, p. 1194-1202, 2016.

STÜRMER, S. L.; SIQUEIRA, J. O. Species richness and spore abundance of arbuscular mycorrhizal fungi across distinct land uses in Western Brazilian Amazon. **Mycorrhiza**, v. 21, p. 255–267, 2011.

TISDALL, J. M. ; OADES, J. M. Organic matter and water-stable aggregates in soils. **European Journal of Soil Science**, v. 33, n. 2, p. 141–163, 1982.

VILELA, L. A.; F SAGGIN JÚNIOR, O. J.; PAULINO, H. B.; SIQUEIRA, J. O.; SILVA SANTOS, V. L.; CARNEIRO, M. A. C. Arbuscular mycorrhizal fungus in microbial activity and aggregation of a cerrado oxisol in crop sequence. **Ciência e Agrotecnologia**, v.38, n.1, p.34-42, 2014.

WILSON, G. W. T.; RICE, C. W.; RILLIG, M. C.; SPRINGER, A.; HARTNETT, D. C. Soil aggregation and carbon sequestration are tightly correlated with the abundance of arbuscular mycorrhizal fungi: results from long-term field experiments. **Ecology Letters**, v. 12, n. 5, p. 452–461, 2009.

WRIGHT, S. F.; UPADHYAYA, A. Extraction of an abundant and unusual protein from soil and comparison with hyphal protein from arbuscular mycorrhizal fungi. **Soil Sci**, 161:575–586, 1996.

WRIGHT, S.; 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, n. 1, p. 97-107, 1998.

WRIGHT, S.F.; NICHOLS, K. A. Glomalin: hiding place for a third of the world’s stored soil carbon. **Agric Research**, v. 50, p. 4-7, 2002.

YODER, R. E. A direct method of aggregate analysis of soil and a study of the physical nature of erosion losses. **Journal of America Society of Agronomy**, v. 28, p. 337-351, 1936.

ZINN, Y. L.; LAL, R.; RESCKB, D. V. S. Changes in soil organic carbon stocks under agriculture in Brazil. **Soil & Tillage Research**, v. 84 p. 28–4, 2005.

ARTIGO 3**FUNGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES ASSOCIADOS COM *Urochloa* híbrido
(cv. CIAT BR 02/1752 “Cayman”) INFLUENCIAM A ESTABILIDADE DE
AGREGADOS DE UM GLEYSSOLO NODULAR FERRUGINOSO EM CUBA**

Marisângela Viana Barbosa⁽¹⁾ e Marco Aurélio Carbone Carneiro⁽²⁾,

¹Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo - DCS, Universidade Federal de Lavras – UFLA, Lavras – MG, Brasil. * e-mail: mvbarbosa10@gmail.com

²Professor Titular do Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo - DCS, Universidade Federal de Lavras – UFLA, Lavras – MG, Brasil.

RESUMO

O uso intensivo e o manejo inadequado das áreas de pastejo ocasionam a degradação da estrutura do solo, reduzindo o seu potencial produtivo e o rendimento das pastagens. Contudo, é necessário a adoção de tecnologias alternativas que visam melhorar a capacidade de uso e manejo do solo tornando esse sistema de cultivo mais sustentável. Nesse contexto, o objetivo desse estudo foi de avaliar em campo diferentes espécies de fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) inoculados em *Urochloa* híbrido (cv. CIAT BR 02/1752 “Cayman”) na influência sobre a estabilidade de agregados de um Gleyssolo Nodular Ferruginoso em Cuba. O experimento foi conduzido na Estação Experimental de Pastos e Forragens em Cuba, utilizando a espécie de *Urochloa* híbrido (cv. CIAT BR 02/1752) - Pasto Caymam, inoculada com três espécies de FMAs (*Glomus cubense*, *Funneliformis mosseae* e *Rhizophagus intraradices*). O delineamento utilizado foi em blocos casualizados, em esquema fatorial 4 x 2, sendo: quatro tratamentos, duas épocas de coleta (novembro de 2014 e maio de 2017) e quatro repetições. Foram avaliados: o número de esporos (NE), produção de proteína do solo relacionada a glomalina (PSRG), a quantificação dos micélios extrarradiculares (CM), o coeficiente de estabilidade estrutural do solo através do peneiramento via seco (Kes) e imerso em água (Keh) e o Índice de Estabilidade Estrutural do Solo (Ie). Foi verificado maior estabilidade dos agregados (Kes) aos 140 e 876 dias de cultivo, no entanto, houve influência da inoculação apenas aos 876 dias. Por outro lado, a menor estabilidade foi verificada para os agregados imersos em água (Keh) mostrando a influência da umidade “energia cinética” da água sobre a estrutura do solo. Esses resultados indicam que os agregados secos do solo em estudo foram menos suscetíveis a erosão. O efeito da inoculação sobre os agregados do solo, certamente está associado aos incrementos observados para (PSRG) aos 140 dias que possui caráter cumulativo e cimentante no solo e ao maior (CM) observado aos 876, que atuam no direcionamento e enredamento das partículas minerais e orgânicas do solo, favorecendo a agregação. A inoculação com FMAs associada às raízes de *U.* híbrido contribuíram para o melhor (Ie) aos 876 dias de cultivo, com destaque para a espécie *G. cubense*. A qual, também apresentou maior competitividade ao longo do tempo, sendo verificado maior (NE) quando comparada as demais espécies inoculadas. Esses resultados mostraram a importância da inoculação e/ou do manejo dos FMAs nativos para formação e estabilidade da estrutura física do solo.

Palavras-chave: *Urochloa* híbrido. Micélios extrarradiculares. Produção de glomalina. Agregação do solo.

ABSTRACT

Intensive use and inadequate management of grazing areas leads to degradation of soil structure, reducing its productive potential and pasture yield. However, it is necessary to adopt alternative technologies that aim to improve the land use and management capacity, making this cropping system more sustainable. In this context, the objective of this study was to evaluate in the field different arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) species inoculated in hybrid *Urochloa* (CIAT BR 02/1752 "Cayman") on the influence on the stability of aggregates of a Ferruginous Nodular Gleysol Cuba. The experiment was conducted at the Experimental Station of Pastures and Forages in Cuba, using the hybrid *Urochloa* (CIAT BR 02/1752) - Pasto Cayman species, inoculated with three species of FMAs (*Glomus cubense*, *Funneliformis mosseae* and *Rhizophagus intraradices*). The design was a randomized complete block design, in a 4 x 2 factorial scheme, being: four treatments, two collection seasons (November 2014 and May 2017) and four replications. The following variables were evaluated: number of spores (NE), production of glomalin-related soil protein (PSRG), quantification of extraradicular mycelia (CM), soil structural stability coefficient through dry sieving (Kes) and immersion in (Keh) and the Soil Structural Stability Index (Ie). Greater stability of the aggregates (Kes) was verified at 140 and 876 days of cultivation, however, there was influence of the inoculation only at 876 days. On the other hand, the lower stability was verified for the water immersed aggregates (Keh) showing the influence of the moisture "kinetic energy" of the water on the soil structure. These results indicate that the dry aggregates of the soil under study were less susceptible to erosion. The effect of inoculation on the soil aggregates is certainly associated with the observed increases for the 140 days that have a cumulative and cementitious character in the soil and the greater (CM) observed in the 876 that act on the targeting and entanglement of the mineral particles and soil organic matter, favoring aggregation. The inoculation with FMAs associated with the roots of *U.* hybrid contributed to the best (Ie) at 876 days of cultivation, with emphasis on the species *G. cubense*. Which also showed greater competitiveness over time, being verified higher (NE) when compared to the other inoculated species. These results showed the importance of inoculation and/or management of native AMFs for formation and stability of soil physical structure.

INDEX TER: *Urochloa* híbrido. Extraradicular mycelia. Glomalin production. Aggregate stability.

1 INTRODUÇÃO

Em Cuba as áreas de pastagens ocupam cerca de 2,398 mil ha⁻¹, e constitui a principal fonte da alimentação do rebanho bovino do País (HERRERA, 2005; MINAG, 2005). Contudo, aproximadamente de 75% dessas áreas apresentam limitações na fertilidade do solo afetando o estabelecimento e rendimento das pastagens, principalmente pelo baixo nível de P e K disponível (CRESPO, 2001). Esses atributos mostram que é necessária a adoção de tecnologias e práticas de manejo do solo, para melhorar a formação e o rendimento das pastagens, tornando essas áreas mais sustentáveis.

A utilização da biotecnologia é uma alternativa que visa melhorar o rendimento das pastagens, e os fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) pode ser uma estratégia viável de baixo custo, capaz de melhorar a eficiência da adubação e reduzir o uso de fertilizantes (CAÑIZARES et al., 2015; GONZÁLEZ et al., 2015). Esse grupo de fungo habita a região rizosférica das plantas, e estabelece uma relação simbiótica mutualista com as raízes da maioria das espécies vegetais (PARNISKE, 2008; MOREIRA; SIQUEIRA, 2006). Os FMAs exercem função importante por meio do crescimento extensivo de suas hifas extrarradiculares, que aumentam o volume de solo explorado, auxilia na absorção e disponibilidade de água e nutrientes para as plantas, podendo melhorar a eficiência da adubação (GONZÁLEZ et al., 2015; ROSALES et al., 2014).

Em áreas sob cultivo de pastagens os FMAs associados a *Urochloa* atuam como uma extensão do sistema radicular, por meio da formação de uma rede de micélios extrarradiculares que potencializam o efeito das raízes para maior absorção de água e nutriente, favorecendo o rendimento das plantas (VEIGA, 2009; RILLIG et al., 2010; CAÑIZARES et al., 2015; GONZÁLEZ et al., 2015). Além disso, auxiliam na formação e estabilidade dos agregados do solo, por atuarem no direcionamento e enredamento das partículas minerais e orgânicas, e da produção de proteína do solo relacionada a glomalina (ALLEN 1991; PARNISKE, 2008; RILLIG et al., 2017; LEHMANN et al., 2017).

Nas áreas de pastagens, o uso dos FMAs associados as plantas de *Urochloa* já é bem documentado (CAÑIZARES et al., 2015; JENQUI et al., 2017), pois, podem potencializar o efeito das raízes na agregação do solo e no acúmulo de carbono orgânico, por meio das suas hifas e da produção de glomalina (WRIGHT; NICHOLS 2002; RILLIG et al., 2017). Em Cuba, estudos mostram a eficiência do uso e manejo de biofertilizantes com FMAs em áreas de pastagens, e seus efeitos na produção de biomassa e utilização eficiente da adubação,

podendo reduzir de 30% a 50% o uso de fertilizantes minerais e orgânicos (CRESPO FLORES et al., 2014; GONZÁLEZ et al., 2015; JENQUI et al., 2017; ROSALES et al., 2014). No entanto, pouco se sabe sobre a influência dos FMAs na agregação do solo em áreas de pastagens em Cuba, além disso, como as diferentes espécies de FMAs podem auxiliar na agregação e melhoria da estrutura do solo, ainda não está bem esclarecida.

Portanto, o objetivo desse estudo foi de avaliar em campo diferentes espécies de fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) inoculados em *Urochloa* híbrido (cv. CIAT BR 02/1752 “Cayman”) na influência sobre a estabilidade de agregados de um Gleysso solo Nodular Ferruginoso em Cuba.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Localização, clima e solo da área experimental

Este estudo foi conduzido na Estação Experimental de Pastos e Forragens de Cascajal, situada em Santo Domingo, Província de Villa Clara, República de Cuba (Figura 1). Localizada a 22°35'07.33" N, 80°14'36.61" W, altitude de 60 metros ao nível do mar, temperatura variando de 22 °C a 27,8 °C, umidade 79 a 84% e precipitação pluviométrica em torno de 1264 mm (OLIVERA et al., 2012).

Figura 1 - Localização da área do estudo situada na Estação Experimental de Pastos e Forragens de Cascajal, na Província de Villa Clara região central da República de Cuba. Cujo solo consistia num Gleysso solo Nodular Ferroginoso, representado pelo perfil acima.

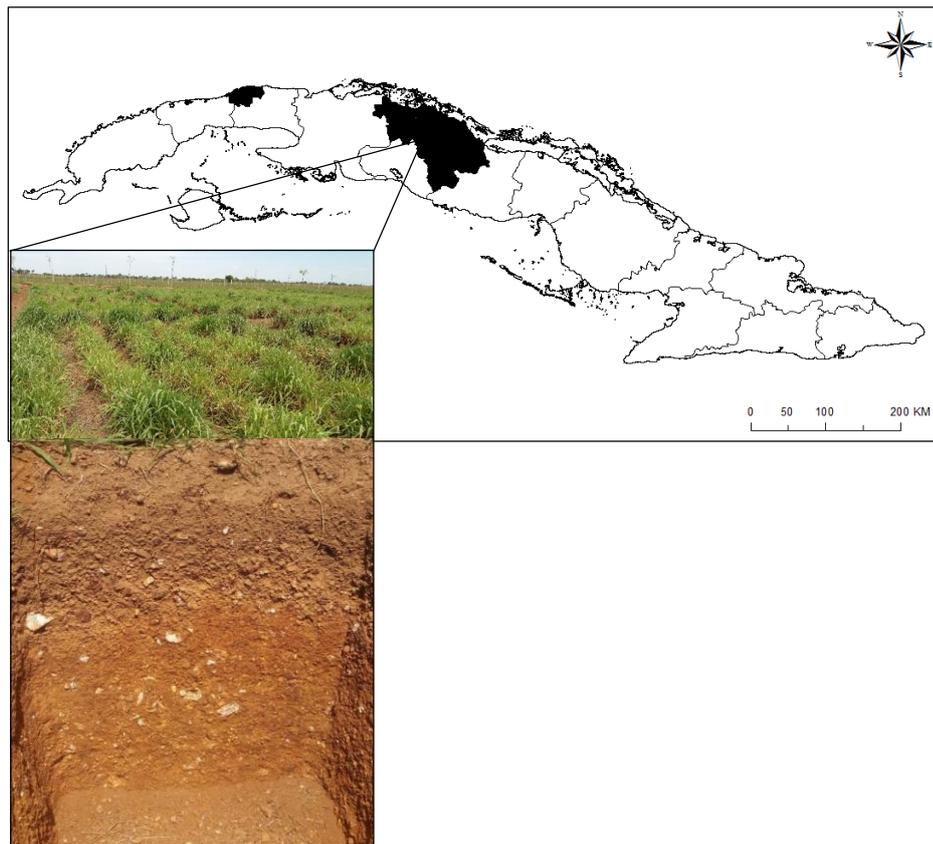


Foto: Barbosa, 2017

Fonte: Da autora.

O solo foi classificado como um Gleysso solo Nodular Ferruginoso, cujo sub tipo é GNF arénico, alábico e petroférico, segundo o Sistema de Classificação Cubano de Solo de 2015

(HERNÁNDEZ et al., 2015) correspondente ao Entisols (SOIL SURVEY STAFF, 1999) Apresentando as seguintes características químicas: pH (H₂O) = 4,7; Ca= 3,5 cmol_c dm⁻³; Mg = 1,2 cmol_c dm⁻³; K= 0,11 mg dm⁻³; P= 2,2 mg dm⁻³; MO= 2,43 dag kg⁻¹.

O experimento foi conduzido em campo de junho de 2014 a maio de 2017, com o propósito de avaliar a influência dos FMAs nativos e inoculados, associados as plantas de *Urochloa* híbrido cv. (CIAT BR 02/1752) - Pasto Cayman, na estabilidade dos agregados do solo. Inicialmente foi avaliado a densidade de esporos nativos de FMAs na área em estudo, para avaliar a possível competitividade dos fungos nativos sobre a inoculação. Sendo verificada uma densidade de 328 esporos em 50 g de solo.

2.2 Condução do experimento

Foi realizado o preparo convencional do solo, utilizando aração seguida pela gradagem. Em seguida foi coletada uma amostra de solo considerada padrão, antes da aplicação dos tratamentos (coleta anterior ao plantio - CAP), para avaliar as condições iniciais do estado de agregação do solo. O delineamento utilizado foi em blocos casualizados, em esquema fatorial de 4x2 com quatro repetições, sendo: quatro tratamentos (três cepas de FMAs da EcoMic® produzidos no INCA: *Glomus cubense* (Y. Rodr. & Dalpé) (RODRÍGUEZ et al., 2011) cepa INCAM-4; *Funneliformis mosseae* (Nicol. & Gerd.) Schüler e Walker (2001) cepa INCAM-2 e *Rhizophagus intraradices* (N. C. Schenck; G. S. Sm.) (SIEVERD., G. A. SILVA; OEHL) cepa INCAM-11), e o tratamento controle sem inoculação) e duas épocas de avaliação aos 140 e 876 dias após a inoculação.

A inoculação foi realizada no momento da sementeira, utilizando sementes de *Urochloa* híbrido cv. através do método de cobertura da semente (mistura da semente/inoculante/água). O inóculo de FMAs apresentava uma densidade de 30-35 esporos g⁻¹ de inoculante, sendo utilizada uma quantidade equivalente a 10% do peso da semente e misturado com 600 mL de água (FERNÁNDEZ et al., 2001). Em seguida foi realizada a sementeira na linha de plantio, com profundidade de 1,5 cm e distância de 70 cm entre as linhas, seguindo um padrão de densidade de sementes equivalente a 10 kg⁻¹ de semente ha⁻¹. Sendo mantido em campo e realizado os tratos culturais padrão, para eliminação de plantas invasoras.

2.3 Análises realizadas

Para realização das análises, as amostras de solo foram coletadas em novembro de 2014 (140 dias após a inoculação) e em maio de 2017 (876 dias após a inoculação), formadas por 5 sub amostras por parcelas na camada de 0-10 cm, que foram misturadas formando uma amostra composta para cada parcela. O solo foi acondicionado, e em seguida realizado o processamento das análises, nos Laboratórios de Micorriza e Física do Solo do Instituto Nacional de Ciência Agrícola – INCA Cuba.

Foram realizadas as análises, determinando: o número de esporo (NE), a produção de proteína do solo relacionada à glomalina facilmente extraível (PSRG), o comprimento dos micélios extrarradiculares total de solo (CM), a estabilidade dos agregados do solo por meio dos coeficientes de estabilidade estrutural do solo, através do peneiramento dos agregados secos (Kes) e agregados imersos em água (Keh), e determinado o Índice de Estabilidade Estrutural do Solo (Ie).

O número de esporo foi determinado utilizando 50 gramas de solo, por meio da técnica do peneiramento úmido (GERDEMANN; NICOLSON, 1963), combinada à técnica de centrifugação em água e sacarose Jenkins (1964).

Para a quantificação do comprimento do micélio extrarradicular total (CM) do solo, foi utilizado o método proposto por Melloni e Cardoso (1999), com algumas adaptações. Para tanto, foi utilizado 10 g de solo de cada amostra, realizado o peneiramento úmido em malhas de 710 e 180 μm , em seguida o extrato foi agitado utilizando um Agitador de hélice (Modelo AE-40) durante 30s em solução de sacarose. Logo após, o extrato foi peneirado em malha de 39 μm sendo coletado um volume de 11 ml, deixando em repouso por 2 min e realizado uma mistura na proporção de 5:1, sendo 5 ml do filtrado e 1 ml de solução de HCL 1%. Após 10 min em repouso, a mistura foi adicionada em membranas de triacetato de celulose, com diâmetro de 4,7 cm e porosidade de 0,45 μm , realizando a filtragem das amostras a vácuo (em conjunto Kitassato). Imediatamente foi adicionado 2 ml de Azul de Tripán 0,05 %, aquecido por 15s em estufa de secagem e avaliada em microscópio, utilizando um aumento de 50x. Esse procedimento foi utilizado apenas para amostras coletadas com 876 dias, à medida que, os micélios extrarradiculares apresentam um curto período de permanência no solo.

O comprimento dos micélios foi obtido através da equação:

$$C = [(0,23562 \times N) / (10-U)]$$

Em que:

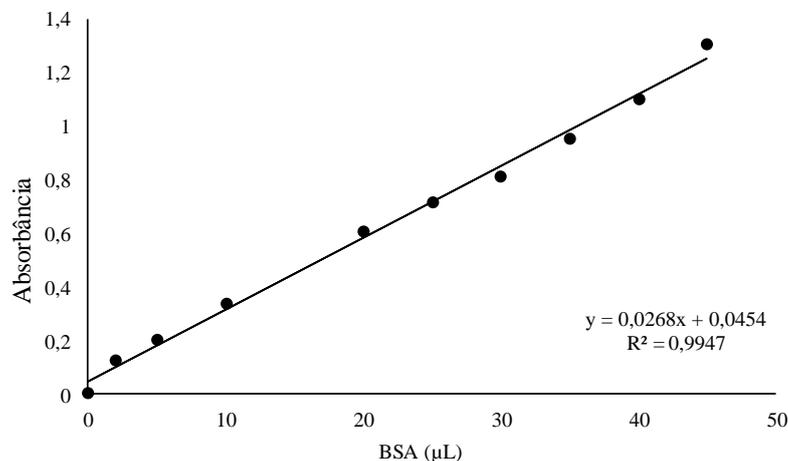
C = comprimento de micélio no solo seco (m g^{-1} de solo);

N = soma do número de interseções entre as hifas e linhas horizontais do gride, e;

U = umidade da amostra de solo (g de água).

Para obtenção das concentrações de glomalina - PSRG (mg g^{-1} solo), foram quantificadas utilizando 1 g de solo de cada amostra. Para tanto, foi adicionado 8 ml de solução de citrato de sódio (20 mM; pH 7,2), autoclavada por (121°C) por 30 minutos, seguida de centrifugação (3.200rpm / 20 minutos) e coletado o extrato das amostras do solo. Em seguida, foi medido o volume do sobrenadante e realizado a quantificação do extrato em espectrofotômetro, pelo método de Bradford, utilizando albumina bovina como proteína padrão (BRADFORD, 1976). Determinado as concentrações de PSRG (mg g^{-1} solo) utilizando a equação da curva padrão (Figura 1). A qual foi obtida por meio da Albumina Bovina Sérica (BSA) como proteína padrão purificada (PURIN, 2005). Esse procedimento foi utilizado para determinar a concentração de glomalina (PSRG) na coleta anterior ao plantio - CAP, aos 140 e 876 dias após a implantação do experimento.

Figura 2 - Curva padrão obtida por meio de diferentes concentrações (μL) de Albumina Bovina Sérica (BSA) como proteína padrão. Sendo utilizada a equação da curva padrão, para quantificar a produção de proteína do solo relacionada à glomalina facilmente extraível – PSRG.



Fonte: Da autora.

A estabilidade dos agregados do solo foi determinada através dos Coeficientes de Estabilidade dos Agregados e do Índice de Estabilidade Estrutural do solo, segundo o método de Yoder (1936) com algumas adaptações Savinov (HERNÁNDEZ, 2007). Para a determinação dos coeficientes de estabilidade dos agregados do solo, foi realizada pelos métodos indiretos: através do peneiramento dos agregados imerso em água (Keh) e o método

de peneiramento dos agregados secos (K_{es}). Esses métodos permitem inferir sobre os efeitos da erosão eólica (via seca) e da erosão hídrica (via úmida) na estabilidade dos agregados e estrutura do solo. Sendo obtido o Índice de Estabilidade Estrutural do solo (I_e).

Para a determinação da estabilidade dos agregados, o solo foi previamente seco ao ar e peneirados em malha de 8.0 e 4.0 mm. Em seguida, os agregados retidos na malha de 4 mm foram pesados cerca de 25 g e colocado em um conjunto de peneiras ($\emptyset \geq 2,0$; $2,0 > \emptyset \geq 0,25$ e $\emptyset < 0,105$ mm), adaptado a um dispositivo mecânico de vibração (Sieve Shaker TRX-6), sendo obtido a estabilidade dos agregados via seco. E para obtenção dos agregados via úmido, foi utilizado um recipiente de 50L no qual, realizou-se movimentos repetidos (de mesma frequência) com o jogo de peneiras contendo a amostras.

Para obtenção do coeficiente de estabilidade dos agregados através do peneiramento via seco e imerso em água, e do Índice de Estabilidade Estrutural foram utilizadas as seguintes equações (YODER, 1936; HERNÁNDEZ, 2007):

$$K_{es} = \frac{\sum \% Ag \text{ 10 mm a 0.25 mm}}{\% Ag > 10 \text{ mm} + < 0.25 \text{ mm}} \quad K_{eh} = \frac{\% Ag < 0.25 \text{ mm}}{\sum \% Ag > 0.25 \text{ mm}}$$

$$I_e = \frac{\sum \% Ag > 0.25 \text{ mm (Th)}}{\sum \% Ag > 0.25 \text{ mm (Ts)}}$$

Em que:

K_{es} = Coeficiente de estabilidade estrutural através do peneiramento via seco;

K_{eh} = Coeficiente de estabilidade estrutural através do peneiramento via úmido;

I_e = Índice de Estabilidade Estrutural;

Ag = % agregados;

Th = Peneirado úmido (mm);

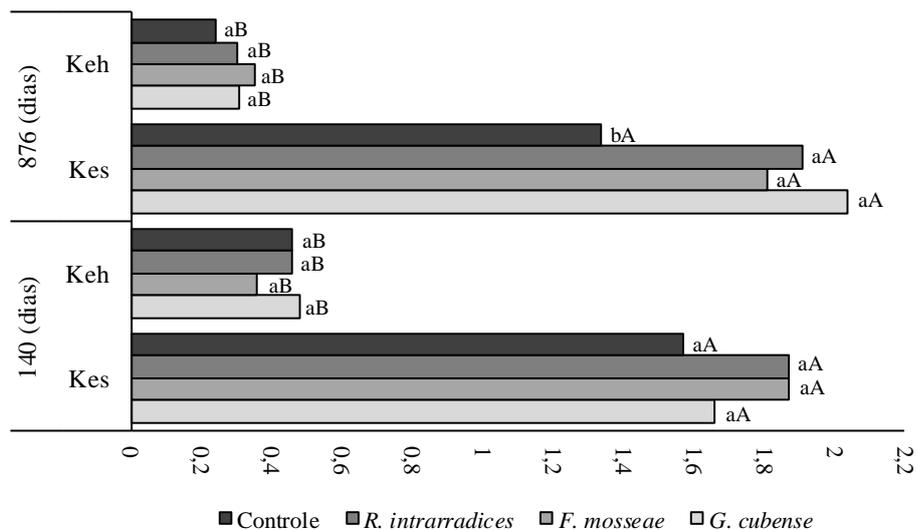
Ts = Peneirado seco (mm).

Os dados obtidos para número de esporos foram previamente transformados utilizando $(\log x+1)$. Em seguida foi realizada comparação de médias e a análise de variância, para o número de esporo, comprimento do micélio extrarradicular total, para os coeficientes de estabilidade de agregados seco e úmido, o índice de estabilidade estrutural do solo e para a produção de glomalina. Para tanto, foi aplicado o teste Tukey a 5%, utilizado do software SISVAR (FERREIRA, 2011).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foi verificado que, os agregados imersos em água Keh aos 140 e 876 dias, apresentaram baixo coeficiente de estabilidade não havendo efeito da inoculação dentro da mesma época e entre as duas épocas de coleta solo (Figura 3). Por outro lado, o maior coeficiente de estabilidade foi verificado para o peneiramento seco Kes aos 140 e 876 dias após a inoculação. Esse resultado sugere que os agregados desse solo foram menos suscetíveis a erosão eólica do que a erosão hídrica, e que o efeito da erosão pode ser minimizado pela inoculação com FMAs, como verificado para o Kes aos 876 dias (Figura 3). O efeito positivo do Kes aos 876 dias foi verificado para todos os FMAs inoculados, não havendo efeito individual das espécies quando comparado ao controle. Por outro lado, não houve efeito da inoculação para Kes aos 140 dias e para o Keh aos 140 e 876 dias (Figura 3). A estabilidade dos agregados implica na maior resistência do solo aos processos erosivos, por meio da erosão eólica e erosão hídrica. No presente estudo foi possível verificar esse efeito ao longo do tempo, por meio dos coeficientes de estabilidade dos agregados do solo imerso em água (Keh) e via seco (Kes). Esse resultado mostrou haver uma maior suscetibilidade dos agregados à erosão hídrica do que erosão eólica.

Figura 3 - Efeito da inoculação de diferentes FMAs nos coeficientes de estabilidade estrutural do solo, imerso em água - Keh e via seco - Kes. Analisados em duas épocas de coleta do solo: aos 140 dias e 876 dias após a inoculação.



Letras minúsculas representam o efeito dos tratamentos dentro da mesma época de coleta, e letras maiúsculas representam o efeito dos tratamentos entre as diferentes épocas de coleta, pelo teste de Tukey a 5 % de significância.

Fonte: Da autora.

A resposta positiva do Kes sob influência da inoculação está relacionada aos efeitos dos FMAs ao longo do tempo, principalmente pela produção e acúmulo de glomalina no solo (Tabela 1). Por outro lado, houve efeito individual da inoculação dos FMAs para o índice de estabilidade estrutural do solo Ie (Tabela 1). No qual, a espécie *G. cubense* apresentou o maior incremento para o Ie, quando comparada aos demais tratamentos dentro da mesma época de coleta (876 dias) e entre as épocas de coleta aos 140 e 876 dias. Não havendo influência da inoculação para o Ie aos 140 dias (Tabela 1).

O resultado observado para o baixo Keh aos 140 e 786 dias após a inoculação pode ter ocorrido em função das épocas de coletas do solo. Tendo em vista, que aos 140 dias a coleta foi realizada no início do período chuvoso (maio-outubro) em maio, e a segunda coleta foi realizada no final do período chuvoso (início de novembro) dos anos subsequente, ambos estavam com o solo umidade. Nesse período do ano ocorre 75% da precipitação anual, cerca de 948,75 mm com uma umidade relativa variando de 79 a 84 % (OLIVERA et al., 2012), essas condições de maiores umidades no período das duas coletas, podem ter influenciado no resultado desse estudo. Tendo em vista, que durante os procedimentos das análises o solo deve ser seco ao ar livre, e em seguida submetido ao peneiramento úmido para obtenção do Keh. No entanto, esses ciclos de umidificação e secagem são fatores que provocam a desagregação da estrutura do solo (WENDLING et al., 2005), e contribuiu para o resultado do presente estudo. Esse processo de desagregação ocorre devido a ação da energia cinética da água, quando as amostras do solo são submetidas ao procedimento padrão do peneiramento úmido, para determinação do Keh.

Tabela 1 - Influência da inoculação de diferentes FMAs no índice de estabilidade estrutural do solo - Ie, e na produção de proteína do solo relacionada a glomalina – PSRG (facilmente extraível). Analisadas em duas épocas de coletas: aos 140 e 876 dias após a inoculação.

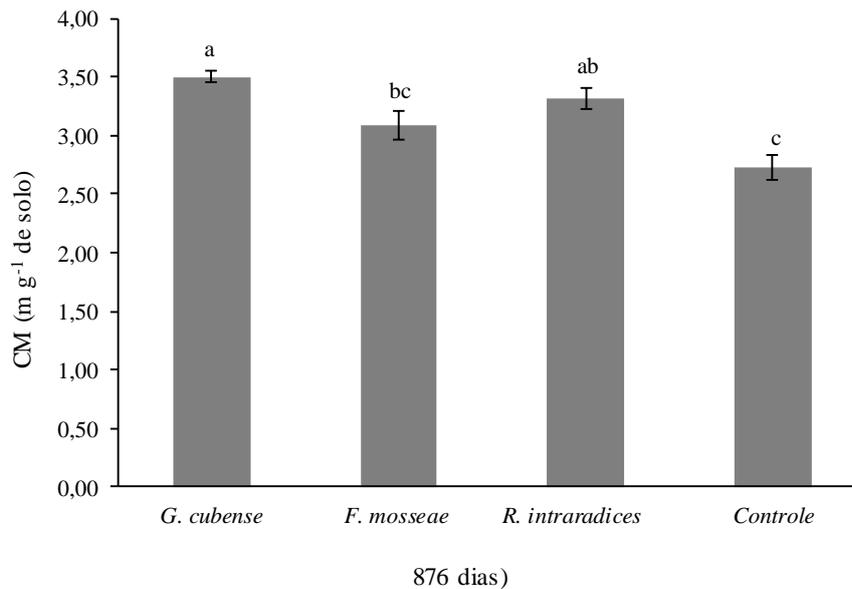
Espécies	Ie		PSRG (mg g ⁻¹ de solo)	
	140 dias	876 dias	140 dias	876 dias
<i>G. cubense</i>	0,93 aB	0,98 aA	1,95 aB	2,43 aA
<i>F. mosseae</i>	0,95 aA	0,95 bA	1,95 aB	2,43 aA
<i>R. intrarradices</i>	0,91 aA	0,94 bA	1,94 aB	2,42 aA
C/planta S/Inoculação	0,94 aA	0,95 bA	1,91 bB	2,41 aA
CV (%)	2,9		1,8	

Letras minúsculas na coluna representam o efeito dos tratamentos na mesma época de coleta, e letras maiúsculas nas linhas representam o efeito dos tratamentos entre as épocas de coletas, pelo teste de Tukey a 5 % de significância.

Fonte: Da autora.

Comumente, o aumento do índice de estabilidade estrutural do solo, é resultante de uma sequência de eventos que pode ocorrer sob influência de fatores abióticos e bióticos, principalmente quando se trata de uma pesquisa de campo. No presente estudo, foi verificada influência abiótica por meio da umidade, e biótica pela inoculação com FMAs para todas as espécies inoculadas no Kes (aos 876 dias) e para o *G. cubense* no Ie (aos 876 dias) (Figura 3 e tabela 1). O mesmo foi verificado para o comprimento dos micélios extrarradiculares CM aos 876 dias com destaque também para *G. cubense*, e da produção de proteína do solo relacionada a glomalina PSRG aos 140 dias, na qual foi verificado efeito dos FMAs para todas as espécies inoculadas (Tabela 1 e figura 4). Essa sequência de resultados positivos para a inoculação, associadas as raízes das plantas de *U. híbrido* (que naturalmente tem um sistema radicular abundante e auxiliam na deposição de carbono orgânico no solo) possivelmente contribuíram para o melhor Ie (Tabela 1). O efeito da PSRG sobre o Ie ocorreu ao longo do tempo, que mesmo não havendo diferença entre os tratamentos aos 876 dias, favoreceu o Ie. Esse resultado confirma a característica cumulativa da PSRG no solo, á medida que, a glomalina é uma molécula rica em C orgânico, recalcitrante e insolúvel, que confere uma maior permanência da glomalina no solo, exercendo efeito importante na estabilidade dos agregados (SIQUEIRA; FRANCO, 1988; RILLIG et al., 2017; LEHMANN et al., 2017).

Figura 4 - Comprimento dos micélios extrarradiculares, sob efeito da inoculação dos FMAs, sendo: **CM** – o comprimento do micélio extrarradicular total, determinado aos 876 dias após a inoculação.



Letras iguais não diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5%.

Fonte: Da autora.

O comprimento dos micélios extrarradiculares e a produção de glomalina têm sido amplamente correlacionados com a melhoria da estabilidade dos agregados do solo (SIX et al., 2004; MORELL et al., 2009; RILLIG et al., 2017; LEHMANN et al., 2017). No presente estudo, o melhor efeito da inoculação para o CM foi verificado com *G. cubense* aos 876 dias, esse resultado ocorreu de forma proporcional ao número de esporos NE (Figura 4 e figura 5), que aumentou de 170 para 492 esporos aos 876 dias após a inoculação. A multiplicação dos esporos que ocorre após o estabelecimento da simbiose, depende da interação dos FMAs com as plantas e das influências dos fatores de clima e solo (GERDEMANN, 1975). Além disso, a competitividade entre os FMAs inoculados e as espécies nativas do solo, é um dos principais fatores que influênciam no efeito da inoculação em campo. Uma vez que, as espécies nativas estão adaptadas às variações que ocorrem no ambiente, tornando-as bastante competitiva.

No presente estudo, a área experimental apresentou uma elevada densidade de esporos nativos (328 esporos 50 g^{-1} de solo), fato, que exerceu influência sobre o comportamento das espécies inoculadas. Inicialmente foi observada uma maior competitividade da espécie *F. mosseae* aos 180 dias, a qual foi perdendo esse efeito ao longo do tempo, havendo destaque para a inoculação com *G. cubense* aos 876 dias, que mostrou um maior potencial competitivo ao longo do tempo (Figura 5). Em estudo com área de pastagem, também utilizando inoculação com as espécies *F. mosseae*, *G. cubense* e *R. intraradices*, foi verificado um efeito positivo da inoculação no rendimento de fitomassa com incremento de N, P e K, para *G. cubense* aos 70 e 270 dias após a inoculação (JENQUI et al., 2017). Nesse mesmo estudo, os autores também relataram o potencial competitivo da espécie *G. cubense*, em área de pastagem ao longo do tempo (270 dias). Contudo, no presente estudo foi verificado uma redução do efeito da inoculação aos 876 dias, sendo necessário realizar uma reinoculação, para que a micorrização tenha um efeito contínuo na melhoria do solo e no rendimento das pastagens.

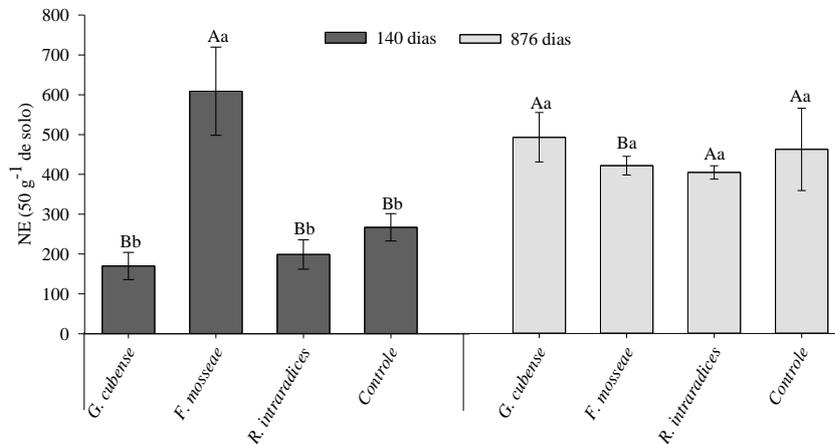
Nesse estudo, foi verificada uma correlação positiva entre o NE e a PSRG ($r=0,10$; $p<0,05$) aos 876 dias, indicando que o número de esporo favoreceu o acúmulo de glomalina no solo ao longo do tempo. A densidade de esporos de FMAs no solo é uma característica importante, por estar diretamente relacionados com a emissão das hifas extrarradiculares e da produção de glomalina, os quais influenciam no processo de formação e estabilidade dos agregados do solo (SIX et al., 2004; LEHMANN et al., 2017). Tendo em vista, que a glomalina é produzida em sua maioria (>80%) pela decomposição de hifas e esporos, e menor fração produzida de forma passiva nas paredes mais internas das hifas extrarradiculares

(WRIGHT; UPADHYAYA, 1996; DRIVER; HOLBEN; RILLIG, 2005; PURIN; RILLIG, 2007).

Estudos apontam que a produção de glomalina também é influenciada pelo estado de agregação, em que, solo com maior agregação pode ter maior comprimento de hifas extrarradiculares e menor produção de glomalina (RILLIG; STEINBERG, 2002). Esse resultado parece contraditório, no entanto, as hifas extrarradiculares apresentam maior correlação com a agregação do solo, do que com a produção de glomalina (RILLIG; STEINBERG, 2002). Tendo em vista, que a agregação é uma característica secundária da glomalina, que ocorre em função das suas propriedades de pegajosidade cimentante que auxilia na ligação das partículas minerais e orgânicas, favorecendo a melhoria da estrutura física do solo (PURIN; RILLIG, 2007; PENG et al., 2013).

Além do efeito cimentante atribuído a glomalina, essa glicoproteína é rica em carbono, que compoem cerca de 27% da fase orgânica do solo, e atua como dreno de CO₂ e estoque de C no solo, tendo em vista, que cerca de 10-20 % dos fotossitatos liberados pelas plantas é utilizado pelos FMAs no processo simbiótico (WRIGHT; NICHOLS, 2002; SIDDIQUI et al., 2008; BERBARA et al., 2006). Estimativas mostram que os FMAs são canais de drenagem de C da atmosfera para o solo através da planta, que pode drenar até 5 Gt anual de C no solo (BAGO et al., 2000). Portanto, a glomalina é considerada uma importante fonte de C orgânico no solo, sendo correlacionada positivamente com a estabilidade dos agregados do solo (WRIGHT et al., 1996; WRIGHT; UPADHYAYA, 1998; PENG et al., 2013). Por outro lado, os micélios extrarradiculares atuam na agregação através dos efeitos (mecânica/física), por meio do enredamento e direcionamento das partículas minerais e orgânica do solo, formando os micro e macroagregados, e favorecendo o aumento da estabilidade física do solo (SIX et al., 2004; CARNEIRO et al., 2015; RUBIN, STÜRMER, 2015; LEHMANN et al., 2017).

Figura 5 - Densidade de esporos dos FMAs inoculados em plantas de *U. híbrido*, sendo: NE - número de esporos. Analisados em duas épocas de avaliação: aos 140 e 876 dias após a inoculação.



Letras minúsculas representam o efeito dos tratamentos na mesma época de coleta, e letras maiúsculas representam o efeito da inoculação entre as épocas de coleta, pelo teste de Tukey a 5 % de significância.

Fonte: Da autora.

Nesse estudo, foi verificado uma maior correlação entre o CM e o Ie ($r=0,25$, $p<0,05$), do que para a PSRG e Ie ($r=0,15$; $p<0,05$). Esses resultados indicam que o comprimento dos micélios, exerceram maiores influências no índice de estabilidade estrutural do solo, do que a produção de glomalina. Em estudo realizado por Rillig e Steinberg (2002), também verificaram uma maior correlação entre o comprimento dos micélios e a agregação do solo. O mesmo tem sido relatado em outros trabalhos, que correlacionam de forma positiva a produção de hifas com a estabilidade de agregado de do solo (SIX et al., 2004; MORELL et al., 2009; LEHMANN et al., 2017). Mostrando qua a contribuição primária da micorriza na agregação, ocorre por meio da produção de hifas extrarradiculares, que atuam diretamente no enredamento e direcionamento das partículas do solo (MORELL et al., 2009; ROSIER et al., 2008). Por outro lado, o efeito da glomalina na agregação ocorre ao longo do tempo, por meio de suas propriedades de pegajosidade/cimentante e capacidade de acúmulo de C orgânico do solo.

O comportamento observado nesse estudo para CM, PSRG e NE é considerado comum, á medida que, a interação dos FMAs com as plantas é influenciada por fatores diverso de clima e solo, e inerente a própria espécie hospedeira ou das características do FMAs (GERDEMANN, 1975; SIQUEIRA; FRANCO, 1988; KLIRONOMOS et al., 2005; PARNISKE, 2008). O qual pode apresentar maior ou menor expressão fisiológica da espécie,

resultando num maior potencial de multiplicação dos esporos, produção de glomalina ou emissão de hifas extrarradiculares (KLIRONOMOS; HART, 2002; OEHL et al., 2006).

Naturalmente, as raízes das plantas de *U. híbrido* favorecem a estrutura do solo por meio dos seus exsudatos, deposição e acúmulo de carbono orgânico, exercendo efeito físico através do enredamento das partículas do solo, contribuindo para formação dos macroagregados (SALTON et al., 2008; VEZZANI; MIELNICZUK, 2011; SOUZA et al., 2016a). Esse processo ocorre a medida que, a maior densidade das raízes das gramíneas perenes, apresentam uma melhor distribuição no solo, e favorecem as ligações dos pontos de contato entre partículas minerais e orgânicas, auxiliando para formação dos agregados (SILVA; MIELNICZUK, 1997). Portanto, essas raízes associadas a micorrização potencializam o efeito da agregação do solo, na medida que, as hifas extrarradiculares atuam como uma extensão do sistema radicular das plantas, exsudação de polissacarídeos, produção de glomalina, dreno e estoque de carbono orgânico no solo, favorecendo a estabilidade estrutural do solo (DRIVER; HOLBEN; RILLIG, 2005; PURIN; RILLIG, 2007). Vários estudos também em regiões tropicais tem reportado o efeito benéfico da micorriza na agragação, que reflete na melhoria da estrutura física do solo, e ocorre ao longo do tempo e das boas práticas de manejo (SIX et al., 2004; OEHL et al., 2010; VILELA et al., 2014; CARNEIRO et al., 2015; RUBIN; STÜRMER, 2015; SOUZA et al., 2016a).

No presente estudo, foi verificado o caráter cumulativo da PSRG ao longo do tempo, em que o valor inicial de PSRG no solo referência (CAP) foi de 1,39 mg g⁻¹ de solo, ocorrendo um incremento de até 43 % aos 876 dias após a inoculação, fato, que representa um importante acréscimo de C orgânico no solo (Tabela 1). O efeito cumulativo da PSRG associado ao CM e as raízes das plantas de *U. híbrido*, contribuíram para o incremento observado no Ie, que variou de 18,76 % a 23,81 % (Tabela 2). Esse aumento da PSRG representa um incremento de até 860 (t ha⁻¹) de glomalina, que consiste numa importante entrada de C orgânico no solo, podendo aumentar a CTC, favorecer a disponibilidade de nutrientes P e N, atuar na complexação de metais pesados no solo, na retenção de água e agregação do solo (HARNER et al., 2005). Na medida em que a glomalina possui propriedade semelhante aos agentes cimentantes do solo, e geralmente está associada com humus insolúveis ou fração mineral (MORELL et al., 2009).

Tabela 2 - Incrementos observados para inoculação com FMAs, sendo: PSRG -Produção de proteína do solo relacionada a glomalina facilmente extraível; Ie-Índice de estabilidade estrutural do solo; CAP – Coleta anterior ao plantio (amostragem referência, para avaliar o estado inicial de agregação do solo). Analisados aos 876 dias após a inoculação.

Espécies	PSRG (mg g ⁻¹ de solo)	Incrementos (%) PSRG	PSRG (t ha ⁻¹)	Ie	Incrementos (%) Ie
<i>G. cubense</i>	2,43	42,98	860	0,98	23,81
<i>F. mosseae</i>	2,43	42,94	858	0,95	20,02
<i>R. intraradices</i>	2,42	42,68	853	0,94	18,76
C/planta S/Inoculação	2,41	42,44	848	0,95	20,02
CAP	1,39			0,791	

Fonte: Da autora.

O maior acréscimo do Ie com 23,81 % foi verificado para inoculação com *G. cubense* (Tabela 2). Esse efeito positivo na agregação do solo é resultante da ação conjunta das raízes das plantas de *Urochloa* (que ao longo do tempo atua como estoque de carbono orgânico no solo, através da produção de fitomassa principalmente das raízes), por meio da produção de hifas extrarradiculares, que consisti num importante agente de agregação, e da produção de glomalina que é rica C orgânico (27%) (WRIGHT; NICHOLS 2002; PARNISKE, 2008; RILLIG et al., 2017; LEHMANN et al., 2017).

O efeito positivos da inoculação com *G. cubense*, também tem sido relatado em outros estudos com pastagens, que mostram a eficiência e potencial competitivo da espécie (JENQUI et al., 2017), seja de forma isolada ou através do efeito sinérgico, como foi verificado para a interação tripartites com rizóbios e leguminosas (GONZÁLEZ et al., 2012). Além da contribuição da inoculação na agregação do solo verificada no presente estudo, outros autores também têm relatado o efeito dos FMAs em plantas de *Urochloa* para o rendimento da biomassa parte aérea e raíz, acúmulo de nutrientes e aumento da eficiência da adubação (GONZÁLEZ et al., 2011; VÁZQUEZ et al., 2010; CAÑIZARES et al., 2015)

Esses resultados mostram o potencial biotecnológico da inoculação FMAs, a ser utilizada como uma estratégia viável de baixo custo, que além de melhorar o rendimento das pastagens e aumentar a eficiência da adubação, pode auxiliar na formação e estabilidade dos agregados do solo. Portanto, a inoculação deve está associada as boas práticas de manejo, de forma que, favoreça a densidade e diversidade de espécies nativas de FMAs, auxilie no rendimento das forragens aumentando o potencial produtivo das áreas de pastagens, mantendo e/ou melhorando a estabilidade estrutural do solo.

4 CONCLUSÕES

A inoculação com *F. mosseae* apresentou o maior número de esporos aos 140 dias de cultivo.

A inoculação com *G. cubense* apresentou o maior número de esporos e comprimento dos micélios extrarradiculares aos 876 dias de cultivo.

Todas as espécies inoculadas apresentaram efeito positivo para produção de proteína do solo relacionada a glomalina aos 140 dias de cultivo.

Não houve efeito da inoculação para produção de proteína do solo relacionada á glomalina aos 876 dias.

A inoculação com FMAs favoreceu a estabilidade de agregados via seco aos 876 dias.

A inoculação com *G. cubense* apresentou melhor índice de estabilidade estrutural aos 876 dias. Não havendo efeito da inoculação aos 140 dias.

REFERÊNCIAS

- ALLEN, M. F. **The ecology of mycorrhizae**. New York. Academic Press. 1991.
- BAGO, B.; SHACHAR-HILL, Y.; PFEFFER, P. Dissecting carbon pathways in arbuscular mycorrhizas with NMR spectroscopy. En *Current advances in mycorrhizae research*. Edited by Gopi K, Podila and Douds D. D. **The American Phytopathological Society**, p. 111-126, 2000.
- BERBARA, R. L. L.; SOUZA, F. A.; HENRIQUE, M. A. C. 2006. III-**fungos micorrízicos arbusculares**: muito além da nutrição. P: 53-85. En: *Nutrição Mineral de Plantas*, SBCS, Viçosa (ed. Fernandes, M. S.), 432 p. 2006.
- 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, n. 1, 248-254, 1976.
- CAÑIZARES, P. J. G.; PEDROSO J. F. R.; ROSEMOND O. M.; ESPINOSA R. R.; LLERENA, R. P. Contribución de la inoculación micorrízica arbuscular a la reducción de la fertilización fosfórica en *Brachiaria decumbens*. **Cultivos Tropicales**, v. 36, n. 1, p135-142, 2015.
- CARNEIRO, M. A. C.; FERREIRA, D. A.; SOUZA, E. C.; HELDER BARBOSA PAULINO, H. B.; SAGGIN-JUNIOR, O. J.; Siqueira, J. O. Arbuscular mycorrhizal fungi in soil aggregates from fields of “murundus” converted to agriculture. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 50, p. 313-321, 2015.
- CRESPO FLORES, G.; RAMÍREZ, J. F.; GONZÁLEZ, P. J.; HERNÁNDEZ, I. Co-inoculation of rhizobium strains and one of the arbuscular micorrhizal fungus on *Stylosanthes guianensis* c ROSALES. CIAT-184. **Cuban Journal of Agricultural Science**, v. 48, n. 3, 2014.
- CRESPO, G. La problemática de la degradación de los suelos en áreas ganaderas de América Tropical. Vías sostenibles de recuperación. I Forum Latinoamericano de Pastos y Forrajes. La Habana, Cuba [cd-room], 2001.
- DRIVER, J. D.; HOLBEN, W. E. Y.; RILLIG, M. C. Characterization of glomalin as a hyphal wall component of arbuscular mycorrhizal fungi. **Soil Biology e Biochemistry**, v. 37, p. 101-106, 2005.
- FERNÁNDEZ, F.; GÓMEZ, R.; VANEGAS, L. F.; MARTÍNEZ, M. A.; DE LA NOVAL, B. M.; RIVERA, R. Producto inoculante micorrizógeno. Oficina Nacional de Propiedad Industrial. Cuba, Patente. n. 22641, 2001.
- FERREIRA, D. F. Sisvar. A computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**. (UFLA). v. 35, p. 1039–1042, 2011.
- GERDEMANN, J. W. Vesicular–arbuscular mycorrhizae. In: Torrey JG e Clarkson DT. (Eds.) **The development and function of roots**. New York. Academic Press. p. 32, 1975.

- GERDEMANN, J. W.; NICOLSON T. H. Spores of mycorrhizal Endogone species extracted from soil by wet sieving and decanting. **Transaction of British Mycology Society**, v. 46, n. 2, 235-244, 1963.
- GONZÁLEZ, P. J.; ARZOLA, J.; MORGAN, O.; ESPINOSA, R. R.; RAMÍREZ, J. F. Efecto de la inoculación de la cepa de hongo micorrízico arbuscular *glomus hoi-like* en la respuesta de *Brachiaria híbrido* cv. Mulato ii (ciat 36087) a la fertilización orgánica y nitrogenada. **Cultivos Tropicales**, v. 32, n. 4, p. 5-12, 2011.
- GONZÁLEZ, P. J.; PÉREZ, G.; MEDINA, N.; CRESPO, G.; RAMÍREZ, J. F.; ARZOLA, J. Coinoculación de cepas de rizobios y una cepa de hongo micorrízico arbuscular (*Glomus cubense*) y su efecto en kudzú (*Pueraria phaseoloides*). Nota técnica. **Revista Cubana de Ciencia Agrícola**, v. 46, n. 3, 2012.
- GONZÁLEZ, P. J.; RAMÍREZ, J. F.; ESPINOSA, R. R.; HERNÁNDEZ, A.; PLANA R.; CRESPO, G.; ROSALES, P. R. Management of arbuscular mycorrhizal inoculation for the establishment, maintenance and recovery of grasslands. **Cuban Journal of Agricultural Science**, v. 49, n. 4, 2015.
- GONZÁLEZ, P. J.; RAMÍREZ, J. F.; MORGAN, O.; RIVERA, R.; PLANA, R. Contribución de la inoculación micorrízica arbuscular a la reducción de la fertilización fosfórica en *Brachiaria decumbens*. **Cultivos Tropicales**, v. 36, n. 1, 135-142, 2015.
- HARNER, M. J.; RAMSEY, P. W.; RILLIG, M. C. Protein accumulation and distribution in foodplain and river foam. **Ecology Letters**, n. 7, p. 829-836, 2005.
- HERNÁNDEZ, A., PÉREZ, J.M., BOSCH, D. Y CASTRO, N. **Clasificación de los Suelos de Cuba 2015**. Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas e Instituto de Suelos de Cuba. Mayabeque, Cuba, 64 p. 2015.
- HERNÁNDEZ, J.L. **Métodos para el análisis físico de los suelos**, edit. Ediciones INCA, La Habana, p. 54, ISBN 978-959-7023-39-5, 2007.
- HERRERA, R. S. Evaluación de gramíneas. Contribución del Instituto de Ciencia Animal. **Revista Cubana de Ciencia Agrícola**, v. 39, n. 3, p. 253-259, 2005.
- JENKINS, WR. A rapid centrifugal-flotation technique for separating nematodes from soil. **Plant Disease Report**, Beltsville, v. 48, n. 1 p. 692, 1964.
- JENQUI, P. R. R.; CAÑIZARES, P. J. G.; RAMÍREZ, P. J. F.; BATISTA, J. A. Selección de cepas eficientes de hongos micorrízicos arbusculares para el pasto guinea (*Megathyrsus maximus* cv. *Likoni*). **Cultivos Tropicales**, v. 38, n. 1, p. 24-30, 2017.
- KLIRONOMOS, J. N.; ALLEN, M. F.; RILLIG, M. C.; PIOTROWSKI, J.; MAKVANDI-NEJAD, S.; WOLFE, B. E.; POWELL, J. R. Abrupt rise in atmospheric CO₂ overestimates community response in a model plant-soil system. **Nature**, v. 433 n. 7026, p. 621-624, 2005.
- KLIRONOMOS, J. N.; HART, M. M. Colonization of roots by arbuscular mycorrhizal fungi using different sources of inoculum. **Mycorrhiza**, v. 12, p. 181-184, 2002.

LEHMANN, E. F.; LEIFHEIT, A.; RILLIG, M. C. Mycorrhizas and Soil Aggregation Mycorrhizal. **Mediation of Soil**, 2017.

MELLONI, R.; CARDOSO, E. J. B. N. Quantificação de micélio extraradicular de fungos micorrízicos arbusculares em plantas cítricas e endófitos. I. Método empregado. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**. n. 23, p. 53-8, 1999.

MINAG. **Programa para la reconstrucción de la masa ganadera**. Síntesis del informe "Análisis integral de la situación actual y perspectiva del desarrollo de la ganadería vacuna en el país". Ministerio de la Agricultura. Cuba. p. 16, 2005.

MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e Bioquímica do solo**. 2. ed. [s.l.] Universidade Federal de Lavras. p. 729, 2006.

MORELL, F.; HERNÁNDEZ, A.; BORGES, Y.; MARENTES, FRANCY L. La actividad de los hongos micorrízicos arbusculares en la estructura del suelo. **Cultivos Tropicales**, v. 30, n. 4, p.25-31, 2009.

OEHL, F.; LACZKO, E.; BOGENRIEDER, A.; STAHR K.; BÖSCH, R.; HEIJDEN, M. V. D.; EWALD SIEVERDING. Soil type and land use intensity determine the composition of arbuscular mycorrhizal fungal communities. **Soil Biology e Biochemistry**, v. 42, p. 724-738, 2010.

OEHL, F.; SYKOROVA, Z.; REDECKER, D.; WIEMKEN, A.; SIEVERDING, E. *Acaulospora alpina*, a new arbuscular mycorrhizal fungal species characteristic for high mountainous and alpine regions of the Swiss Alps. **Mycologia**, v. 98, p. 286-94, 2006.

OLIVERA, Y.; MACHADO, R.; RAMIREZ, J. F.; CASTAÑEDA, L. Evaluación del establecimiento de una colección de accesiones de *Brachiaria brizantha* asociadas con *Stylosanthes guianensis* CIAT-184. **Pastos y Forrajes**, v. 35, n. 2, p. 153 – 164, 2012.

PARNISKE, M. Arbuscular mycorrhiza: the mother of plant root endosymbioses. **New Rev Microbiol**, v. 6, p. 763-75, 2008.

PENG, S.; GUO, T.; LIU, G. The effects of arbuscular mycorrhizal hyphal networks on soil aggregations of purple soil in sothwest China. **Soil Biology Biochemistry**, v. 57, n. 2, p. 411–417, 2013.

PURIN, S. **Fungos micorrízicos arbusculares: atividade, diversidade e aspectos funcionais em sistemas de produção de maçã**. 152 f. Dissertação (Mestrado) – Ciência do Solo, Universidade do Estado de Santa Catarina – UDESC, Lages 2005.

PURIN, S.; RILLIG, M. C. The arbuscular mycorrhizal fungal protein glomalin: Limitations, progress, and a new hypothesis for its function. **Pedobiologia**, v. 51, p. 123-30, 2007.

RILLIG, M. C.; MARDATIN, N, F.; LEIFHEIT, E. F.; ANTUNES, P. M. Mycelium of arbuscular mycorrhizal fungi increases soil water repellency and is sufficient to maintain water-stable soil aggregates. **Soil Biology e Biochemistry**, v. 42, 2010.

RILLIG, M. C.; MULLER, L. A.; L. ANIKA. Soil aggregates as massively concurrent evolutionary incubators. **The ISME Journal**, p. 1–6, 2017.

RILLIG, M. C.; STEINBERG, P. D. Glomalin Production by an Arbuscular Mycorrhizal Fungus: A Mechanism of Habitat Modification? **Soil Biology and Biochemistry**, n. 34, p. 1371-1374, 2002.

RODRÍGUEZ, Y.; DALPÉ, Y.; SÉGUIN, S.; FERNÁNDEZ, K.; FERNÁNDEZ, F.; RIVERA RA. *Glomus cubense* sp. nov., an arbuscular mycorrhizal fungus from Cuba. **Mycotaxon**, v. 118, p. 337–347, 2011.

ROSALES, P. **Contribución de la inoculación micorrízica arbuscular a la reducción de la fertilización para la rehabilitación de un pastizal de guinea** (*Panicum maximum* cv. Likoni). Tesis de Maestría. Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas. San José de las Lajas, Mayabeque, Cuba. 2014.

ROSIER, C. L.; PIOTROWSKI, J. S.; HOYE, A. T. Y RILLIG, M. C. Intraradical protein and glomalin as a tool for quantifying arbuscular mycorrhizal root colonization. **Pedobiologia**, v. 52, n. 8, p. 41-50, 2008.

RUBIN, J. G. K. R.; STÜRMER, S. L. Potencial de inóculo micorrízico e importância do comprimento do micélio para a agregação de solos de ambiente fluvial. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 39, p. 59-68, 2015.

SALTON, J.C.; MIELNICZUK, J.; BAYER, C.; BOENI, M.; CONCEIÇÃO, P.C.; FABRÍCIO, A.C.; MACEDO, M.C.M.; BROCH, D.L. Agregação e estabilidade de agregados do solo em sistemas agropecuários em Mato Grosso do Sul. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 32, p. 11-21, 2008.

SIDDIQUI, Z. A.; SAYEED, M.; FUTAI, K. **Mycorrhizae: sustainable agriculture and forestry**. Ed: Springer Science + Business Media B. v., 359 p. ISBN: 978-14020-8769-1, 2008.

SILVA I. F.; MIELNICZUK, J. Ação do sistema radicular de plantas na formação e estabilização de agregados do solo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, n. 20 p. 113-117, 1997.

SIQUEIRA, J. O.; FRANCO, A. A. **Biotecnologia do solo: fundamentos e perspectivas**. Brasília: MEC/ ABEAS/Lavras: ESAL/FAEPE. p. 236, 1988.

SIX, J.; BOSSUYT, H.; DEGRYZE, S.; DENEFF, K. A history of research on the link between (micro) aggregates, soil biota, and soil organic matter dynamics. **Soil and Tillage Research**, v.79, n.1, p.7–31, 2004.

SOIL SURVEY STAFF. **Soil taxonomy**: a basic system of soil classification for making and interpreting soil surveys. Natural Resources Conservation Service. Department of Agriculture, United States, 1999

SOUZA E. D.; CARNEIRO M. A. C.; PAULINO, H. B.; RIBEIRO, D. O. BAYER, Cc.; A. R. LEONARDO. Matéria orgânica e agregação do solo após conversão de “campos de murundus” em sistema plantio direto. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.51, n.9, p.1194-1202, 2016.

VÁZQUEZ, B.; RIVERA, R.; FERNÁNDEZ, K. ; RODRÍGUEZ, Y. Caracterización del comportamiento micorrízico en *Brachiaria decumbens* inoculada con *Glomus hoi-like*. **Cultivos Tropicales**, v. 31, n. 3, p. 21-26, 2010.

VEIGA, M.; REINERT, D.; REICHERT, J. M. Aggregate stability as affected by short and long-term tillage systems and nutrient sources of a hapludox in southern brazil. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 33, p. 767-777, 2009.

VEZZANI, F.M.; MIELNICZUK, J. Agregação e estoque de carbono em Argissolo submetido a diferentes práticas de manejo agrícola. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 35, p. 213-223, 2011.

VILELA, L. A.; F SAGGIN JÚNIOR, O. J.; PAULINO, H. B.; SIQUEIRA, J. O.; SILVA SANTOS, V. L.; CARNEIRO, M. A. C. Arbuscular mycorrhizal fungus in microbial activity and aggregation of a cerrado oxisol in crop sequence. **Ciência e Agrotecnologia**, v.38, n.1, p.34-42, 2014.

WENDLING B.; JUCKSCH I.; MENDONÇA E. DE S.; NEVES J. C. L. Carbono orgânico e estabilidade de agregados de um Latossolo Vermelho sob diferentes manejos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 40, n. 5, p. 487-494, 2005.

WRIGHT, S. F.; FRANKE-SNYDER, M.; MORTON, J. B.; UPADHYAYA, A. Time-course study and partial characterization of a protein on hyphae of arbuscular mycorrhizal fungi during active colonization of roots. **Plant and Soil**, v. 181, n. 2, p. 193-203, 1996.

WRIGHT, S. F.; NICHOLS, K. A. Glomalin: hiding place for a third of the world's stored soil carbon. **Agric Research**, n. 50, p. 4-7, 2002.

WRIGHT, S. F.; UPADHYAYA, A. Extraction of an abundant and unusual protein from soil and comparison with hyphal protein from arbuscular mycorrhizal fungi. **Soil Sci**, 161:575–586, 1996.

WRIGHT, S.; 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 n. 1, p. 97-107, 1998.

YODER, R. E. A direct method of aggregate analysis of soil and a study of the physical nature of erosion losses. **Journal of America Society of Agronomy**, v. 28, p. 337-351, 1936.