UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
INSTITUTO DE BIOCIÊNCIAS – RIO CLARO

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS (MICROBIOLOGIA APLICADA)

MANEJO DE TRANSIÇÃO PARA AGRICULTURA ORGÂNICA, SOB CULTIVO DE CITROS (C*itrus sinensis* L. Osbeck), FAVORECE A DIVERSIDADE DE FUNGOS NO SOLO

JULIANA CRISTINA SCOTTON

Dissertação apresentada ao Instituto de Biociências do Câmpus de Rio Claro, Universidade Estadual Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências Biológicas (Microbiologia Aplicada).

Abril - 2016

JULIANA CRISTINA SCOTTON

MANEJO DE TRANSIÇÃO PARA AGRICILTURA ORGÂNICA, SOB CULTIVO DE CITROS (*Citrus sinensis* L. Osbeck), FAVORECE A DIVERSIDADE DE FUNGOS NO SOLO

Dissertação apresentada ao Instituto de Biociências do Câmpus de Rio Claro, Universidade Estadual Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências Biológicas (Microbiologia Aplicada).

Orientadora: Dra Derlene Attili de Angelis

Rio Claro

2016

589.2 Scotton, Juliana Cristina
S428m Manejo de transição para agricultura orgânica, sob cultivo de citros (Citrus sinensis L. Osbeck), favorece a diversidade de fungos no solo / Juliana Cristina Scotton. - Rio Claro, 2016
73 f. : il., figs., gráfs., tabs., fots.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências de Rio Claro
Orientadora: Derlene Attili de Angelis

1. Fungos. 2. Diversidade. 3. Manejo de transição. 4. Citros. I. Título.

Ficha Catalográfica elaborada pela STATI - Biblioteca da UNESP
Campus de Rio Claro/SP

JULIANA CRISTINA SCOTTON

MANEJO DE TRANSIÇÃO PARA AGRICILTURA ORGÂNICA, SOB CULTIVO DE CITROS (*Citrus sinensis* L. Osbeck), FAVORECE A DIVERSIDADE DE FUNGOS NO SOLO

Dissertação apresentada ao Instituto de Biociências do Câmpus de Rio Claro, Universidade Estadual Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências Biológicas (Microbiologia Aplicada).

Orientadora: Dra Derlene Attili de Angelis

Comissão Examinadora

_____

Prof.ª Dra. Derlene Attili de Angelis

Centro de Estudos Ambientais - CEA - Universidade Estadual Paulista - Orientadora

_____

Prof.ª Dra. Kátia Cristina Kupper

Pesquisadora no Instituto Agronômico de Campinas - IAC

_____

Prof. Dr. André Rodrigues

Departamento de Bioquímica e Microbiologia – Universidade Estadual Paulista

Rio Claro, SP 26 de Abril de 2016

AGRADECIMENTOS

Ao Centro de Pesquisa Mokiti Okada, na pessoa do coordenador geral Luiz Carlos Demattê Filho, pelo financiamento da pesquisa e bolsa de estudo, oportunidade de crescimento e permissão para a realização deste trabalho.

À professora Dra. Derlene Attili de Angelis pela orientação, paciência e tempo cedido.

Ao coordenador de pesquisa Sérgio Kenji Homma pelo apoio, orientação e compreensão nos momentos de crise.

À família e amigos que compreenderam minha falta de tempo e meu estresse, sem deixar de me apoiar e incentivar.

Ao Instituto de Biociências e ao Centro de Estudos Ambientais (CEA) – Laboratório de Meio Ambiente da Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquista Filho".

À equipe do Setor Solos do CPMO, Amália Busoni, Diego Pelizari, Rodrigo Longaresi, Reinaldo Botelho, Wesley e Aleçandra Fialho e Cleiton Beijo, pelo incentivo e auxílio.

À secretaria de apoio a pesquisa, Caroline Melotto e Giuliana Magalhães.

Aos estagiários Angela, Antonio Donizete Perrussi Junior, Henrique Curi Penna, Guilherme Alquati, Ana Flora, Laís Gercke Lotufo Estevam pelo auxílio nas análises.

Ao laboratório do CPMO, Maria Evanir Ferreira, Camila Kiritani e Isabel Sousa.

Ao produtor Sr. Milton Keigo Minowa pela confiança e espaço cedido para a implantação do experimento e coleta das amostras.

Ao professor Dr. Silvio Govone pelo auxilio nas análises estatísticas.

À todos que me ajudaram com palavras de incentivo e carinho e foram ouvidos nos momentos de desabafo.

Muito Obrigada!

Que a natureza seja refúgio, inspiração e alento, na qual a simples contemplação,
ilumine os olhos e faça a alma vibrar!
(SCOTTON, 2016)

RESUMO

A transformação da produção agrícola atual de forma sustentável e produtiva se caracteriza como um dos maiores desafios da atualidade. A transição de manejos convencionais para aqueles mais sustentáveis é uma alternativa de transformação, na qual as plantas se tornam mais dependentes das interações microbianas, constituindo-se um fator chave no controle da produtividade e da qualidade nos ecossistemas agrícolas. O objetivo deste trabalho foi avaliar a influência do manejo de transição, da agricultura convencional para a agricultura orgânica, sobre a diversidade de fungos do solo, em cultivo de citros. O experimento foi realizado na área experimental de citros na Fazendo Santo Antonio do Lageado em Mogi Guaçu-SP. O delineamento utilizado foi em faixas contemplando dois tratamentos, manejo convencional (MC) e manejo de transição (MT) com quatro anos de implantação, avaliados no período seco e úmido, sob os parâmetros de número de unidades formadoras de colônia (UFC), riqueza e diversidade dos principais grupos de fungos, parâmetros micorrízicos e físico-químicos do solo. Os dados individuais foram submetidos a análise de variância e as médias comparadas pelo teste t. A associação das variáveis microbiológicas e físico-químicas do solo foi avaliada por meio do coeficiente de correlação de Pearson, sendo ambos os testes a 5% de probabilidade. Além disso, foi utilizada a análise de componentes principais para interpretação geral dos dados. As contagens de UFC não apresentaram diferenças entre tratamentos nos períodos avaliados, no entanto o MT demonstrou maior riqueza e diversidade de grupos fúngicos no solo em ambos os períodos. Foram identificados 11 táxons distintos, dentre eles *Aspergillus* spp., *Fusarium* spp., *Metarhizium* spp., *Paecilomyces* spp., *Penicillium* spp., *Phialophora* spp., *Neurospora* spp., *Trichoderma* spp., Dematiáceos, Leveduras e Mucoromycotina. A frequência fúngica demonstrou predominância de *Paecilomyces* spp. para o MC, com 45% de isolados deste gênero, enquanto a distribuição do MT se mostrou mais equilibrada em termos de gêneros. Nos parâmetros micorrízicos, houve maior esporulação no MT para o período seco. As correlações de Pearson indicaram que enxofre (S), alumínio (Al), capacidade de troca de cátions (CTC), temperatura e textura foram os parâmetros que mais apresentaram associações com os fungos avaliados. A análise de componentes principais, revelou distinção entre os tratamentos e períodos. Perante os resultados obtidos sugere-se que a maior diversidade no MT expressa maior estabilidade e eficiência na utilização de recursos disponíveis, além de ser mais eficiente na propagação de fungos micorrízicos, por meio de esporos.

Palavras-chave: Fungos do solo. Diversidade. Manejo de transição. Citros.

ABSTRACT

The productive and sustainable changing of the current agricultural production is one of the greatest challenges of our time. The transition from conventional agriculture to sustainable models is an alternative, which plants become more dependent for microbial interactions. That is a key factor for agricultural yield and quality in the ecosystems. The aim of this study was to evaluate the effects of transition management, from conventional agriculture to organic farming, on the soil fungal diversity in citrus cultivation. This experiment was performed in a citrus orchard settled at the Santo Antonio do Lageado farm, in Mogi Guaçu-SP. The design was in strip with two treatments, conventional management (CM) and transition management (TM). This assay has been conducted for four years and the present data refers to one year, assessed at the dry and wet season. The amount of colony forming units (CFU), richness and diversity of the major groups of fungi, mycorrhizal and physico-chemical parameters of the soil were applied. The individual data were submitted to analysis of variance and the means were compared by t test. The correlation of the soil microbiological and the physico-chemical attributes were tested by the Pearson correlation coefficient, all of them under probability of 5%. The principal component analysis (PCA) was applied in order to get a general overview of the data. The count UFC data showed no difference between treatments in the evaluated periods. However, the TM showed greater richness and diversity of the soil fungi groups at the both periods. We identified 11 distinct fungal taxa, including *Aspergillus* spp., *Fusarium* spp., *Metarhizium* spp., *Paecilomyces* spp., *Penicillium* spp., *Phialophora* spp., *Neurospora* spp., *Trichoderma* spp., Dematiaceous, Yeasts and Mucoromycotina. The fungal frequency showed predominance of the *Paecilomyces* spp. in the MC, with 45% among the all isolated genera. In the TM the *Paecilomyces* spp. showed more balanced amount in terms of genera. There was a higher mycorrhizal sporulation in the TM at the dry season. The Pearson's correlations indicated that the sulfur (S), aluminum (Al), capacity of cation exchange (CEC), temperature and texture, were those that most correlated with the fungi of this study. The principal component analysis revealed distinction between treatments and season. By these results we suggest that higher diversity of fungal groups in the TM point out higher stability and efficient use of the available resources. In addition, the TM showed more efficient propagation of mycorrhizal fungi, considering it higher amount of spores.

Keywords: Soil fungi. Diversity. Transition management. Citrus.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

_S	Seco
_U	Úmido
AA	Ágar Aveia
Al	Alumínio
ANOVA	Análise de Variância
ASP	*Aspergillus* spp.
B	Boro
BDA	Batata Dextrose Ágar
BOD	*Biological Oxigen Demand*
BSA	Soro Albumina Bovina
C	Compartilhamento
Ca	Cálcio
$CaCl_2$	Cloreto de Cálcio
cm	centímetro
COL	Colonização micorrízica
CP 1	Componente 1
CP 2	Componente 2
CPMO	Centro de Pesquisa Mokiti Okada
CTC	Capacidade de troca de cátions
Cu	Cobre
D	Índice de Simpson
DEM	Dematiáceos
D_{mg}	Índice de riqueza de Margalef
EE-BRSP	Easily Extractable Bradford Reagent Soil Protein (Frações de Proteína Relacionadas a Glomalina Facilmente Extraível)
ESP	Esporos micorrízicos
Fe	Ferro
FMA	Fungos Micorrízicos Arbusculares
FUS	*Fusarium* spp.
g	Grama

h	hora
H'	Índice de Shannon
HCl	Ácido clorídrico
K	Potássio
K_2O	Sulfato de Potássio
KOH	Hidróxido de potássio
L	Litro
LEV	Leveduras
MC	Manejo convencional
MET	*Metarhizium* spp.
Mg	Magnésio
mL	Mililitro
mM	Massa Molar
mm	Milímetro
Mn	Manganês
MO	Matéria Orgânica
MT	Manejo de transição
MUC	Mucoromycotina
N_2O	Óxido nitroso
NaOH	Hidróxido de sódio
NEU	*Neurospora* spp.
nm	Nanômetro
P	Fósforo
PAE	*Paecilomyces* spp.
PAST	*Paleontological Statistics*
PCA	Análise de Componentes Principais
PEN	*Penicillium* spp.
pH	Potencial hidrogeniônico
PHI	*Phialophora* spp.
rpm	Rotação por minuto
S	Enxofre
SDA	Sabouraud Dextrose Ágar

SISVAR	Sistema de Análise de Variância
TRI	*Trichoderma* spp.
UFC	Unidades Formadoras de Colônia
UFSCar	Universidade Federal de São Carlos
Zn	Zinco

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO 12

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA 14
2.1 Biodiversidade e Sustentabilidade nos ecossistemas agrícolas 14
2.2 Os fungos e a importância econômica na agricultura 15
2.3 Agricultura: passado, presente e futuro 18

3 OBJETIVOS 21
3.1 Objetivo geral 21
3.2 Objetivos específicos 21

4 MATERIAL E MÉTODOS 22
4.1 Área experimental 22
4.2 Tratamentos e descrição de manejos 23
4.3 Pluviometria e temperatura 25
4.4 Coletas de solo e raiz 25
4.5 Análise físico-química do solo da área experimental 27
4.6 Temperatura e umidade do solo 28
4.7 Meios de cultivo e soluções 30
4.8 Isolamento e quantificação de fungos 32
4.8.1 Classificação e purificação das colônias 33
4.8.2 Preservação das colônias 33
4.8.3 Identificação taxonômica 34
4.8.4 Cálculo da porcentagem dos isolados fúngicos 35
4.8.5 Registro da pesquisa científica 35
4.8.6 Análise da diversidade dos fungos 35
4.9 Análise dos fungos micorrízicos arbusculares 36
4.9.1 Porcentagem de colonização micorrízica 36
4.9.2 Quantificação de esporos micorrízicos 36
4.9.3 Quantificação de proteína relacionada a glomalina facilmente extraível 36

4.10 Análise estatística 37

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO 38
5.1 Quantificação de fungos no solo 38
5.2 Identificação dos grupos de fungos do solo estudado 39
5.3 Porcentagem dos grupos fúngicos identificados 42
5.4 Diversidade de fungos no solo 45
5.5 Fungos micorrízicos arbusculares (FMA) 46
5.6 Correlação dos atributos microbiológicos e físico-químicos do solo 48
5.7 Análise multivariada dos parâmetros estudados 54

6 CONSIDERAÇÕES 57

REFERÊNCIAS 58

BIBLIOGRAFIA CONSULTADA 70

ANEXO A 71

1 INTRODUÇÃO

A produção de alimentos seguros e de qualidade para a crescente população mundial, aliada a um menor impacto ambiental e humano, são os principais desafios que descortinam o cenário global do século XXI. Práticas agrícolas convencionais têm se mostrado insuficientes e a transformação da produção agrícola atual de forma sustentável e produtiva se caracteriza como um dos maiores obstáculos da atualidade (HOFFMANN, 2013).

Dentre as culturas de destaque no Brasil encontra-se a citricultura, que apesar de ser a mais produtiva do mundo (BRASIL, 2014), enfrenta grandes desafios fitossanitários, o que tem induzido os produtores a desistirem desta cultura. Neste sentido, o desenvolvimento de técnicas agrícolas que possibilitem a migração de modelos convencionais para aqueles mais sustentáveis tem despertado interesse (CPMO, 2016), pois se apresenta como uma possibilidade de transformação.

Uma nova proposta que se desponta em termos de modelo de produção de alimentos é a agricultura orgânica, sistema de cultivo onde são eliminados os agroquímicos e as práticas que agridem o ecossistema.

Com a finalidade de propor novas soluções para esses desafios, o Centro de Pesquisa Mokiti Okada (CPMO) conduz um projeto de pesquisa que contempla o manejo de transição agrícola convencional para o sistema orgânico, utilizando uma variedade de citros como cultura teste. Baseado nos princípios da Agricultura Natural de Mokiti Okada, o CPMO estuda a redução e/ou substituição gradativa de fertilizantes e agroquímicos, conjugados com manejo de solo e matéria orgânica para que este consiga reassumir sua capacidade produtiva por meio da evolução de suas propriedades naturais (OKADA, 2005). Nesta proposta de produção agrícola as plantas se tornam mais dependentes das interações microbianas, fazendo com que o solo assuma uma condição central.

Considerado um habitat dinâmico, heterogêneo e complexo, o solo exibe uma das maiores diversidades microbianas que se conhece, que associadas a fatores físicos e químicos constituem um fator chave no controle da produtividade e da qualidade nos ecossistemas agrícolas (KENNEDY, 1999; MENDES et al., 2011).

Dos micro-organismos conhecidos pela atuação benéfica desempenhada nestes sistemas, encontra-se os fungos que representam a maior parte da biomassa microbiana do solo. Atuam em processos vitais como a ciclagem e disponibilização de nutrientes, estabilização das

partículas de solo, promoção do crescimento das plantas, controle de patógenos e insetos praga e degradação de moléculas químicas (PFENNING, 2013). Esses micro-organismos também são menos afetados pelas mudanças climáticas, relacionadas à seca, quando comparados às bactérias (DE VRIES et al., 2012), pois possuem maior capacidade em suportar distúrbios (PIMM, 1984).

Por isso, se bem manejados, os fungos exibem enorme potencial para contribuir com a construção de um modelo mais sustentável, com sistemas agrícolas mais eficientes e otimizados (ELLOUZE et al., 2014; LANGE, 2014). Entretanto, nosso entendimento sobre a diversidade, funcionamento e interações ecológicas dos fungos com o solo e as plantas permanecem parcialmente restritos, sobretudo em sistemas agrícolas de transição (BEDINI et al., 2013).

Assim, entender a influência do manejo de transição, da agricultura convencional para a agricultura orgânica, nas populações de fungos do solo, como proposto neste trabalho, é primordial para o desenvolvimento de técnicas agrícolas sustentáveis.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Biodiversidade e Sustentabilidade nos ecossistemas agrícolas

Biodiversidade pode ser definida como a interação entre diversidade genética, funcional e taxonômica e seu estudo possibilita determinar o funcionamento e estabilidade dos ecossistemas terrestres, sendo de extrema importância para o futuro da agricultura (MATOS; SILVA; BERBARA, 1999).

A sustentabilidade, conceito central das discussões sobre o destino do planeta e das comunidades ecológicas que nele habitam, é definida como qualquer atividade que possa ser reproduzida no futuro próximo, ou seja, suprir as necessidades atuais sem comprometer o futuro das próximas gerações (BEGON; TOWNSEND; HARPER, 2007).

Ecossistemas agrícolas, ou agroecossistemas, são considerados reservatórios da biodiversidade e o fator determinante para sua conservação dependerá do tipo de manejo empregado (ALTIERI; NICHOLLS, 1999).

Identificar tecnologias agrícolas que possibilitem a conservação da biodiversidade, aliada a uma produtividade satisfatória, não é tarefa fácil. Porém, se torna mais palpável se considerarmos que a diversidade microbiana é um fator que influencia a produtividade e a qualidade nos ecossistemas agrícolas (KENNEDY, 1999).

Altieri, Silva e Nicholls (2003) consideram a agricultura como a principal atividade de impacto na biodiversidade, alcançando seu auge nas monoculturas, que utilizam produtos químicos constantemente. Mas, com a utilização de práticas agrícolas o manejo orgânico pode ser tão produtivo quanto o convencional, além de propiciar um balanço energético mais favorável, bem como a conservação do solo e da água (ALTIERI, 2002). Ademais, manejos agrícolas que utilizem menos insumos podem promover sistemas de auto regulação e maior biodiversidade (THIELE-BRUHN et al., 2012).

O conhecimento das interações entre diferentes sistemas agrícolas e comunidades microbianas do solo é essencial para o monitoramento, manejo e conservação desses agroecossistemas (GOSS-SOUZA et al., 2016). A utilização de índices e medidas de diversidade biológica pode ser uma ferramenta útil para se alcançar esse objetivo.

Neste sentido, a literatura apresenta várias opções para medir a diversidade de organismos em diferentes ecossistemas. Para os grupos fúngicos os índices de Margalef (D_{mg}), Shannon (H') e Simpson (D) são os mais comumente utilizados (PRADE et al., 2007).

O índice de Margalef (D_{mg}) expressa a riqueza de espécies, considerando uma relação linear entre o número de espécies e o número total de indivíduos. O índice de Shannon (H') expressa diversidade específica e de dominância, considerando que todas as espécies são representadas na amostra coletada, atribuindo maior peso a espécies raras. O índice de Simpson (D) expressa dominância, apresentando abundância das espécies mais comuns (MAGURRAN, 2013; MATOS; SILVA; BERBARA, 1999). Ainda segundo os mesmos autores, a utilização de diferentes métodos para medir a diversidade, possibilita informações complementares e uma avaliação mais ampla da estrutura da comunidade estudada, já que nenhum índice é considerado perfeito.

2.2 Os fungos e a importância econômica na agricultura

Apesar das doenças causadas por fungos representarem prejuízos anuais às lavouras, eles são imprescindíveis para a sustentabilidade dos ecossistemas agrícolas. A relação com as plantas e os limites entre fungos patógenos, tróficos e simbiontes vai depender das interações entre hospedeiro e condições ambientais (BEDENDO, 1995; PRIMAVESI, 1999), apresentando inúmeros benefícios em ecossistemas estáveis.

Dentre eles destaca-se a ciclagem e disponibilização de nutrientes. A partir da degradação de substratos complexos de origem vegetal, como celulose e seus derivados, além de quitina e componentes recalcitrantes do solo, representam cerca de 90% da produtividade primária líquida na maioria dos ecossistemas terrestres (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006; THORN; LYNCH, 2007).

Os fungos desempenham importante papel no biocontrole de doenças e pragas, atuando sobre alvos de grande importância econômica. Atualmente no mercado global, existem mais de 130 produtos comerciais para o controle biológico e os fungos constituem a base de 65% desses produtos (BETTIOL et al., 2012). No manejo das doenças, podemos citar o fungo leveduriforme *S. cerevisiae* no controle da queda prematura de frutos cítricos (LOPES et al., 2015) e o filamentoso *Trichoderma* utilizado para controlar diversas doenças causadas por patógenos de solo e de parte área (CAVERO et al., 2015; MORANDI; BETTIOL, 2009;

POMELLA; RIBEIRO, 2009). Com relação ao manejo de pragas, ocorrem no Brasil, mais de 20 gêneros de fungos entomopatogênicos descritos parasitando insetos de várias ordens (ALVES, 1998). Para a cultura do citros, o controle de algumas pragas como a cochonilha *(Orthezia praelonga)*, broca do citros (*Diploschema rotundicolle*), ácaro da ferrugem (*Phyllocoptruta oleivora*) e ácaro rajado (*Tetranychus urticae*) pode ser realizada com os produtos alternativos a base de fungos como *Beauveria bassiana, Colletotrichum gloesporioides, Metharhizium anisopliae e Hirsutella thompsonii* (MICHEREFF FILHO; FARIA; WRAIGHT, 2007).

Fungos filamentosos também controlam nematoides de solo, que ao atacar as culturas prejudicam a produtividade. Eles são conhecidos como fungos nematófagos e desenvolveram diversos mecanismos para impedir o crescimento desses vermes, agindo por predação direta, ou como parasitas endógenos, em ovos e cistos (WEBSTER; WEBER, 2007).

Além disso, uma pesquisa recentemente divulgada demonstrou que os fungos também podem ter ação herbicida. Por meio da liberação de toxinas, esses fungos, poderiam controlar plantas espontâneas sem, no entanto, afetar a cultura principal (BARBOSA, 2015).

Outro grupo fúngico de grande importância agrícola são os fungos micorrízicos arbusculares (FMA), conhecidos pelas associações simbióticas que desenvolvem com praticamente todas as culturas tropicais. As plantas cítricas em geral são altamente dependentes dessa simbiose, que pode proporcionar melhoria dos aspectos nutricionais, proteção da planta contra patógenos e metais pesados, maior tolerância a estresses hídricos, aumento da estabilidade dos agregados do solo (CARDOSO et al., 2010; CARRENHO et al., 2010) além de fixação de altas taxas de carbono no solo (CLEMMENSEN et al., 2013).

No aspecto nutricional os FMA são especialmente importantes em agroecossistemas com baixo uso de insumos, sendo sua ação mais significativa aos nutrientes de baixa mobilidade no solo como o fósforo (P), zinco (Zn) e cobre (Cu). No entanto, vários trabalhos têm demonstrado o efeito desses simbiontes na absorção de nitrogênio (N), potássio (K), além de alguns micronutrientes (CARDOSO et al., 2010).

No que tange à proteção da planta contra patógenos, a interação fungo-planta pode ser considerada como um meio de controle biológico, devido à eficiência de mecanismos envolvidos que possibilitam maior resistência da planta contra o patógeno, proveniente do melhor desenvolvimento e nutrição do hospedeiro (REIS et al., 2010).

Com relação à estruturação física, os FMA têm efeito agregante à medida que crescem dentre os poros e unem as partículas de solo (POWELL; KLIRONOMOS, 2007), sendo esse efeito também observado em fungos filamentosos não simbiontes (PRIMAVESI, 1999; MOREIRA; SIQUEIRA, 2006).

Assim, em geral a atividade fúngica influencia positivamente a estruturação do solo, pois à medida que desenvolvem suas hifas, aproximam as partículas do solo dando estabilidade aos macroagregados (BOSSUYT et al., 2001; TISDALL; OADES, 1982).

Outro fator importante que deve ser considerado na estruturação física, envolvendo os FMA é a produção de glomalina. Esta glicoproteína atua na estabilização dos agregados do solo que, por consequência, protegem a proteína da decomposição representando assim, um dreno importante de carbono no solo (SINGH et al., 2013).

Além do mais, os fungos também estão envolvidos nos processos de degradação de pesticidas e apesar de alguns compostos químicos transformados serem mais tóxicos que as moléculas originais, outros são transformados até sua completa mineralização. Isto ocorre por meio de reações enzimáticas diversas e complexas e estão associadas a gêneros fúngicos como *Aspergillus, Chaetomium, Fusarium, Glomerela, Mucor, Neurospora, Phanerochaete, Rhizoctonia, Rhizopus e Trametes*. (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006).

Os fungos também podem atuar na promoção de crescimento das plantas por meio de mecanismos de fitoestimulação. Espécies de *Trichoderma,* por exemplo, têm demonstrado resultados positivos em diversas culturas como feijão, milho, tomate, pimenta entre outros, apresentando incrementos no conteúdo de clorofila, altura das plantas, área foliar, massa seca, além de maior emergência de plântulas (LÓPEZ-BUCIO; PELAGIO-FLORES; HERRERA-ESTRELLA, 2015; NEUMANN; LAING, 2006). Amprayn et al. (2012) verificaram aumento na massa seca de raiz e maior mobilização de fosfato quando inocularam fungos leveduriformes do gênero *Candida* em sementes de arroz.

E mais recentemente foi demonstrado que solos com maior biomassa fúngica são mais eficientes na retenção de nutrientes, apresentando menores perdas de nitrogênio por lixiviação (DE VRIES et al., 2011). Além disso, os fungos são menos afetados, quando comparados as bactérias, por mudanças climáticas relacionadas à seca (DE VRIES et al., 2012) devido a maior capacidade em suportar distúrbios (PIMM, 1984).

2.3 Agricultura: passado, presente e futuro

Desde o seu surgimento, há aproximadamente 10 mil anos, a agricultura mudou para sempre a relação do homem com a natureza, dando-lhe o poder de controlar a produção de seu próprio alimento (SANTILLI, 2009).

A partir de então, o mundo enfrentou várias revoluções agrícolas que culminaram no desenvolvimento de diferentes técnicas de cultivo. Entre as décadas de 70 e 90 do século XVIII, a busca pela alta produtividade intensificou-se e o surgimento de novas descobertas científicas aumentou a adoção de sistemas rotacionais de cultura com utilização de adubação verde e estercos animais para nutrição, além de extratos de plantas e caldas para o combate de pragas e doenças, caracterizando este período como Primeira Revolução Agrícola (MAZOYER; ROUDART, 2010).

Na década de 90 do século XIX intensas transformações abalaram o cenário agrícola mundial. A tecnologia cada vez mais presente e em crescente evolução ditaram um novo padrão de desenvolvimento agrícola, culminando na Segunda Revolução Agrícola. Caracterizou-se pela substituição de insumos orgânicos por fertilizantes e pesticidas químicos, sistemas rotacionais por aqueles extensivos principalmente a monocultura e o uso de maquinários agrícolas (SANTILLI, 2009).

No século XX, a partir da década de 60, com o avanço das pesquisas na área da genética, tem início a Revolução Verde, considerada uma das vertentes da Segunda Revolução Agrícola. Possuía o objetivo de intensificar as monoculturas e a produção estável de alimentos, cuja aplicação se fazia com a aquisição de pacotes tecnológicos aplicados para a maximização de rendimentos em situações ecológicas distintas (MATOS, 2011). Neste contexto, o solo foi visto somente como receptáculo de plantas e apesar da produção agrícola mundial ter aumentado, este conceito acarretou problemas como compactação, erosão, perda da fertilidade e biodiversidade dos solos, contaminação dos alimentos, consumidores, água e solo por nitratos e agrotóxicos, além do aparecimento de pragas resistentes (BUENO, 2012).

Frente às drásticas mudanças nos sistemas de produção, surgem métodos agrícolas alternativos, a chamada agricultura alternativa, que se opõe a adoção desses sistemas intensivos e tem por objetivo a produção de alimentos de qualidade, que respeitam o meio ambiente, conservando o solo e água, valorizando o homem e seu trabalho. Fazem parte dessas vertentes

agrícolas a Agricultura Biodinâmica, Agricultura Orgânica, Agricultura Natural, Agroecologia, Agricultura Biológica e Agricultura Ecológica (MATOS, 2011).

Neste período também surgiram as primeiras preocupações com relação à conservação da biodiversidade, assim como os primeiros efeitos colaterais destes sistemas de produção, surgindo a necessidade de se produzir sustentavelmente (MARCATTO, 2014).

Atualmente, as maiores preocupações com relação ao sistema agrícola mundial, giram em torno de como produzir alimentos para uma população em crescimento e contornar ao mesmo tempo, as emissões dos gases do efeito estufa e a perda da agrobiodiversidade.

Segundo relatório do Programa das Nações Unidas para o Meio Ambiente (PNUMA) a necessidade de produção de alimentos para a crescente população mundial resultou na degradação e perda de 23% dos solos do planeta e se os atuais padrões de uso da terra forem mantidos, teremos 849 milhões de hectares degradados até 2050, o que corresponde a área continental do Brasil (UNEP, 2014).

Neste sentido, pautado nos conceitos da Agricultura Natural (OKADA, 2005), o Centro de Pesquisa Mokiti Okada desenvolve pesquisas voltadas a produção sustentável de alimentos. Dentre as propostas está o manejo de transição da agricultura convencional para a orgânica, que objetiva viabilizar a transição agrícola de forma eficiente e produtiva, considerando que a redução e/ou substituição gradativa de agroquímicos, aliada ao manejo de solo e matéria orgânica, irão resgatar a resiliência do solo por meio da evolução dos parâmetros químicos, físicos e biológicos.

De maneira geral, manejos de transição agrícola são aqueles que buscam a substituição de insumos e práticas ao longo de um período variável, visando uma produção de alimentos com maior qualidade, aliada a conservação do ambiente e do próprio homem. No modelo de substituição gradativa se busca maior estabilidade do sistema de produção, sendo o período necessário para restauração dos processos naturais do solo, visando minimizar os riscos e perdas na produção (ASSIS; ROMEIRO, 2007; TU et al., 2006).

A viabilidade e o efeito de manejos de transição têm sido estudados nos últimos anos em diferentes tipos de solo. Karasawa et al. (2015) observaram maior disponibilidade de nitrogênio no solo, acompanhada de maior produção de alface no terceiro ano de transição para manejo orgânico, o que foi atribuído a melhora na atividade de várias enzimas do solo no Japão. Em solos tropicais do Brasil foi observado aumento gradativo na biomassa microbiana do solo sob plantio de acerola com dois anos de implantação do processo de transição (SANTOS et al.,

2012). Porém, Sacco et al. (2015) não constataram melhora significativa na fertilidade do solo e no potencial de mineralização de N em sistema de transição para agricultura orgânica com seis anos de duração, na Itália.

Ademais, manejos de transição agrícola apresentaram aumento gradual na abundancia de borboletas ao longo do período de transição e efeito imediato na riqueza desses organismos e também em plantas (JONASON et al., 2011). Mudanças no número, diversidade e na relação de importância entre as espécies de plantas espontâneas na cultura do café no Brasil (FERREIRA et al., 2011). Alterações na comunidade de artrópodes, sugerindo que esses sistemas podem conservar ou melhorar populações de inimigos naturais com efeitos observados imediatamente e a longo prazo (JABBOUR et al., 2015). Alterações em fungos entomopatogênicos, com efeito do manejo observado em espaço temporal (JABBOUR; BARBERCHECK, 2009).

Apesar dos estudos sobre o efeito dos manejos de transição agrícola serem crescentes em aspecto global, não há indícios sobre essa prática na diversidade de fungos em solos tropicais, ainda mais em plantio de citros. Ainda que o Brasil seja o maior produtor de laranjas do mundo, o setor citrícola sofre atualmente com um declínio de produção devido a fatores fitossanitários como o Huanglongbing–HBL ou greening e cancro cítrico (CDA, 2016), o que torna os estudos com essa cultura ainda mais aplicáveis.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

O objetivo deste trabalho foi avaliar a influência do manejo de transição, da agricultura convencional para a agricultura orgânica, sobre a diversidade dos principais grupos de fungos do solo, sob cultivo de citros.

3.2 Objetivos específicos

Avaliar a riqueza e diversidade dos grupos fúngicos identificados;

Avaliar os fungos micorrízicos arbusculares por meio da porcentagem de colonização micorrízica, número de esporos viáveis e teor de proteína relacionado à glomalina facilmente extraível (EE-BRSP) no solo estudado;

Avaliar a associação dos táxons fúngicos identificados com os parâmetros físico-químicos do solo: argila, silte, areia, temperatura, umidade, potencial hidrogeniônico (pH), matéria orgânica (MO), fósforo (P), potássio (K), cálcio (Ca), magnésio (Mg), alumínio (Al), capacidade de troca de cátions (CTC), enxofre (S), boro (B), cobre (Cu), ferro (Fe), manganês (Mn) e zinco (Zn).

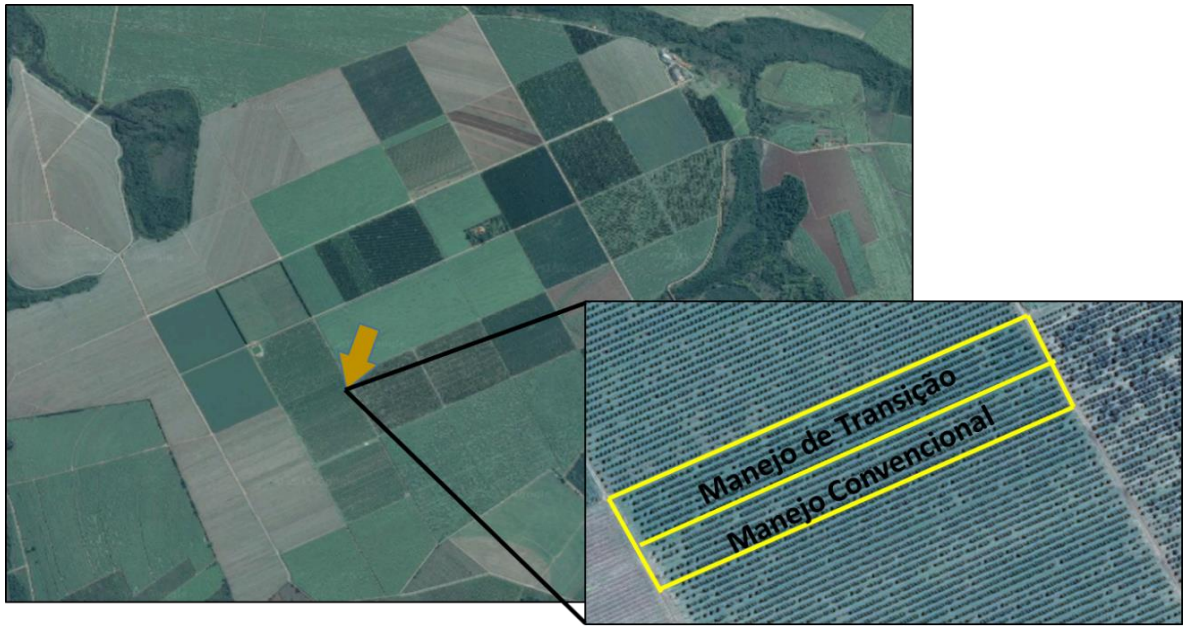
4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Área experimental

O presente trabalho foi realizado em um experimento em andamento conduzido pelo Centro de Pesquisa Mokiti Okada (CPMO), iniciado em janeiro de 2011, em uma área comercial de citros na Fazenda Santo Antônio do Lageado (22º08’49,4”S e 47º10’47,6”W), município de Mogi Guaçú, no estado de São Paulo (Figura 1).

O pomar de laranja doce (*Citrus sinensis* L. Osbeck) é da cultivar Westin, sobre porta enxerto limoeiro Cravo (*Citrus limonia* L. Osbeck) e subenxertado em campo com citrumeleiro Swingle (*Citrus paradisi* MACF x *Poncirus trifoliata* (L) RAF), implantado em 2007, sob um Latossolo Vermelho amarelo, com clima tipo Cwa, mesotérmico, com verões quentes e úmidos e invernos secos.

Figura 1 – Vista aérea da área experimental de citros em Mogi-Guaçu-SP.



Fonte: Google Maps, 22º08’49,4”S e 47º10’47,6”W (2015).

4.2 Tratamentos e descrição de manejos

Os tratamentos foram instalados em uma quadra de 2,25 hectares cada, sendo os seguintes: Manejo convencional (MC) e Manejo de transição (MT).

O manejo convencional (MC), recebe todos os tratos culturais convencionais realizados pelo proprietário com utilização intensiva de agroquímicos e fertilizantes (Figura 2A). O manejo de transição (MT), recebe tratos culturais alternativos, com substituição gradativa de agroquímicos e fertilizantes (Tabela 1) menos impactantes aos micro-organismos do solo (Figura 2B). Assim, a proposta do MT é diminuir e/ou substituir a utilização desses insumos químicos em 25% ao ano em relação ao MC. Portanto, desde o início do experimento em 2011, foram realizadas três reduções. Essas ocorreram nas safras de 2012/2013, 2013/2014 e 2014/2015 e somaram 75% menos fertilizantes e insumos químicos quando comparados ao manejo convencional. Além disso, no MT desde a safra 2012/2013, houve a introdução de um condicionador de solo, o bokashi (Tabela 1). Este é produzido com farelos de origem vegetal, inóculo misto de fungos e bactérias capturados em área de proteção permanente da propriedade em estudo e rizosfera das plantas cítricas do MT, além de pré-bióticos que após misturados são submetidos ao processo de fermentação controlada. O bokashi tem a função de bioestimular e bioaumentar a comunidade microbiana do solo na área de cultivo estudada. Este processo objetiva reestabelecer grupos microbianos com importantes funções no agroecossistema e assim dar suporte ao processo de transição da área estudada.

Figura 2 – Vista do pomar experimental no manejo convencional (A) e manejo de transição (B).

Fonte: Arquivos CPMO (2015).

Tabela 1 – Resumo dos insumos e operações realizadas no manejo convencional e no manejo de transição ao longo do experimento.

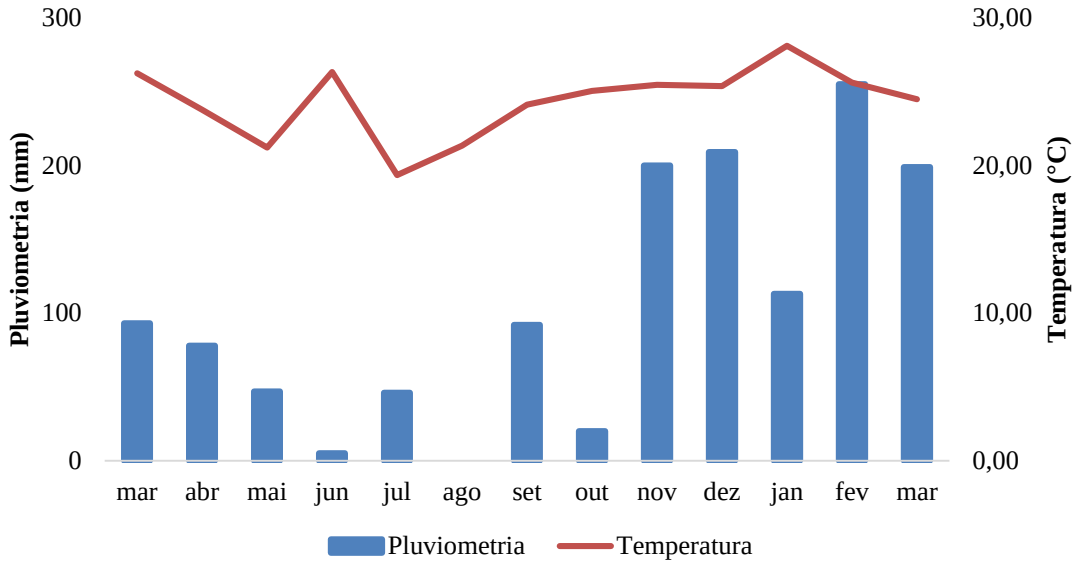
Tratamentos	Manejo Convencional	Manejo de Transição
Insumos / Operações		
Adubação de solo e foliar		
Cloreto de Potássio (60% K_2O)	300 $kg.ha^{-1}$	
Nitrato de Cálcio + B (15,5% N; 19% Ca; 0,3% B)	1.200 $kg.ha^{-1}$	Redução 25% ao ano a partir de 2012
Fertilizantes foliares (N, P, K + micronutrientes)	20 $L.ha^{-1}$	
Sulfato de Potássio (48% K_2O)	-	Substituição ao Cloreto de Potássio
Bokashi (3% N; 1% P; 1% K)	-	Condicionador biológico
Fertilizantes orgânicos	-	Aplicações na entrelinha
Controle fitossanitário		
Inseticidas e acaricidas (diversos grupos químicos recomendados para a cultura dos citros)	14 a 16 $x.ano^{-1}$	Substituição por opções de alta seletividade e introdução de controle biológico
Fungicidas (diversos grupos químicos recomendados para a cultura dos citros)	14 a 16 $x.ano^{-1}$	Substituição por opções de menor agressividade aos FMA e introdução de controle biológico
Controle de vegetação espontânea		
Herbicidas nas linhas de citros	3 a 4 $x.ano^{-1}$	Substituição pela roçadeira de linha
Roço mecânico nas entrelinhas	5 $x.ano^{-1}$	Mantido

Fonte: Adaptado de Homma (2015).

4.3 Pluviometria e temperatura

Os dados pluviométricos e as temperaturas médias mensais foram obtidos dos registros do período referente a este trabalho, por meio de uma estação meteorológica instalada na Fazenda Santo Antonio do Lageado (Figura 3).

Figura 3 – Total de pluviometria (mm) e médias de temperatura (°C) no período de março de 2014 a março de 2015, coletados na Fazenda Santo Antonio do Lageado.



Fonte: Elaborado pela autora (2015).

4.4 Coletas de solo e raiz

As coletas de solo e raiz foram realizadas em dois períodos, 13 de agosto de 2014 (estação seca) e 26 de janeiro de 2015 (estação úmida). Estas ocorreram no período da manhã, entre as 8:30 às 11:30 h e foram amostradas na profundidade de 00-15 cm, com o auxílio de uma pá de jardim esterilizada com álcool 70%, antes e durante o processo de amostragem. Para cada parcela foram coletadas, na rizosfera, quatro subamostras de solo em pontos equidistantes (Norte, Sul, Leste e Oeste) a 40 cm do tronco das plantas, formando uma amostra composta (Figura 4A e 4B). Assim, em cada tratamento e período foram coletadas cinco amostras de solo e raiz, totalizando ao final do experimento vinte amostras de solo e vinte de raízes. Estas coletas

ocorreram em plantas previamente demarcadas, sendo as mesmas visitadas em ambos os períodos amostrados.

Posteriormente as coletas, as amostras de solo e raiz foram homogeneizadas e acondicionadas em sacos plásticos identificados. Estes sacos foram fechados com elástico e papel toalha de forma a permitir a troca gasosa (Figura 5). Após, foram colocadas em caixas de isopor com gelo e conduzidas até o laboratório de Microbiologia do Centro de Pesquisa Mokiti Okada (CPMO).

Figura 4 – Coleta de solo rizosférico (A) e raiz de citros (B) na profundidade de 00-15 cm para avaliações microbiológicas e físico-químicas.

Fonte: Arquivos CPMO (2014).

Figura 5 – Amostras de solo acondicionadas em sacos plásticos fechados com elástico e papel toalha de modo a permitir a troca gasosa.

Fonte: Arquivos CPMO, Betânia Roqueto (2016).

4.5 Análise físico-química do solo da área experimental

As análises químicas para determinação da fertilidade do solo, foram realizadas no laboratório da Universidade Federal de São Carlos e analisadas conforme método de Raij et al. (2001) (Tabela 2).

Tabela 2 – Análises químicas de fertilidade do solo, nos períodos, seco (agosto de 2014) e úmido (janeiro de 2015) nos tratamentos, manejo convencional (MC) e manejo de transição (MT) em pomar cítrico.

Período	pH	MO	P	K	Ca	Mg	Al	CTC	S	B	Cu	Fe	Mn	Zn
	$CaCl_2$	$g.dm^3$	$mg.dm^3$	-------$mmolc.dm^3$ -------					---------- $mg.dm^3$ ----------					
						Manejo Convencional								
Seco	5,9	28,2	236,4	4,6	45,9	23,7	0,5	94,4	16,6	1,2	22,0	49,9	11,5	11,4
Úmido	6,0	30,8	288,0	3,9	52,2	21,9	0,6	98,5	16,2	1,6	23,6	44,4	14,3	14,9
						Manejo de Transição								
Seco	6,0	31,6	220,2	5,4	45,4	18,9	0,5	93,7	15,7	1,1	22,2	44,4	14,8	17,9
Úmido	6,2	28,6	220,8	5,1	49,8	20,8	0,5	94,8	13,6	1,2	21,8	41,0	17,9	16,5

Fonte: Elaborado pela autora (2016).

Neste sentido, os níveis de fertilidade do solo para a cultura de citros foram considerados altos (QUAGGIO; MATTOS JR; CANTARELLA, 2005) e se mostraram similares para ambos os manejos avaliados.

A análise de granulometria para determinação da classe textural do solo, foi realizada no laboratório de Física do Centro de Pesquisa Mokiti Okada (CPMO), conforme método de Embrapa (1997) (Tabela 3). Em função da classe textural ser uma característica de formação do solo, no qual o manejo agrícola não é capaz de alterar, a análise foi realizada somente no primeiro período de avaliação.

Tabela 3 - Valor médio de granulometria do solo nos tratamentos, manejo convencional (MC) e manejo de transição (MT), amostrado na profundidade de 0 a 15 cm, em agosto de 2014.

Tratamentos	Argila	Silte	Areia
		%	
MC	24,0	12,3	63,7
MT	25,1	9,6	65,3

Fonte: Elaborado pela autora (2015).

Perante os resultados da análise granulométrica, o solo foi classificado como franco argilo arenoso, segundo a definição do Sistema Brasileiro de Classificação de Solos (SANTOS et al., 2013).

4.6 Temperatura e umidade do solo

A temperatura do solo foi mensurada no momento das coletas, em todos os pontos amostrados. Para isso foi utilizado um termômetro digital, inserido ao solo na profundidade de 0-15 cm, sob a copa das plantas cítricas (Figura 6).

Figura 6 – Mensuração da temperatura do solo com termômetro digital nos pontos amostrais.

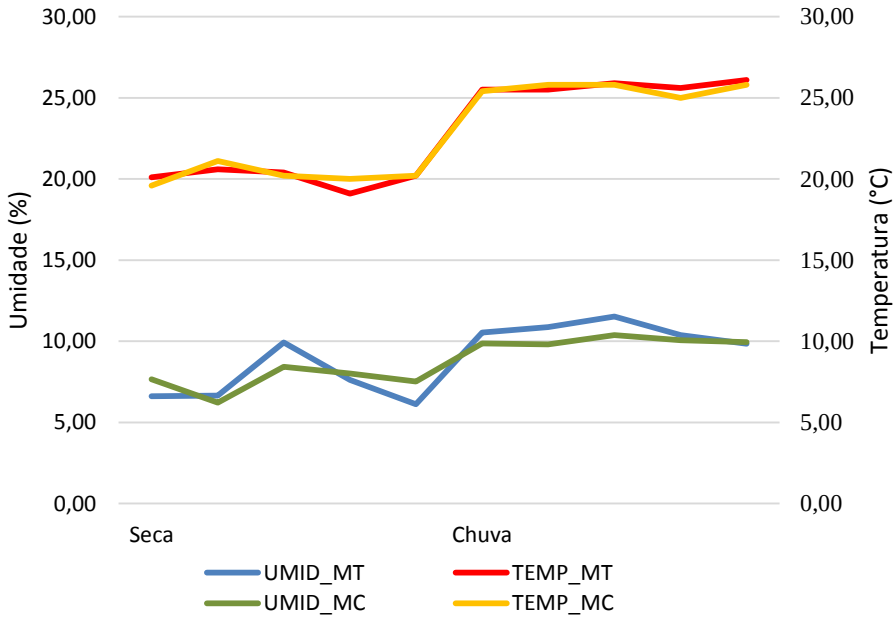
Fonte: Arquivos CPMO (2014).

A determinação da umidade do solo foi realizada em todas as amostras logo após a coleta, conforme Embrapa (1997). Uma alíquota de solo foi adicionada em latas de alumínio

previamente pesadas e submetidas a estufa de secagem, a 105 °C por 24 horas. Após, foram novamente pesadas e submetidas ao cálculo de umidade conforme equação abaixo, sendo as médias apresentadas na figura 7.

$$Umidade\ total = \frac{Massa\ úmida\ (g)\ - Massa\ seca(g)}{Massa\ seca\ (g)}. 100$$

Figura 7 – Médias de temperatura (°C) e umidade (%) dos 5 pontos amostrais de coleta de solo, no período seco (agosto de 2014) e úmido (janeiro de 2015), coletados na linha de avaliação, sob a copa das plantas cítricas, na profundidade de 0-15 cm, nos tratamentos, manejo de transição (MT) e manejo convencional (MC).



Fonte: Elaborado pela autora (2015).

4.7 Meios de cultivo e soluções

Com o intuito de recuperar uma maior diversidade possível, três meios de cultivo foram utilizados para isolamento dos fungos, sendo Batata Dextrose Ágar (BDA), Ágar Aveia (AA) e Sabouraud Dextrose Ágar (SDA). Os meios BDA e AA foram escolhidos, pois o primeiro é comumente utilizado para o isolamento de fungos e o segundo oferece condições propicias para fungos de crescimento lento, o que não acontece com o meio BDA. E apesar de ambos terem o amido como fonte de carbono, diferem na composição de outros nutrientes como magnésio, fósforo, manganês e silício. O meio SDA foi selecionado com o intuito de capturar fungos leveduriformes e tem como fonte de carbono a dextrose.

Em relação ao preparo, todos os meios de cultivo tiveram o pH ajustado com hidróxido de sódio (NaOH) 1 N ou ácido clorídrico (HCl) 1 N conforme necessidade e foram esterilizados em autoclave a 1 atm, por 15 minutos a 121 ºC.

Batata Dextrose Ágar (BDA)

Infusão de batata desidratada	4,0 g
Dextrose	20,0 g
Ágar	15,0 g
Cloranfenicol	100 mg
Água destilada	1000 mL

O pH do meio foi ajustado para 5,6.

Ágar Aveia (AA)

Aveia em flocos	30,0 g
Ágar	13,0 g
Água destilada	1000 mL

A aveia em flocos foi fervida com água destilada por 1 hora e posteriormente filtrada em gaze e algodão, com o volume completado para 1000 mL e em seguida autoclavado.

Sabouraud Dextrose Ágar (SDA)

Dextrose	40,0 g
Neopeptona	10,0 g
Ágar	15,0 g
Cloranfenicol	100 mg
Água destilada	1000 mL

O pH do meio foi ajustado para 7,0.

Solução Salina 0,85%

NaCl	8,5 g
Água destilada	1000 mL

Solução de cloranfenicol

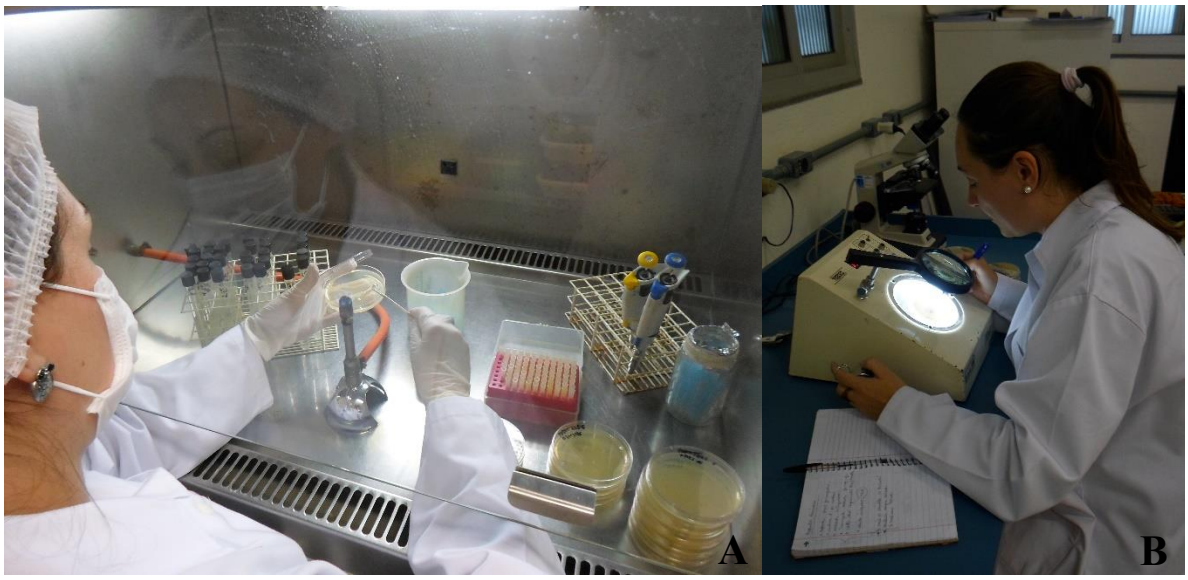
Cloranfenicol	100 mg
Etanol 95 °GL	10 mL

A solução foi preparada adicionando-se o cloranfenicol ao etanol, para que houvesse total solubilização. Esse procedimento foi realizado, pois o cloranfenicol é facilmente solubilizado em etanol, o que não ocorre em água e outros solventes.

4.8 Isolamento e quantificação de fungos

Para o isolamento de fungos uma alíquota de 10 g de solo homogeneizado foi adicionado em tubos contendo 90 mL de solução salina (0,85%) esterilizada, em seguida foram agitadas em mesa agitadora orbital por 15 minutos a 150 rpm. Após agitação, as amostras foram diluídas sucessivamente até a diluição de 10^{-3}, quando em seguida 0,1 mL foi plaqueada (Figura 8A) segundo a técnica de semeadura em superfície (*Spread-plate*) em três meios de cultivo distintos, Batata Dextrose Ágar (BDA), Sabouraud Dextrose Ágar (SDA) e Ágar Aveia (AA) com adição de cloranfenicol na concentração de 100 µg/mL de meio. As amostras de cada parcela foram plaqueadas em quintuplicata, sendo 25 placas por meio de cultivo, totalizando 75 placas por tratamento. Ao término as placas foram incubadas invertidas, no escuro, em *Biological Oxygen Demand* (BOD) a 26 °C durante sete dias (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006). Após este período, foi realizada a contagem das unidades formadoras de colônia bem como o registro fotográfico (Figura 8B). Os resultados foram expressos em Unidades Formadoras de Colônia e calculados por grama de solo seco (UFC g^{-1} solo seco), conforme as normas para interpretação e contagem padrão em placa (GAVIRIA, 1978).

Figura 8 – Plaqueamento de solo com diluição seriada e semeadura em superfície (*Spread-plate*) em três meios de cultivo Batata Dextrose Ágar (BDA), Sabouraud Dextrose Ágar (SDA) e Aveia Ágar (A). Contagem de unidades formadoras de colônia (UFC) de fungos do solo (B).



Fonte: Arquivos CPMO (2015).

4.8.1 Classificação e purificação das colônias

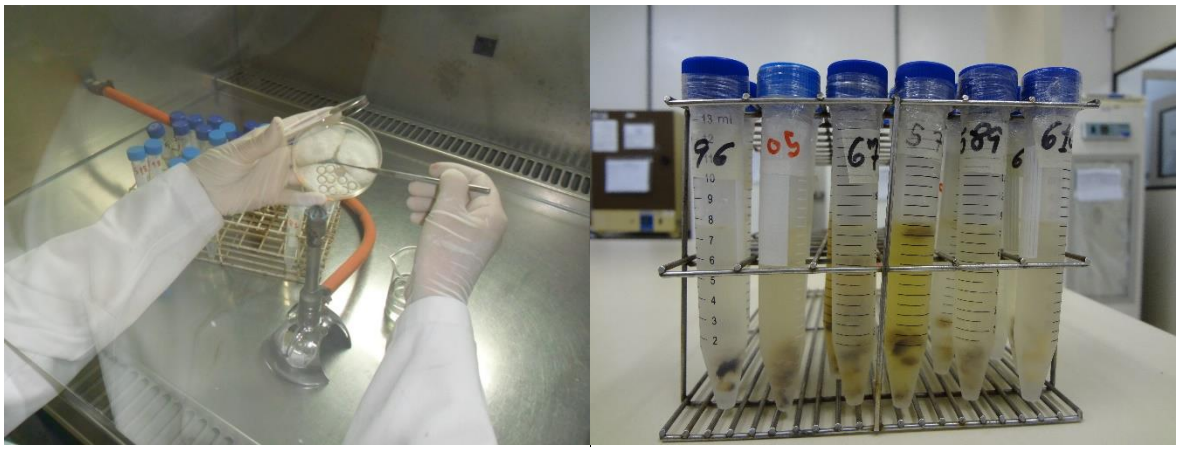
Após contagem, as colônias foram classificadas numericamente quanto à similaridade e distinção entre si. Aquelas com morfotipos similares receberam a mesma numeração, ao contrário daqueles morfotipos diferentes que receberam numeração crescente. Para auxiliar essa classificação foi utilizada uma lupa, a fim de comparar as estruturas morfológicas, como tamanho e aspecto da colônia, coloração e presença de pigmentos e exsudação no meio de cultivo.

Após classificação, as colônias uniformes e representativas foram transferidas para novas placas de meio de cultivo BDA para obtenção de culturas puras. Essas permaneceram em BOD a 26 °C por sete dias e após crescimento foram armazenadas em geladeira a 4 °C até o momento da identificação taxonômica.

4.8.2 Preservação das colônias

Após isolamento, as colônias fúngicas foram preservadas pelo método de Castellani, no qual 5 discos de 5 mm de diâmetro, composto de meio sólido com a colônia do fungo crescida, foram adicionados em tubos do tipo Falcon com 7 mL de água deionizada autoclavada (Figura 9), sendo, em seguida, armazenados em geladeira a 4-10 °C (CASTELLANI, 1939). A conservação foi realizada em duplicata e cada cópia foi armazenada em diferentes refrigeradores a fim de manter uma "cópia de segurança". Além disso, foi realizada a preservação das colônias em glicerol a baixa temperatura (-80 °C). Para isso, o micélio fúngico de cada colônia foi raspado e transferido para um tubo Eppendorf contendo glicerol 10% (p/v) como agente protetor. Em seguida os tubos foram incubados em refrigerador a -20 °C e posteriormente a -80 °C.

Figura 9 – Preservação das colônias fúngicas pelo método de Castellani.

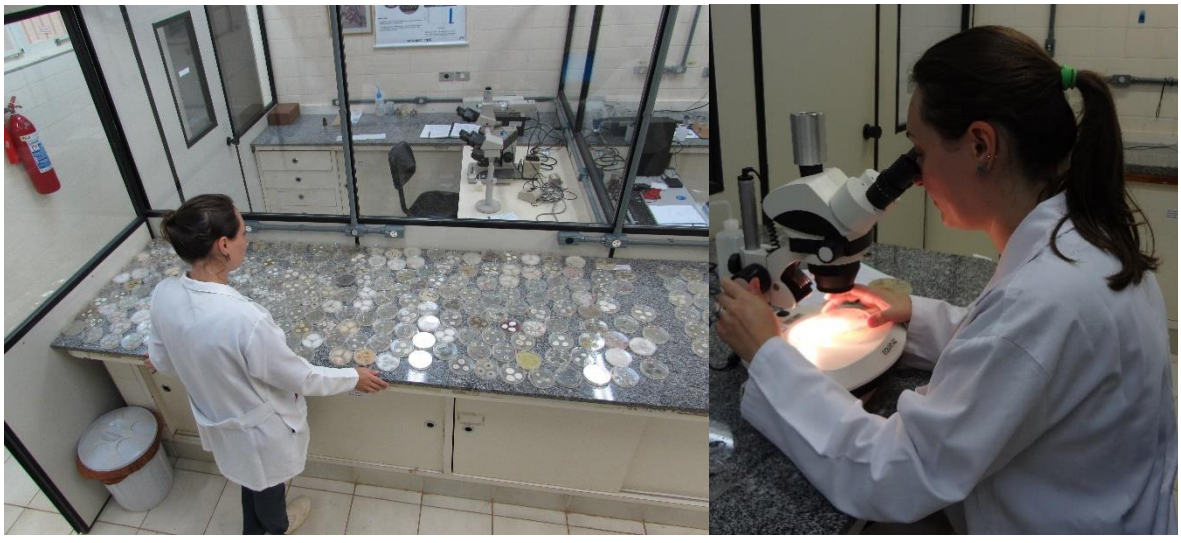


Fonte: Arquivos CPMO (2015).

4.8.3 Identificação taxonômica

A identificação taxonômica das colônias fúngicas foi realizada mediante observações macro e microscópica com o auxílio de estereomicroscópio (Figura 10) e preparação de lâminas com azul de lactofenol para visualização em microscopia óptica (DOMSCH; GAMS; ANDERSON, 1993; SAMSON et al., 2010). Essa identificação permitiu separar os fungos em grupos e gêneros para realização das análises de diversidade.

Figura 10 – Observações macro e microscópicas de estruturas fúngicas para classificação taxonômica.



Fonte: Arquivos CPMO (2015). Crédito das imagens Valdionei Giassi e Amália Busoni.

4.8.4 Cálculo da porcentagem dos isolados fúngicos

A porcentagem dos isolados fúngicos foi calculada segundo a fórmula abaixo:

$$\% = \frac{\text{Número de isolados por táxon}}{\text{Número total de isolados fúngicos}} \times 100$$

4.8.5 Registro da pesquisa científica

A fim de cumprir a legislação de acesso ao patrimônio genético, estabelecida pela Medida Provisória 2186-16/2001 (BRASIL, 2001), o projeto de pesquisa foi registrado na Plataforma Carlos Chagas para autorização de acesso e remessa do patrimônio genético com finalidade de pesquisa científica.

4.8.6 Análise da diversidade dos fungos

Para avaliar a diversidade fúngica desenvolvida no cultivo *in vitro,* foi utilizado o programa EstimateS (COLWELL, 2013), com os índices descritos em Magurran (2013):

Índice de riqueza de Margalef (D_{mg}):

$D_{mg} = (S-1) / \ln N$

Onde S expressa o número de táxons obtidos e N o número total de indivíduos.

Índice de diversidade de Shannon (H'):

$H' = -\Sigma pi \ln pi,$

Onde pi é a proporção de indivíduos encontrados na “i-ésima” espécie.

Índice de diversidade de Simpson inverso (D):

$1/D = \Sigma pi^2$

Onde pi é a proporção de indivíduos na “i-ésima” espécie.

4.9 Análise dos fungos micorrízicos arbusculares

4.9.1 Porcentagem de colonização micorrízica

No laboratório, 10 g de raízes foram separadas e lavadas em água corrente, sendo posteriormente conservadas em etanol 70%. Inicialmente, as raízes foram cortadas em segmentos menores, acondicionadas em béquer e clarificadas em solução de hidróxido de potássio (KOH) 10%, em banho-maria a 90 ºC por 30 minutos. Posteriormente, foram acidificadas em solução de ácido clorídrico (HCl) 10% e coradas em solução ácido acético 5% e tinta de caneta azul (PHILLIPS; HAYMAN, 1970). A avaliação de porcentagem de colonização micorrízica, foi realizada por meio da montagem de 10 lâminas contendo 10 fragmentos de 1 cm de raiz, contabilizando presença e ausência de estrutura fúngica com o auxílio de estereomicroscópio no aumento de 40 vezes (GIOVANNETTI; MOSSE, 1980).

4.9.2 Quantificação de esporos micorrízicos

A quantificação de esporos micorrízicos foi realizada pelo método de peneiramento úmido descrito por Gerdemann e Nicolson (1963), no qual 50 g de solo seco foram submetidos a jatos de água e agitação por cinco vezes para promover quebra de agregados e liberação dos esporos. A suspensão de solo foi peneirada em malhas de abertura de 710, 250, 106 e 44 µm, na ordem decrescente. O material retido na menor malha foi transferido para tubos Falcon de 15 mL e centrifugado a 3.000 rpm por 3 minutos, numa sequência de 3 vezes sendo, na segunda vez, adicionado ao sobrenadante o volume de 50% de sacarose 70% (JENKINS, 1964). Posteriormente o sobrenadante obtido foi transferido para placa de Petri com canaletas e visualizadas ao microscópio estereoscópico para quantificação.

4.9.3 Quantificação de proteína relacionada à glomalina facilmente extraível

Para quantificação das frações de proteína relacionadas à glomalina facilmente extraível (EE-BRSP) presentes no solo, foi realizada extração segundo metodologia de Wright e Upadhyaya (1998), na qual 1 g de solo foi misturado a 8 mL de citrato de sódio 20 mM, pH 7,0. Em seguida a mistura seguiu para a autoclave a 121 °C por 30 minutos. Após extração, o

material foi centrifugado a 3.500 rpm por 30 minutos e o sobrenadante da amostra foi filtrado e quantificado pelo método de Bradford (1976), com leitura no espectrofotômetro a absorbância de 590 nm. Uma curva padrão foi construída utilizando soro albumina bovina (BSA), para calcular o valor da proteína.

4.10 Análise estatística

O delineamento utilizado foi em faixas, com dois tratamentos e cinco repetições, representadas em parcelas com 8 plantas cítricas de porte adulto, semelhantes entre si.

Inicialmente, os dados de UFC, isolados fúngicos, colonização micorrízica, número de esporos viáveis, EE-BRSP e parâmetros físico-químicos do solo, foram submetidos ao teste de normalidade de Shapiro-Wilk ao nível de 5% de significância. Aqueles com distribuição anormal foram transformados por Box-Cox (Parâmetros do período seco: Mg, argila, silte, *Penicillium* spp., leveduras. Parâmetros de período úmido: SDA, Mn, *Paecilomyces* spp., *Penicillium* spp., *Fusarium* spp., leveduras e *Metarhizium* spp.). Em seguida, foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias, entre tratamentos, comparadas pelo teste t a 5% de probabilidade por meio do programa estatístico Sistema de Análise de Variância (SISVAR) versão 5.3 (FERREIRA, 2010).

Posteriormente, foi realizada a análise de correlação de Pearson entre as variáveis microbiológicas e físico-químicas do solo ao nível de significância de 5%, por meio do programa *Paleontological Statistics* (PAST) versão 2.17c (HAMMER; HARPER; RYAN, 2001).

Além disso, foi realizada uma análise multivariada de componentes principais (PCA), por meio do programa PAST versão 2.17c (HAMMER; HARPER; RYAN, 2001).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Quantificação de fungos do solo

O número de UFC de fungos não apresentou diferença significativa entre tratamentos e períodos avaliados, com uma população mínima e máxima de 6,2 e 8,6 x 10^4 g^{-1} solo seco (Tabela 4).

Tabela 4 – Tratamentos (Trat.) e médias de unidades formadoras de colônia (UFC) de fungos por grama de solo seco em diferentes meios de cultivo: Batata Dextrose Ágar (BDA), Sabouraud Dextrose Ágar (SDA) e Aveia Ágar (AA) nos períodos, seco (agosto de 2014) e úmido (janeiro de 2015), nos tratamentos, manejo de transição (MT) e manejo convencional (MC) em pomar cítrico.

Trat.	BDA			SDA			AA		
	UFC x 10^4 g^{-1} solo								
	Seco	Úmido	p-valor	Seco	Úmido	p-valor	Seco	Úmido	p-valor
MT	8,3	8,0	0,77	7,9	6,5	0,30	8,3	6,6	0,23
MC	8,1	7,6	0,72	8,6	6,2	0,23	8,1	6,8	0,39
p-valor	0,89	0,73		0,74	0,94		0,86	0,82	

Fonte: Elaborado pela autora (2016).
Média de 5 repetições, comparadas pelo teste t.

Os resultados concordam com aqueles encontrados em outras investigações, onde o número de UFC de fungos esteve entre 10^4 e 10^6 g^{-1} solo seco (BRANDÃO, 1992; GRANTINA et al., 2011b), mostrando que o método foi adequado e satisfatório.

Apesar do número de UFC entre tratamentos e períodos não terem apresentado diferenças significativas neste estudo (Tabela 4), o manejo e a umidade são fatores que influenciam diretamente as populações de fungos no solo (PFENNING, 2013).

Manejar plantas espontâneas com roçadeira ecológica nas linhas de citros, auxilia no processo de retenção da água (AZEVEDO, 2013). Esse fenômeno, aliado à proteção do solo nas linhas pela projeção da copa das laranjeiras, pode explicar a pequena variação de umidade entre os períodos analisados, que apesar de diferir estatisticamente ($P \leq 0,05$), apresentou baixa flutuação, com médias de 7,5% na estação seca e 10,3% na estação úmida (Figura 7), o que explicaria em parte a igualdade de UFC nas diferentes estações. Por outro lado, a semelhança

das características químicas e de granulometria do solo entre tratamentos complementam a explicação de igualdade entre UFC nos diferentes períodos, já que esses são fatores conhecidamente influentes na microbiota do solo (THIES; GROSSMAN, 2006).

Estudos realizados durante um ano em diferentes regiões do Brasil obtiveram resultados distintos. Levantamentos de UFC de fungos realizados na caatinga brasileira não difeririam entre os períodos seco e úmido, com índices pluviométricos variando entre 0 a 219 mm, respectivamente (OLIVEIRA et al., 2013). Enquanto avaliações realizadas em monocultivo de erva-mate na região sul demonstraram maior número de UFC no verão, período este que corresponde as chuvas (BORGES et al., 2011). Apesar de Oliveira et al. (2013) não discutirem a influência da umidade no número de UFC de fungos, foi demonstrado o efeito desta variável na composição de algumas espécies fúngicas, que foram mais abundantes no período úmido, indicando mudanças qualitativas.

A fim de complementar a análise quantitativa foi realizada a identificação dos grupos fúngicos conforme a seguir (Tabela 5).

5.2 Identificação dos grupos de fungos do solo estudado

A caracterização taxonômica revelou onze diferentes grupos. No período seco foram identificados 9 táxons para ambos os tratamentos e no período úmido foram encontrados 11 táxons para o MT e 10 para o MC (Tabela 5).

Tabela 5 – Número de isolados fúngicos, obtidos a partir de uma suspensão de 10^4, identificados por caracterização morfológica, nos períodos, seco (agosto de 2014) e úmido (janeiro de 2015) nos tratamentos, manejo de transição (MT) e manejo convencional (MC) em pomar cítrico.

Tratamento	Táxon	Seco	Úmido	Total
MT	*Aspergillus* spp.	20	27	47
MC	(ASP)	27	21	48
MT	*Fusarium* spp.	4	16	20
MC	(FUS)	7	23	30
MT	*Metarhizium* spp.	49	7	56
MC	(MET)	11	10	21
MT	*Paecilomyces* spp.	92	109	201
MC	(PAE)	160	172*	332*
MT	*Penicillium* spp.	31	30*	61*
MC	(PEN)	18	11	29
MT	*Phialophora* spp.	0	5	5
MC	(PHI)	0	10	10
MT	*Neurospora* spp.	0	1	1
MC	(NEU)	0	0	0
MT	*Trichoderma* spp.	1	7	8
MC	(TRI)	2	5	7
MT	Dematiáceos	67	52	119
MC	(DEM)	51	50	101
MT	Leveduras	57	99	156
MC	(LEV)	76	50	126
MT	Mucoromycotina	14	16	30
MC	(MUC)	21	13	34
MT		335	369	704
MC	Total	373	365	738
Total		708	734	1442

Fonte: Elaborado pela autora (2016).
Média de 5 repetições comparadas pelo teste t. *Significativo a 5% de probabilidade.

Entre os gêneros não presentes no período seco estão *Phialophora* spp. (PHI) e *Neurospora* spp. (NEU), porém foram identificados no período úmido, sendo o primeiro (PHI) presente em ambos os tratamentos e o segundo (NEU) presente apenas em MT. Com relação aos outros fungos, todos foram encontrados em ambos os tratamentos e períodos (Tabela 5).

No período seco nenhum grupo diferiu estatisticamente entre os manejos ($P \leq 0,05$). Porém, no período úmido o gênero *Paecilomyces* spp. (PAE) foi mais expressivo no MC, enquanto *Penicillium* spp. (PEN) apresentou maior população no MT. Padrão esse, que se manteve também na avaliação do número total de isolados por tratamento, independentemente do período (Tabela 5). Assim em termos de táxons o MC apresentou maior número de isolados do gênero *Paecilomyces* spp., enquanto o MT maior número de *Penicillium* spp.

Todos os fungos identificados são comuns habitantes do solo e podem ser encontrados em áreas de manejo agrícola (DOMSCH; GAMS; ANDERSON, 1993; WEBSTER; WEBER, 2007) sendo alguns ligados a diversos serviços ecossistêmicos de grande importância econômica.

A presença de *Phialophora* spp. e *Neurospora* spp. exclusivamente no período úmido, pode indicar a importância da umidade para o desenvolvimento desses gêneros (ARUNDEL et al., 1986).

Sobre a diferença significativa da população de *Paecilomyces* spp., maior no MC, pode estar associada as aplicações de agroquímicos realizadas na área, já que este gênero apresenta potencial para degradar herbicidas (MARTINEZ et al., 2008). A menor população no MT, acompanha a redução em 75% de produtos químicos. Assim, a aplicação de pesticidas no MC pode ter servido como fonte de carbono necessária à manutenção de sua população no solo. Coincidentemente essa é a época do ano com elevado número de aplicações de agroquímicos no MC, principalmente fungicidas.

O fato de *Penicillium* spp. diferir significativamente no MT pode também estar associada à redução de 75% de produtos químicos, principalmente fungicidas que foram eliminados à partir do segundo ano safra. Os fungicidas são conhecidamente utilizados para o controle de *Pencillium*, que se apresenta como a principal ameaça em pós-colheita de citros (FISCHER et al., 2011). No entanto, a manifestação da doença dependerá das práticas empregadas na condução da cultura a campo e principalmente durante a colheita, transporte e armazenamento (FISCHER et al., 2013). Assim, a maior população de *Penicillium* no MT, não significa maior incidência de doenças em pós-colheita, já que eles estão ligados a outras funções

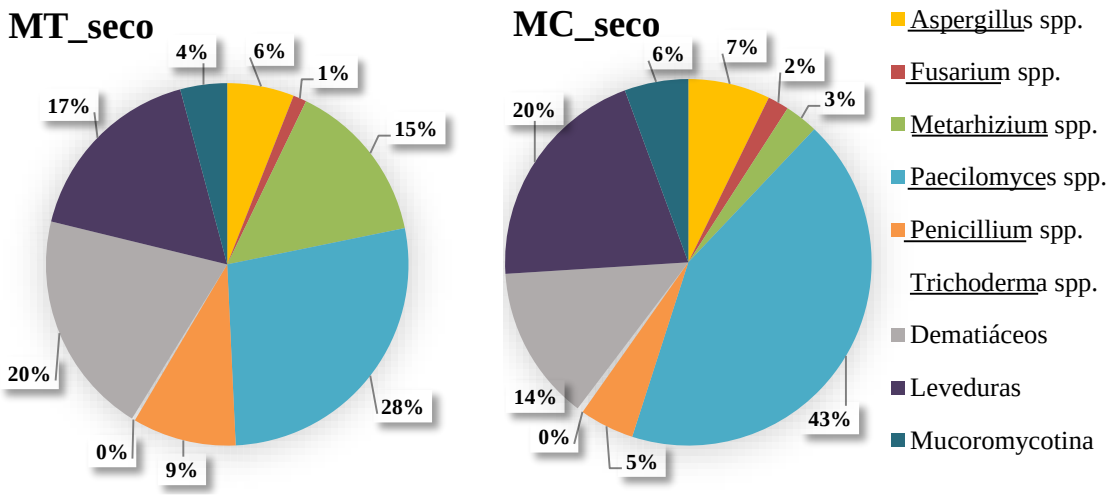
no solo. Dentre essas funcionalidades estão a agregação do solo, mobilização de fosfatos e potássio (HUNGRIA; URQUIAGA, 1992; PRIMAVESI, 1999), ação antagônica a fitopatógenos (GOMEZ; PIOLI; CONTI, 2007; GUIJARRO et al., 2008), promoção de crescimento vegetal por meio da produção de ácido indol acético (PALLU, 2010), até a degradação de compostos recalcitrantes (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006).

Em referência aos outros grupos identificados sem diferença entre tratamentos, vale ressaltar que o gênero *Metarhizium* spp., importante entomopatógeno (ALVES, 1998), foi inserido na área do MT no segundo ano safra do experimento, como inseticida biológico visando o controle de moscas das frutas (*Ceratitis* spp., *Anastrepha* spp.), bicho furão (*Ecdytolopha aurantiana*), larva-minadora (*Phyllocnistis citrella*) e psilídeo (*Diaphorina citri*). Precisamente neste caso, houve utilização do produto comercial a base desse fungo no período de março de 2014 (dados não demonstrados), o que esclarece o número superior de isolados no MT durante o período seco (Tabela 5).

5.3 Porcentagem dos grupos fúngicos identificados

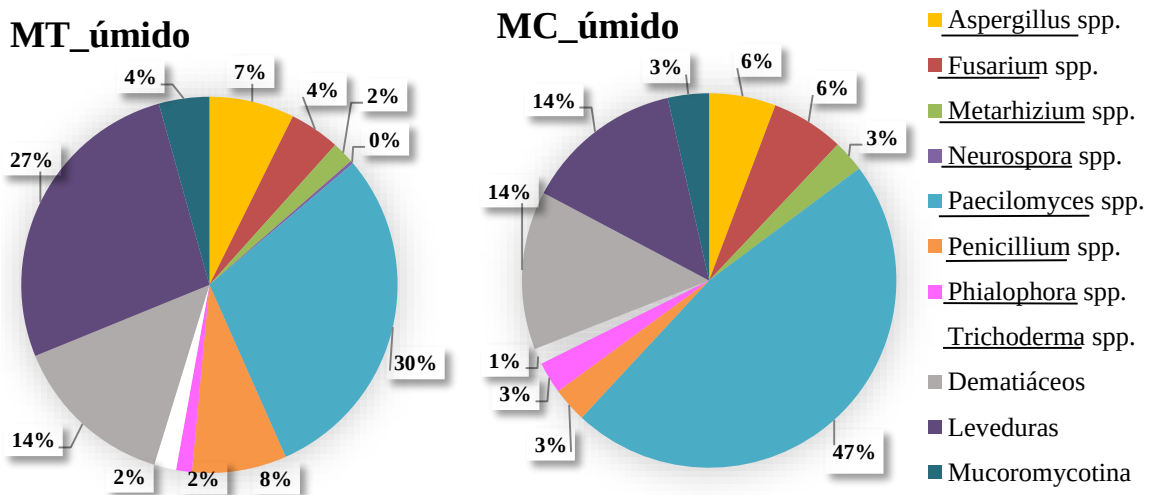
Para saber a proporção que cada grupo ocupa nos diferentes períodos e na amostragem total foi realizado o cálculo de porcentagem dos grupos fúngicos (Figuras 11, 12 e 13).

Figura 11 – Porcentagem dos grupos fúngicos identificados por caracterização taxonômica no período seco, nos tratamentos, manejo de transição (MT) e manejo convencional (MC) em pomar cítrico.



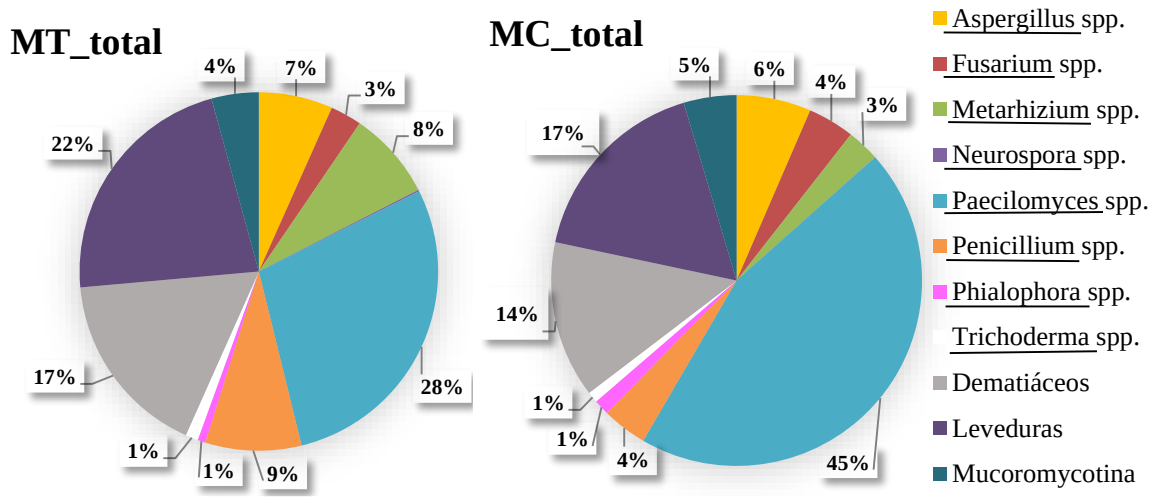
Fonte: Elaborado pela autora (2016).

Figura 12 – Porcentagem dos grupos fúngicos identificados por caracterização taxonômica no período úmido, nos tratamentos, manejo de transição (MT) e manejo convencional (MC) em pomar cítrico.



Fonte: Elaborado pela autora (2016).

Figura 13 – Porcentagem dos grupos fúngicos identificados por caracterização taxonômica para ambos os períodos (total), nos tratamentos, manejo de transição (MT) e manejo convencional (MC) em pomar cítrico.



Fonte: Elaborado pela autora (2016).

O isolados de *Paecilomyces* spp. (PAE) foram os mais frequentes em ambos os períodos e tratamentos avaliados (Figura 11, 12 e 13). Em seguida estão as leveduras (LEV) e dematiáceos (DEM), exceto no período seco no MT, no qual os dematiáceos (DEM) aparecem em segundo lugar (Figura 11).

Diversos autores ao avaliarem a diversidade de fungos em diferentes sistemas agrícolas brasileiros, encontraram predominância de fungos do gênero *Aspergillus* spp. e *Penicillium* spp. (BORGES et al., 2011; COSTA; SOUZA-MOTTA; MALOSSO, 2012; COUTINHO; CAVALCANTI; YANO-MELO, 2010; PINOTTI et al., 2011; RECH et al., 2013). Chandrashekar et al. (2014), além dos gêneros acima citados, verificaram predominância também do gênero *Mucor* em campos de cultivo da Índia. Em outro estudo Fracetto et al. (2013) encontraram predominância de fungos do subfilo Mucoromycotina tanto em solos agrícolas quanto em áreas florestadas da Amazônia. Dentre os fungos identificados por Grantina et al. (2011a; 2011b) em diferentes manejos com seis anos de implantação, *Penicillium* foi o mais abundante em manejo orgânico, enquanto a população de *Verticillium* foi maior no manejo convencional.

Apesar de *Paecilomyces* spp. ter sido encontrado em solos agrícolas tropicais (PRADE et al., 2007; BORGES et al., 2011) e temperados (GRANTINA et al., 2011a) sua população é de aproximadamente 10% em relação aos outros fungos encontrados. O que não foi observado neste trabalho, já que este foi o grupo fúngico com maior porcentagem no solo independentemente do período, sobretudo no MC (Figura 13). Esses fungos são extremamente adaptáveis, termotolerantes e conseguem crescer em ambientes com pouco oxigênio (HOUBRAKEN et al., 2006), além de serem encontrados com maior frequência em regiões quentes (CARNEIRO, 1986).

Os grupos encontrados no MT apresentaram uma distribuição mais diversificada, enquanto no MC praticamente metade dos fungos identificados pertencem a um único grupo, os *Paecilomyces* spp. Segundo Costa; Souza-Motta; Malosso (2012) os tratos culturais realizados em manejos convencionais selecionam grupos generalistas que predominam no sistema. Enquanto isso, manejos de transição agrícola com dois anos de implantação foram suficientes para alterar as propriedades biológicas do solo em climas tropicais (SANTOS et al., 2012). Sendo que essa alteração pode refletir na melhoria de outros parâmetros associados como disponibilização de nutrientes, estabilização dos agregados do solo e menor pressão de doenças e pragas, podendo assim levar equilíbrio ao sistema.

5.4 Diversidade de fungos no solo

Observou-se maiores índices de riqueza e diversidade no MT, em ambos os períodos avaliados (Tabela 6).

Tabela 6 – Índice de riqueza de Margalef (D_{mg}) e índices de diversidade de Shannon (H') e Simpson (D), avaliados nos períodos, seco (agosto de 2014) e úmido (janeiro de 2015) nos tratamentos manejo de transição (MT) e manejo convencional (MC) em pomar cítrico.

Tratamento	Período	D_{mg}	H'	D
MT	Seco	1,38	1,85	5,56
MC		1,35	1,66	3,89
MT	Úmido	1,69	1,88	5,11
MC		1,52	1,75	3,85

Fonte: Elaborado pela autora (2016).

O índice de Margalef (D_{mg}) que expressa riqueza, foi superior para o MT sobretudo no período úmido. Por meio deste índice é possível observar maior diferenciação entre as amostras, possibilitando comparações mais precisas para a riqueza das populações fúngicas do solo, pois este, procura compensar os efeitos da amostragem, considerando em seu cálculo o número total de indivíduos identificados (MAGURRAN, 2013). A maior diferença atribuída ao período úmido demonstra o favorecimento deste fator nos processos biológicos no solo (THIES; GROSSMAN, 2006), especialmente no parâmetro qualitativo.

Quanto aos índices H' e D, independente do MT apresentar o mesmo número de UFC, essas diferiram do MC na porcentagem e composição de táxons, refletindo diretamente na diversidade. A maior evidência disso foi demonstrada nos resultados obtidos com o índice D (Tabela 6), que considera grupos mais dominantes na amostra e se apresenta como um dos índices mais robustos e significativos disponíveis para esse fim (MAGURRAN, 2013).

A eliminação dos fungicidas e a redução dos demais produtos químicos (Tabela 1), associado à aplicação do bokashi, que contem células fúngicas, foram, dentre outros fatores, determinantes para a obtenção desse resultado.

Segundo Prade (2007) as práticas culturais dos agroecossistemas interferem na distribuição quali-quantitativa dos fungos do solo tendo encontrado maior diversidade em manejo agroecológico em ambiente ripário consorciado com citros, quando comparado com área reflorestada com uva-do-japão (*Hovenia dulces* Thumb.). O mesmo resultado foi

encontrado por Costa, Souza-Motta e Malosso (2012) quando compararam manejo agroecológico com monocultivo convencional de mandioca, demonstrando redução na diversidade de fungos no solo e favorecimento de espécies generalistas que predominam neste sistema.

Na prática, sugere-se que o MT apresenta maior estabilidade e eficiência na utilização dos recursos disponíveis, pois a maior diversidade exerce um efeito tampão no solo contra estresses ambientais e antrópicos assegurando que determinada função seja executada por outras espécies, a chamada redundância funcional (MENDES et al., 2011).

Assim, a redução na comunidade biológica do solo e possível extinção de espécies pode causar drástica perda de função reduzindo a resiliência de sistemas agrícolas. Por isso, os efeitos de manejo devem considerar não somente o aumento da produtividade agrícola, mas também o efeitos na biota do solo ao longo do tempo (MOREIRA et al., 2013).

5.5 Fungos micorrízicos arbusculares (FMA)

O número de esporos viáveis dos FMA diferiu estatisticamente ($P \leq 0,05$) entre os tratamentos no período seco, com maior esporulação no MT (Tabela 7).

Tabela 7 – Tratamentos (Trat.) e médias de colonização micorrízica em raízes finas (COL), número de esporos viáveis (ESP) e frações de proteína relacionadas à glomalina facilmente extraível (EE-BRSP), nos períodos, seco (agosto de 2014) e úmido (janeiro de 2015) nos tratamentos, manejo de transição (MT) e manejo convencional (MC) em pomar cítrico.

Trat.	COL		ESP		EE-BRSP	
	%		n° 50 g solo^{-1}		mg.g solo $^{-1}$	
	Seco	Úmido	Seco	Úmido	Seco	Úmido
MT	73,3	67,4	31,0	75,8	5,3	5,2
MC	70,5	60,5	22,0	82,4	5,5	5,0
p-valor	0,40	0,22	< 0,01	0,53	0,08	0,51

Fonte: Elaborado pela autora (2015).
Média de 5 repetições, comparadas pelo teste t.

Dentre os parâmetros micorrízicos avaliados o número de esporos viáveis (ESP) foi a variável mais sensível às alterações do manejo (Tabela 7). Carrenho et al. (2010) observaram que esta constitui uma variável muito vulnerável a mudanças em sistemas agrícolas. Outros

trabalhos realizados em manejo orgânico de citros também demonstraram maior esporulação, quando comparado ao manejo convencional (FRANÇA; GOMES-DA-COSTA; SILVEIRA, 2007; HOMMA et al., 2012), corroborando os resultados do presente ensaio.

Neste sentido, o MT demonstra maior eficiência na propagação de inóculo no período seco, já que os esporos constituem as principais unidades de sobrevivência dos FMA (MAIA; SILVA; GOTO, 2010). Ao final da condição de estresse, com o aumento da umidade em função das chuvas, o número de esporos aumenta, porém sem diferença entre tratamentos, o que demonstra a forte influência desta variável nos processos microbiológicos do solo (THIES; GROSSMAN, 2006).

A respeito das frações de EE-BRSP encontradas no solo, mais de 80% são provenientes da decomposição de hifas e esporos e apenas uma pequena parcela liberada passivamente (DRIVER; HOLBEN; RILLIG, 2005). Assim, o maior teor de EE-BRSP no período seco no MC (Tabela 7) poderia estar expressando esse fenômeno. Entretanto, menores teores de proteína relacionadas à glomalina têm sido descritos em sistemas convencionais, quando comparados aos orgânicos. Lee e Eom (2009) encontraram menores teores de glomalina em solo com cultivo convencional, concluindo que as práticas agrícolas afetam gravemente a abundância e a estrutura de comunidade de FMA, tanto em diversidade quanto em funcionalidade. Mesmo havendo evidências sobre práticas realizadas nos manejos convencionais responsáveis por esses decréscimos, não existe clareza sobre quais fatores específicos modulariam a produção desta proteína no solo (PURIN; KLAUBERG FILHO, 2010).

Estudos de transição da agricultura convencional para a orgânica realizados em agroecossistemas aráveis do Mediterrâneo indicaram que os FMA respondem positivamente ao processo de transição, com crescente melhora na atividade micorrízica e aparente independência da riqueza de espécies existentes (BEDINI et al., 2013). Os resultados encontrados neste estudo reforçam as evidências de que manejos orgânicos influenciam, de forma positiva, a disponibilidade de glomalina para as comunidades microbianas da área de cultivo.

Na prática, manejos de solo que propiciem aumento da colonização micorrízica em plantas podem contribuir para o uso mais eficiente da água sob condições ambientais variáveis, reduzindo também as emissões de N_2O e, portanto, os impactos ambientais das práticas agrícolas (LAZCANO; BARRIOS-MASIAS; JACKSON, 2014).

5.6 Correlação dos atributos microbiológicos e físico-químicos do solo

Para um melhor entendimento da relação dos nutrientes nas populações fúngicas do solo foi realizada uma análise de correlação entre as variáveis microbiológicas e físico-químicas do solo nos dois períodos avaliados, para ambos os tratamentos separadamente (Tabela 8, 9,10 e 11). Esta separação nas análises de correlação ocorreu em função da dissimilaridade de insumos utilizados em cada tratamento, sendo portanto, mais coerente avaliar as correlações isoladamente.

Tabela 8 – Coeficientes de correlação de Pearson entre atributos microbiológicos e físico-químicos do solo para o manejo de transição (MT), na estação seca (agosto de 2014).

	ASP	FUS	MET	PAE	PEN	PHI	NEU	TRI	DEM	LEV	MUC	COL	ESP	EE-BRSP
MO	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,988
Mg	-	-	-	-	-	-	-	0,999	-	-	-	-	-	-
CTC	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-0,917	-	-	-
S	-	-	-	0,937	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Fe	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-0,968
Mn	-	-0,906	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Zn	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-0,919	-	-	-
Umidade	-	-	0,921	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Temperatura	-	-	-	-	-	-	-	-0,943	-	-	-	-	-	-
Argila	-	-	-	-0,878	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Silte	-	-	-0,988	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Fonte: Elaborado pela autora (2016). - = Coeficiente não significativo a uma probabilidade de 5%. Valores de r significativos a 5% de probabilidade.

Tabela 9 – Coeficientes de correlação de Pearson entre atributos microbiológicos e físico-químicos do solo para o manejo de transição (MT), na estação úmida (janeiro de 2015).

	ASP	FUS	MET	PAE	PEN	PHI	NEU	TRI	DEM	LEV	MUC	COL	ESP	EE-BRSP
P	-	-	-0,891	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Al	0,881	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
S	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,975	-
Mn	-	-	-	-	-	-	-0,931	-	-	-	-	-	-	-0,934
Temperatura	-	-	-	-	-	-	-	-	-0,951	-	-	-	-	-
Areia	-	-	-	-	-	-	-	-	-0,892	-	-	-	-	-

Fonte: Elaborado pela autora (2016). - = Coeficiente não significativo a uma probabilidade de 5%. Valores de r significativos a 5% de probabilidade.

Tabela 10 – Coeficientes de correlação de Pearson entre atributos microbiológicos e físico-químicos do solo para o manejo convencional (MC), na estação seca (agosto de 2014).

	ASP	FUS	MET	PAE	PEN	PHI	NEU	TRI	DEM	LEV	MUC	COL	ESP	EE-BRSP
K	-	-	-	-	-	-	-	0,940	-	-	-	-	-	-
Ca	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,913	-	-	-	-
Al	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-0,926	-	-	-	-
CTC	-	-	-	-	-	-	-	0,926	-	-	-	-	-	-
S	0,960	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,928	-	0,973	-
B	-	-	0,903	-	-0,886	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Zn	-	-	-	-0,913	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Temperatura	-	-	-	-0,900	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Argila	-0,920	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Areia	-	-	-	-	-	-	-	-	-0,910	-	-	-	-	-

Fonte: Elaborado pela autora (2016). - = Coeficiente não significativo a uma probabilidade de 5%. Valores de r significativos a 5% de probabilidade.

Tabela 11 – Coeficientes de correlação de Pearson entre atributos microbiológicos e físico-químicos do solo para o manejo convencional (MC), na estação úmida (janeiro de 2015).

	ASP	FUS	MET	PAE	PEN	PHI	NEU	TRI	DEM	LEV	MUC	COL	ESP	EE-BRSP
MO	-	-	-	-0,906	-	-	-	-	-	-	-	-0,942	-0,988	-
pH	-	0,923	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Al	-	-	-	-	-0,999	-	-	-	-	-0,933	-	0,901	-	-
CTC	-	-	-	-	0,885	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Temperatura	-	-	-	-0,884	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Areia	-	-	0,886	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Fonte: Elaborado pela autora (2016). - = Coeficiente não significativo a uma probabilidade de 5%. Valores de r significativos a 5% de probabilidade.

Dentre os fatores físico-químicos com maior associação em ambos os manejos estão o enxofre (S), alumínio (Al), capacidade de troca de cátions (CTC), temperatura, e os componentes de textura do solo, principalmente areia. Outras associações foram verificadas com matéria orgânica (MO), manganês (Mn) e zinco (Zn), enquanto com os parâmetros de potencial hidrogeniônico (pH), fósforo (P), potássio (K), cálcio (Ca), magnésio (Mg), boro (B), ferro (Fe) ocorreram em correlações pontuais em apenas um período ou manejo isoladamente (Tabelas 8, 9, 10 e 11).

Todas as correlações verificadas com S foram positivas, seja no MT (Tabelas 8 e 9) ou no MC (Tabela 10). Apesar do enxofre também ter ação fungicida conhecida (GARCIA, 1999; ALBUQUERQUE; AZAMBUJA; LINS, 2008) constitui um elemento essencial que interfere na densidade e atividade dos micro-organismos, ativos no processo de transformação de enxofre no solo (GARCIA JR, 1992; MOREIRA; SIQUEIRA, 2006). Czaban e Kobus (2000) observaram mudanças qualitativas nas populações fúngicas do solo que continham enxofre elementar, com predomínio de gêneros com maior capacidade de oxidação desse elemento. As correlações observadas no MT com *Paecilomyces* spp. e no MC, *Aspergillus* spp. e Mucoromycotina, coincidem com grupos fúngicos já descritos em literatura na oxidação de S elementar (GRAYSTON; NEVELL; WAINWRIGHT, 1986; LI et al., 2010). A esporulação (ESP) de FMA, outro fator biológico que se correlacionou positivamente com S, pode estar associado ao fato de que este é um elemento essencial na constituição de proteínas e metabolismo celular de todos os seres vivos (GARCIA JR, 1992), tornando-se indispensável para a formação de propágulos micorrízicos com favorecimento do processo pré-simbiótico (MAIA; SILVA; GOTO, 2010).

A influência do alumínio (Al) foi negativa para *Penicillium* e para leveduras no MC nos dois períodos avaliados e positiva para colonização micorrízica no período úmido (Tabelas 10 e 11) e *Aspergillus* spp. no MT (Tabela 9). O Al possui ação fungistática para a maioria dos fungos, sendo demonstrado efeito inibitório em leveduras *Schizosaccharomyces pombe* (RANGEL, 2007) o que pode explicar as associações negativas observadas. A correlação positiva do Al com *Aspergillus* spp. sugere que baixos teores desse elemento atuam de forma positiva para este grupo de fungos. Silva et al. (2007) verificaram que *A. niger* catalisou o processo de corrosão de alumínio em meio aquoso cloreto, verificando grande liberação de esporos no meio. Ainda que o Al afete os FMA, sobretudo a germinação de esporos (CARDOSO et al., 2010), diferentes espécies apresentam tolerância diferenciada ao elemento,

com efeitos prejudiciais observados a campo somente em solos com elevada acidez (pH $CaCl_2$ < 5,5), no qual o alumínio apresenta maior disponibilidade (LAMBAIS; CARDOSO, 1989).

As correlações negativas observadas com temperatura demonstram o quanto esse fator pode influenciar negativamente os processos microbiológicos do solo. *Paecilomyces* spp., o grupo fúngico mais abundante no MC, demonstrou associação nos dois períodos avaliados (Tabelas 10 e 11). No MT as associações foram observados entre os grupos *Trichoderma* spp. e dematiáceos (Tabelas 8 e 9). Esse fator apresenta efeitos diversos na atividade microbiana do solo variando conforme a taxa de tolerância de cada organismo (THIES; GROSSMAN, 2006). Além disso, a temperatura afeta as reações fisiológicas das células microbianas e as características físico químicas do ambiente, levando a um efeito direto sobre os micro-organismos, induzindo mudanças na composição microbiana. As atividades metabólicas microbianas, são ótimas a 28°C para os mesófilos, e sofrem decréscimo significativo em temperaturas abaixo de 25° C e acima de 35°C (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006). Mesmo estando em níveis adequados aos micro-organismos mesófilos, a temperatura observada pode ter influenciado a atividade microbiana destes grupos negativamente, especialmente no período seco (20 e 26 °C período seco e úmido, respectivamente).

A análise mostrou que a textura do solo exerceu influência negativa sobre os gêneros *Metarhizium* spp., *Paecilomyces* spp. e dematiáceos (Tabelas 8, 9, 10 e 11). Fatores granulométricos do solo (argila, silte, areia) são conhecidos por influenciar a densidade e atividade dos micro-organismos do solo, pois estão fortemente ligados às capacidades de retenção de água e nutrientes, troca entre cátions e ânions (THIES; GROSSMAN, 2006) e aos processos de agregação do solo, por meio da formação de micro e macro poros, sendo este último, local de maior incidência de fungos (VORONEY, 2007; FREY, 2007). A conducividade e a supressividade de solos à doenças é outro fator que envolve a contribuição da textura, pois já foi demonstrado que a incidência de *Fusarium* em repolho relaciona-se com a ausência de um argilo mineral no solo (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006).

Acredita-se que neste estudo, os teores de areia, silte e argila encontrados podem ter limitado as populações fúngicas no solo, com exceção de MET no MC que pareceu ter sido beneficiado com os teores de areia.

As associações envolvendo CTC foram negativas para o MT e positivas no MC. Este parâmetro está diretamente ligado à textura do solo, especialmente as frações de argila, pois quanto menor as partículas do solo, maior a superfície de contato e consequentemente maior

capacidade de retenção de cátions trocáveis, o que significa maior disponibilidade de K, Ca, Mg (RAIJ, 2011). Este fato explicaria as associações negativas no MT que apresentaram menor CTC e maior teor de areia, sendo o inverso para o MC com maior CTC e menor teor de areia. Assim, a menor CTC no MT mostra menor disponibilização de K, Ca e Mg necessários ao crescimento microbiano (MORRIS; BLACKWOOD, 2007). Isso pode ser verificado com a correlação positiva de *Trichoderma* spp. com Mg no MT.

Outras associações observadas foram com MO positiva no MT para EE-BRSP (Tabela 8) e negativa no MC para *Paecilomyces* spp. (PAE), colonização (COL) e esporulação micorrízica (ESP) (Tabela 11). A correlação positiva de MO com EE-BRSP já foi descrita por outros autores (RILLIG et al., 2003; LIMA; SOARES; SOUZA, 2013) e demonstra a contribuição dessa glicoproteína nos estoques de carbono orgânico do solo. Estudos mais aprofundados indicam que o carbono da EE-BRSP representa 3 a 7% do carbono orgânico total do solo (LOVELOCK et al., 2004). O fato da correlação entre essas variáveis ocorrer somente no MT sugere o quanto as práticas realizadas neste tratamento contribuíram para a resiliência de processos primordiais a sustentabilidade do agroecossistema.

Enquanto isso, as correlações negativas no MC apontam que a MO está impactando negativamente a atividade dos fungos. Tal fato pode estar relacionado ao processo de adsorção de agroquímicos em partículas minerais e orgânicas do solo. Solos com alto teor de MO apresentam maior adsorção de agroquímicos (MUSUMECI, 1992). Mesmo que a MO aumente a população microbiana e acelere o processo de biodegradação, pode ocorrer a adsorção do agroquímico nas partículas do solo interferindo nos processos de transformação dessas moléculas (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006). Assim, o acúmulo dessas partículas no solo poderia estar afetando a atividade de *Paecilomyces* spp. (PAE) e dos fungos micorrízicos arbusculares (FMA), representados pela colonização (COL) e esporulação micorrízica (ESP).

As correlações dos parâmetros microbiológicos com Mn e Zn foram negativas para ambos os manejos e períodos avaliados (Tabelas 8, 9 e 10). Apesar de alguns gêneros fúngicos participarem do processo de oxidação biológica do Mn, especialmente *Cladosporium* e *Fusarium* e no caso do Zn, ser um dentre os outros micronutrientes, necessários a vida microbiana (HUNGRIA; URQUIAGA, 1992), são relatados em literatura no controle de doenças bacterianas e fúngicas. Datnoff, Elmer e Huber (2007) verificaram o efeito positivo da aplicação de Mn em diversas culturas no controle da murcha de fusarium (*Fusarium* spp.). Pasin et al. (2002) verificaram controle de fungos de pós colheita (*Aspergillus, Fusarium e*

Cladosporium) em grãos de café ao aplicar Cu, Zn, Mn e B isoladamente, porém o resultado não se manteve quando esses nutrientes foram aplicados em mistura. Neste sentido, Mn e Zn poderiam influenciar negativamente as populações de *Fusarium* spp. (FUS), Mucoromycotina (MUC) e *Neurospora* spp. (NEU) no MT e *Paecilomyces* spp. (PAE) no MC.

Os nutrientes avaliados neste trabalho foram aportados, principalmente no MC, por meio da fertilização mineral e conforme foi demonstrado alguns deles podem ter efeito maléfico nas populações de fungos do solo. Os fertilizantes minerais de alta solubilidade podem a longo prazo alterar a composição e a diversidade de populações microbianas no solo de sistemas agrícolas (JANGID et al., 2008). A redução e substituição desses e outros insumos acompanhada por um manejo integrado como o proposto neste trabalho, pode reestabelecer grupos microbianos importantes ao funcionamento do agroecossistema (POSTMA-BLAAUW et al., 2010).

Ademais, os parâmetros químicos P, pH, K, Ca, Al, B, Cu e o físico areia não apresentam correlação significativa ($P \leq 0,05$) com nenhum parâmetro microbiológico, para o MT no período de seca. Enquanto no período de chuva os parâmetros com correlação nula foram MO, pH, K, Ca, Mg, CTC, B, Cu, Fe, Zn, umidade, argila e silte e portanto não são apresentados na tabela 8 e 9, respectivamente.

Para o MC, dentre os parâmetros químicos sem correlação estão o P, MO, pH, Mg, Cu, Fe, Mn e os físicos umidade e silte no período de seca e P, K, Ca, Mg, S, B, Cu, Fe, Mn, Zn, umidade, argila e silte no período de chuva e da mesma forma não são apresentados nas tabelas 10 e 11.

5.7 Análise multivariada dos parâmetros estudados

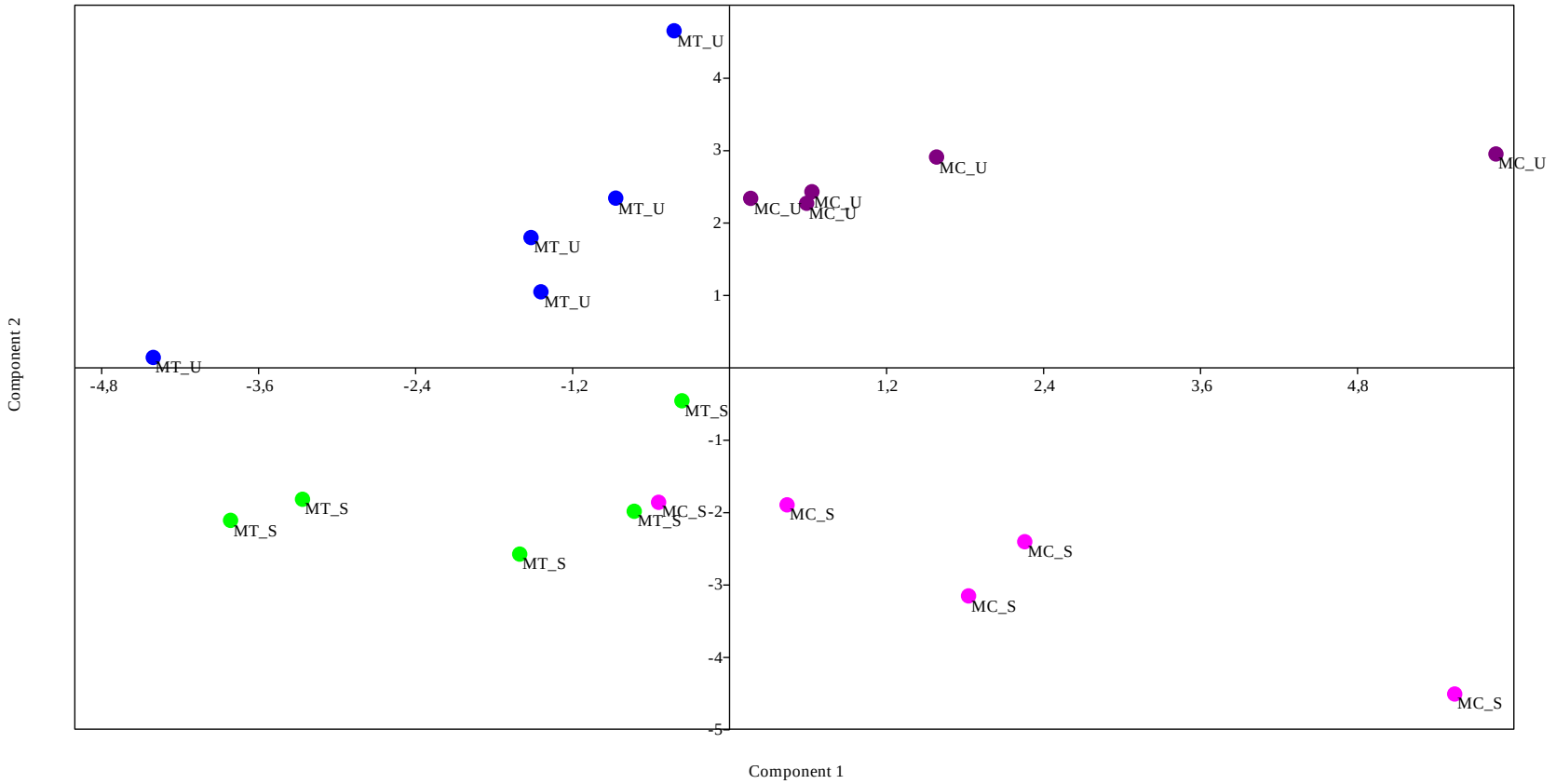
A análise de componentes principais (PCA) demonstrou distinção entre os manejos e períodos avaliados (Figura 14). Segundo Varella (2008) esta análise agrupa os indivíduos de uma população segundo a variação de características que o definem.

Assim, o componente 1 agrupa os tratamentos, manejo de transição (MT) e manejo convencional (MC) e o componente 2 os períodos, seco (_S) e úmido (_U). A partir dessa análise verifica-se que a que a porcentagem de explicação atribuídos aos manejo é de 17,60 % (componente 1), enquanto a porcentagem de explicação atribuídos aos diferentes períodos é de 17,11 % (componente 2). Desse modo, os manejos e períodos contribuem de forma similar para

a explicação dos dados, sendo ambos os fatores influentes nas populações de fungos do solo. Segundo Ferreira (2011) valores considerados significativos para interpretação dessa análise devem ser no mínimo de 70%, pois uma alta porcentagem de explicação nos dois primeiros componentes, traduz uma forte relação entre variáveis analisadas. A baixa porcentagem dos componentes indica que existem outros fatores, além dos avaliados no presente ensaio, que ajudariam a explicar a diferenciação entre os tratamentos, como por exemplo o conjunto de ações que integram cada manejo.

Em termos práticos, a segregação dos pontos que identificam os manejos demonstraram que 4 anos de reduções e substituições de produtos químicos (fertilizantes ou defensivos), aliados à bioestimulação da microbiota do solo, foram suficientes para alterar a dinâmica dos fungos no solo e suas funções associadas.

Figura 14 – Análise de componentes principais (PCA) entre tratamentos, manejo de transição (MT) e convencional (MC) e períodos avaliados, seco(S) e úmido (U) em pomar cítrico.



Fonte: Elaborado pela autora (2016). CP 1 = 17,60%; CP 2 = 17,11%.

6 CONSIDERAÇÕES

O manejo de transição proporcionou maior riqueza e diversidade de grupos fúngicos no solo tanto no período seco quanto no período úmido;

Diferenças na composição dos grupos fúngicos entre tratamentos foram mais evidentes no período úmido;

A estrutura das populações fúngicas foi influenciada pelo manejo de solo e pelas condições climáticas;

A esporulação dos fungos micorrízicos arbusculares (FMA) serviu como sensível indicador das mudanças ocasionadas no solo em função dos manejos agrícolas.

Fatores físico-químicos como enxofre (S), alumínio (Al), capacidade de troca de cátions (CTC) temperatura e textura foram os mais correlacionados com as populações de fungos do solo;

Mediante os resultados das análises realizadas, conclui-se que o manejo de transição traz benefícios a diversidade de fungos no solo sob plantio de citros, e por isso deve ser incentivado.

REFERÊNCIAS

ALBUQUERQUE, G.A.S.C.; AZAMBUJA, R.S.L.; LINS, F.A.F. Agrominerais - Enxofre. In: LUZ, A.B.; LINS, F.A.F. (Eds.). **Rochas: Minerais industriais: Uso e especificações**. 2.ed. Rio de Janeiro, Centro de Tecnologia Mineral - CETEM, 2008. p.577-590.

ALTIERI, M.A.; NICHOLLS, C.I. Biodiversity, ecosystem function and insect pest management in agricultural systems. In: COLLINS, W.; QUALSET, C. (Eds.). **Biodiversity in Agroecosystems**. Washington: CRC, 1999. p.69-84.

ALTIERI, M.A. **Biotecnologia agrícola: Mitos, riscos ambientais e alternativas**. Porto Alegre: Emater, 2002. Disponível em: <http://antigo.aspta.org.br/por-um-brasil-livre-de-transgenicos/documentos/Altieri%20Biotecnologia%20mitos%20e%20riscos%20 ambientais.pdf>. Acesso em: 10 mar. 2014.

ALTIERI, M.A.; SILVA, E.N.; NICHOLLS, C.I. **O papel da biodiversidade no manejo de pragas**. Ribeirão Preto: Holos, 226p, 2003.

ALVES, S.B. Fungos entomopatogênicos. In:____. (Eds.). **Controle Microbiano de Insetos**. Piracicaba: FEALQ, 1998. cap.11, p.289-381.

AMPRAYN, K.; ROSE, M.T.; KECSKÉS, M.; PEREG, L.; NGUYEN, H.T.; KENNEDY, I.R. Plant growth promoting characteristics of soil yeast (*Candida tropicalis* HY) and its effectiveness for promoting rice growth. **Applied Soil Ecology**, v. 61, p.295-299, 2012.

ARUNDEL, A.V.; STERLING, E.M.; BIGGIN, J.H.; STERLING, T.D. Indirect health effects of relative humidity in indoor environments. **Environmental Health Perspectives**, v.65, p.351–361, 1986.

ASSIS, R.L.; ROMEIRO, A.R. O processo de conversão de sistemas de produção de hortaliças convencionais para orgânicos. **Revista de Administração Pública**, v.41, n.5, p.863-885, 2007.

AZEVEDO, F.A. Manejo de entrelinha de pomar de citros com uso de braquiárias e roçadeiras laterais. **Relatório final apresentado à Fundação Agrisus**, Cordeirópolis, 2013. 50p.

BARBOSA, R.N.T. **Toxinas de fungos podem reduzir o uso de herbicidas**. Agrolink, 2105. Disponível em:< http://www.agrolink.com.br/noticias/NoticiaDetalhe.aspx?codNoticia= 220831>. Acesso em: 24 jul. 2015.

BEDENDO, I.P. Ambiente e Doença. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. (Eds.). **Manual de Fitopatologia: princípios de conceitos**. São Paulo: Ceres, 1995. p.331-341.

BEDINI, S.; AVIO, L.; SBRANA, C.; TURRINI, A.; MIGLIORINI, P.; VAZZANA, C.; GIOVANNETTI, M. Mycorrhizal activity and diversity in a long-term organic Mediterranean agroecosystem. **Biology and Fertility of Soils**, v. 49, n.7, p.781-790, 2013.

BEGON, M.; TOWNSEND, C.R.; HARPER, J.L. **Ecologia de indivíduos a ecossistemas**. 4. ed. Porto Alegre: Artmed Editora S/A, 2007. 752p.

BETTIOL, W.; MORANDI, M.A.B.; PINTO, Z.V.; PAULA JÚNIOR, T.J.; CORRÊA, E.B.; MOURA, A.B.; LUCON, C.M.M.; COSTA, J.C.B.; BEZERRA, J.L. **Produtos Comerciais à Base de Agentes de Biocontrole de Doenças de Plantas**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, n.88, 155p., 2012. Disponível em: <http://ainfo.cnptia.embrapa.br /digital/bitstream/item/66628/1/Doc-88-1.pdf>. Acesso em: 24 abr. 2014.

BORGES, L.R.; LAZZARI, S.M.N.; PIMENTEL, I.C.; VILA NOVA, M.X. Diversidade de fungos filamentosos em solo de monocultivo de erva-mate, *Ilex paraguariensis* St. Hil. **Revista Acadêmica: Ciências Agrárias e Ambientais,** v.9, n.2, p.185-194, 2011.

BOSSUYT, H.; DENEF, K.; SIX, J.; FREY, S.D.; MERCKX, R.; PAUSTIAN, K. Influence of microbial populations and residue quality on aggregate stability. **Applied Soil Ecology**, n.16, p.195-208, 2001.

BRADFORD, M.M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v.72, p.248-254, 1976.

BRANDÃO, E.M. Os componentes da comunidade microbiana do solo. In.: CARDOSO, E.J.B.N.; TSAI, S.M.; NEVES, M.C.P. (Eds.). **Microbiologia do Solo**. Campinas: SBCS, 1992. p.329-340.

BRASIL. Ministério da Agricultura (MA). **Culturas: Citros**. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/vegetal/culturas/citrus>. Acesso em: 20 mar. 2014.

BRASIL. Medida Provisória n° 2186-16 de 23 de agosto de 2001. Regulamenta a Convenção sobre Diversidade Biológica e dispõe sobre o acesso ao patrimônio genético. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 23 ago. 2001. Disponível em: <http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/mpv/2186-16.htm>. Acesso em: 10 mar. 2015.

BUENO, R.J. **Conceito, histórico e divisões da agricultura**. Iporá: Instituto Federal Goiano, 2012. Disponível em: <http://www.ifgoiano.edu.br/ipora/images/stories/coordenacao/Bueno/ 1_-_Conceito_histrico_e_divisao_da_agricultura.pdf>. Acesso em: 24 mar. 2014.

CARDOSO, E.J.B.N.; CARDOSO, I.M.; NOGUEIRA, M.A.; BARETTA, C.R.D.M.; PAULA, A.M. Micorrizas arbusculares na aquisição de nutrientes pelas plantas. In: SIQUEIRA, J.O.; SOUZA, F.A.; CARDOSO, E.J.B.N.; TSAI, S.M. (Eds.). **Micorrizas: 30 anos de pesquisa no Brasil**. Lavras: UFLA, 2010. p.153-214.

CARNEIRO, R.M.D.G. **Estude des Possibilities D'utilisation du Champignon Nematophage *Paecilomyces lilacinus* (Thom.) Samson, 1974, Comme Agent de Lutte**

Biologique contre Meloidogyne arenaria (Neal, 1889), Chitwood, 1949. 1986. 119f. Tese (Doutorado) - Cours do Pos Graduation in Parasitologie, Academie de Montpellier. Universite des Sciences et Techniques du Languedoc, France.

CARRENHO, R.; COSTA, S.M.G.; BALOTA, E.L.; COLOZZI FILHO, A. Fungos micorrízicos arbusculares em agroecossistemas brasileiros. In: SIQUEIRA, J.O.; SOUZA, F.A.; CARDOSO, E.J.B.N.; TSAI, S.M. (Eds.). **Micorrizas: 30 anos de pesquisa no Brasil**. Lavras: UFLA, 2010. p.215-250.

CASTELLANI, A. Viability of some pathogenic fungi in distilled water. **Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v.42, p.225-226, 1939.

CAVERO, P.A.S.; HANADA, R.E.; GASPAROTTO, L.; NETO, R.A.C.; SOUZA, J.T. Biological control of banana black Sigatoka disease with Trichoderma. **Ciência Rural**, v.45, n.6, p.951-957, 2015.

CENTRO DE PESQUISA MOKITI OKADA (CPMO). **II Encontro Regional de Produtores de Grãos**. Ipeúna, 2016.

CHANDRASHEKAR, M.A.; SOUMYA PAI, K.; RAJU, N.S. Fungal Diversity of Rhizosphere Soils in Different Agricultural fields of Nanjangud Taluk of Mysore District, Karnataka, India. **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences**, v.3, p. 559-566, 2014.

CLEMMENSEN, K.E.; BAHR, A.; OVASKAINEN, O.; DAHLBERG, A.; EKBLAD, A.; WALLANDER, H.; STENLID, J.; FINLAY, R.D.; WARDLE, D.A.; LINDAHL, B.D. Roots and associated fungi drive long-term carbon sequestration in boreal forest. **Science**, v.339, p.1615-1618, 2013.

COLWELL, R.K. **EstimateS: Statistical estimation of species richness and shared species from samples**. Version 9.1.0, 2013.

COORDENADORIA DE DEFESA AGROPECUÁRIA (CDA). **Dados da Citricultura do Estado de São Paulo, Relatório de Inspeção do Cancro Cítrico e HLB-Greening**, 1p., 2016. Disponível em:<http://www.defesa.agricultura.sp.gov.br/www/gdsv/index.php?action=dadosCitriculturaPaulista>. Acesso em: 21 mar. 2016.

COSTA, P.M.O.; SOUZA-MOTTA, C.M.; MALOSSO, E. Diversity of filmentous fungi in diferente systems of lanse use. **Springer**, v.85, p.195-203, 2012.

COUTINHO, F.P.; CAVALCANTI, M.A.Q.; YANO-MELO, A.M. Filamentous fungi isolated from the rhizosphere of melon plants (*Cucumis melo* L. cv. Gold Mine) cultivated in soil with organic amendments. **Acta Botânica Brasílica**, v.24, p.292-298, 2010.

CZABAN, J.; KOBUS, J. Oxidation of elemental sulfur by bacteria and fungi in soil. **Acta Microbiologica Polonica**, v.49, p.135-147, 2000.

DATNOFF, L.E.; ELMER, W.H.; HUBER, D.M. **Mineral nutrition and plant disease**. St.

Paul: APS, 2007. 278p.

DE VRIES, F.T.; VAN GROENIGEN, J.W.; HOFFLAND, E.; BLOEM, J. Nitrogen losses from two grassland soils with different fungal biomass. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 43, p. 997–1005, 2011.

DE VRIES, F.T.; LIIRI, M.E.; BJØRNLUND, L.; BOWKER, M.A.; CHRISTENSEN, S.; SETALA, H.M.; BARDGETT, R.D. Land use alters the resistance and resilience of soil food webs to drought. **Nature Climate Change**, v. 2, p. 276-280, 2012.

DOMSCH, K.H.; GAMS, W.; ANDERSON, T.H. **Compendium of Soil Fungi**. 2.ed. Eching: IHW-Verlag, v.1, 1993. 860p.

DRIVER, J.D.; HOLBEN, W.E.; RILLIG, M.C. Characterization of glomalin as a hyphal wall component of arbuscular mycorrhizal fungi. **Soil Biology & Biochemistry**, Oxford, v.37, n.1, p.101-106, 2005.

ELLOUZE, W.; TAHERI, A.E.; BAINARD, L.D.; YANG, C.; BAZGHALEH, N.; NAVARRO-BORRELL, A.; HANSON, K.; HAMEL, C. Soil fungal resources in annual cropping systems and their potential for management. **BioMed Research International**, p.531-824, 2014.

EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. **Manual de métodos de análise de solos**. 2 ed. rev. e atual. Rio de Janeiro: EMBRAPA, 1997. 212p.

FERREIRA, D.F. **Programa de analises estatísticas (Statistical Analysis Software) e planejamentos de experimentos - Sisvar 5.3** - Universidade Federal de Lavras, 2010.

FERREIRA, D.F. **Estatística multivariada**. 2. ed. Lavras: Ed. UFLA, 2011.

FERREIRA, E.A.; FRANÇA, A.C.; CARVALHO, R.F.; SANTOS, J.B.; SILVA, D.V.; SANTOS, E.A. Avaliação fitossociológica da comunidade infestante em áreas de transição para o café orgânico. **Planta Daninha**, v.29, n.3, p.565-576, 2011.

FISCHER, I.H.; PALHARINI, M.C.A.; SPÓSITO, M.B.; AMORIM, L. Doenças pós-colheita em laranja 'Pêra' produzida em sistema orgânico e convencional e resistência de *Penicillium digitatum* a fungicidas. **Summa Phytopathologica**, v.39, n.1, p.28-34, 2013.

FISCHER, I.H.; ZANETTE, M.M.; SPOSITO, M.B.; AMORIM, L. Doenças pós colheita em laranja 'Valencia' e caracterização da população fúngica em pomares orgânicos e convencionais. **Tropical Plant Pathology**, v.36, n.6, p.390-399, 2011.

FRACETTO, G.G.M.; AZEVEDO, L.C.B.; FRACETTO, F.J.C.; ANDREOTE, F.D.; LAMBAIS, M.R.; PFENNING, L.H. Impact of Amazon land use on the community of soil fungi. **Scientia Agrícola** (USP. Impresso), v. 70, p. 59-67, 2013.

FRANÇA, S.C.; GOMES-DA-COSTA, S.M.; SILVEIRA, A.P.D. Microbial activity and arbuscular mycorrhizal fungal diversity in conventional and organic citrus orchards. **Biological Agriculture & Horticulture**, v.25, p.91–102, 2007.

FREY, S.D. Spatial Distribution of Soil Organisms. In.: PAUL, E.A. (Eds.). **Soil Microbiology, Ecology, and Biochemistry**. 3.ed. Oxford: Elsevier Academic Press, 2007. p.283-302.

GARCIA, A. **Fungicidas I: utilização no controle químico de doenças e sua ação contra os fitopatógenos**. Porto Velho: Embrapa Rondônia, 1999. (Documentos, 46), 34p.

GARCIA JR, O. O enxofre e suas transformações microbianas. In.: CARDOSO, E.J.B.N.; TSAI, S.M.; NEVES, M.C.P. (Eds.). **Microbiologia do Solo**. Campinas: SBCS, 1992. p.319-328.

GAVIRIA, C. **Normas para interpretar e reportar a "standard" em placa**. São Paulo: Merck, v.1, 1978.

GERDEMANN, J.W.; NICOLSON, T.H. Spores of mycorrhizal Endogone species extracted from soil by wet and decanting. **Transactions of the British Mycological Society**, v.46, n.2, p.235-244, 1963.

GIOVANNETTI, M.; MOSSE, B. An evaluation of techniques for measuring vesicular-arbuscular mycorrhizal infection in roots. **New Phytologist**, v.84, p.489-500, 1980.

GOMEZ, E.; PIOLI, R.; CONTI, M. Fungal abundance and distribution as influenced by clearing and land use in a vertic soil of Argentina. **Biology and Fertility of Soils**, v.43, n.3, p.373-377, 2007.

GOOGLE MAPS. [**Fazenda Santo Antonio do Lageado**]. [2015]. Disponível em: https://www.google.com.br/maps/place/Mogi-Gua%C3%A7u,+Mogi+Gua%C3%A7u+-+SP/@-22.1544283,-47.2157252,14z/data=!4m2!3m1!1s0x94c85a6407e30b8f:0xc35136af8ca26d9b?hl=pt-BR. Acesso em: 23 mar. 2015.

GOSS-SOUZA, D.; BORGES, C.D.; MENDES, L.W.; NAVARRETE, A.A.; BARETTA, D.; MUI, T.S. Exploring Diversity of Soil Microorganisms: A Multidimensional Approach. In: GHELER-COSTA, C.; LYRA-JORGE, M.C.; VERDADE, L.M. (Eds.). **Biodiversity in Agricultural Landscapes of Southeastern Brazil.** Berlim: De Gruyter Open, p.66-86, 2016.

GRANTINA, L.; KENIGSVALDE, K.; EZE, D.; PETRINA, Z.; SKRABULE, I.; ROSTOKS, N.; NIKOLAJEVA, V. Impact of six-year-long organic cropping on soil microorganisms and crop disease suppressiveness. **Žemdirbystė Agriculture**, v.98, p.399–408, 2011a.

GRANTINA, L.; SEILE, E.; KENIGSVALDE, K.; KASPARINSKIS, R.; TABORS, G.; NIKOLAJEVA, V.; JUNGERIUS, P.; MUIZNIEKS, I. The influence of the land use on abundance and diversity of soil fungi: comparison of conventional and molecular methods of analysis. **Environmental and Experimental Biology**, v.9, p.9–21, 2011b.

GRAYSTON, S.J.; NEVELL, W.; WAINWRIGHT, M. Sulphur oxidation by fungi. **Transactions of the British Mycological Society**, v.87, p.193-198, 1986.

GUIJARRO, B., MELGAREJO, P.; TORRES, R.; LAMARCA, N.; USALL, J.; DE CAL, A. *Penicillium frequentans* population dynamics on peach fruits after its applications against brown rot in orchards. **Journal of Applied Microbiology,** v.104, p.659–671, 2008.

HAMMER, Ø.; HARPER, D.A.T.; RYAN, P.D. PAST: Paleontological statistics software package for education and data analysis. **Palaeontologia Electronica**, v.4, n.1, 2001.

HOFFMANN, U. Key development challenges for a fundamental transformation of agriculture. In.: United Nations Conference on Trade and Development (UNCTAD). **Trade And Environment Review 2013 - Wake up before it is too late - Make agriculture truly sustainable now for food security in a changing climate**. Geneva: United Nations Publication, p.2-135, 2013.

HOMMA, S.K. Recuperação integrada de alguns atributos físicos e biológicos do solo como estratégia de produção sustentável em citros. **Relatório de atividades apresentado ao Programa de Pós-graduação Interunidades Ecologia Aplicada**, na Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" – ESALQ, Piracicaba, 2015.

HOMMA, S.K.; TOKESHI, T.; MENDES, L.W.; TSAI, S.M. Long-term application of biomass and reduced use of chemicals alleviate soil compaction and improve soil quality. **Soil & Tillage Research**, v.120, p.147-153, 2012.

HOUBRAKEN, J.; SAMSON, R.A.; FRISVAD, J.C. Byssochlamis: significance of heat resistance and mycotoxin production. In: HOCKING, A.D.; PITT, J.I.; SAMSOM, R.A.; THRANE, U. **Advances in food mycology: advances in experimental medicine and biology**. Nova York: Springer, 2006. p. 211-224.

HUNGRIA, M.; URQUIAGA, S. Transformações microbianas de outros elementos: Potássio, micronutrientes e metais pesados. In: CARDOSO, E.J.B.N.; TSAI, S.M.; NEVES, M.C.P. (Eds.). **Microbiologia do Solo**. Campinas: SBCS, 1992. p. 329-340.

JABBOUR, R.; BARBERCHECK, M.E. Soil management effects on entomopathogenic fungi during the transition to organic agriculture in a feed grain rotation. **Biological Control**, v.51, p.435-443, 2009.

JABBOUR, R.; PISANI-GAREAU, T.; SMITH, R.G.; MULLEN, C.; BARBERCHECK, M. Cover crop and tillage intensities alter ground-dwelling arthropod communities during the transition to organic production. **Renewable Agriculture and Food Systems**, p.1-14, 2015.

JANGID, K.; WILLIAMS, M.A.; FRANZLUEBBERS, A.J.; SANDERLIN, J.S.; REEVES, J.H.; JENKINS, M.B.; ENDALE, D.M.; COLEMAN, D.C.; WHITMAN, W.B. Relative impacts of land-use, management intensity and fertilization upon soil microbial community structure in agricultural systems. **Soil Biology & Biochemistry**, v.40, p.2843–2853, 2008.

JENKINS, W.R. A rapid centrifugal-flotation technique for separating nematodes from soil. **Plant Disease Report**, v.48, n.9, p.692, 1964.

JONASON, D.; ANDERSSON, G.K.S.; CKINGER, E.O.; RUNDLO, M.; SMITH, H.G.; BENGTSSON, J. Assessing the effect of the time since transition to organic farming on plants and butterflies. **Journal of Applied Ecology**, v.48, p.543–550, 2011.

KARASAWA, T.; TAKEBE, M.; SATO, F.; KOMADA, M.; NAGAOKA, K.; TAKENAKA, M.; URASHIMA, Y.; NISHIMURA, S.; TAKAHASHI, S.; KATO, N. Trends of lettuce and carrot yields and soil enzyme activities during transition from conventional to organic farming in an Andosol. **Soil Science and Plant Nutrition**, v.61, p.295–311, 2015.

KENNEDY, A. Microbial Diversity in Agroecosystem Quality. In: COLLINS, W.; QUALSET, C. (Eds.). **Biodiversity in Agroecosystems**. Washington: CRC, 1999. p.1-17.

LAMBAIS, M.R.; CARDOSO, E.J.B.N. Germinação de esporos e crescimento do tubo germinativo de fungos micorrízicos vesículo-arbusculares em diferentes concentrações de alumínio. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.13, p.151-154, 1989.

LANGE, L. The importance of fungi and mycology for addressing major global challenges. **IMA Fungus**, v.5, n.2, p.463-471, 2014.

LAZCANO, C.; BARRIOS-MASIAS, F.H.; JACKSON, L.E. Arbuscular mycorrhizal effects on plant water relations and soil greenhouse gas emissions under changing moisture regimes. **Soil Biology & Biochemistry**, v.74, p.184-192, 2014.

LEE, J.E.; EOM, A.H. Effect of organic farming on spore diversity of Arbuscular mycorrhizal fungi and glomalin in soil. **Mycobiology**, v.37, n.4, p.272-276, 2009.

LI, X.S.; SATO, T.; OOIWA, Y.; KUSUMI, A.; GU, J.D.; KATAYAMA, Y. Oxidation of elemental sulfur by *Fusarium solani* strain THIF01 harboring endobacterium *Bradyrhizobium* sp. **Microbial Ecology**, v.60, n.1, p.96-104, 2010.

LIMA, F.S.L.; SOARES, A.C.F.; SOUSA, C.S. Ocorrência e atividade de fungos micorrízicos arbusculares em plantios de eucalipto (Eucalyptus sp.) no litoral norte da Bahia, Brasil. **Revista Árvore**, v.37, n.2, p.245-255, 2013.

LOPES, M.R.; KLEIN, M.N.; FERRAZ, L.P.; SILVA, A.C.; KUPPER, K.C. *Saccharomyces cerevisiae*: A novel and efficient biological control agent for *Colletotrichum acutatum* during pre-harvest. **Microbiological Research**, v. 175, p.93–99, 2015.

LÓPEZ-BUCIO, J.; PELAGIO-FLORES, R.; HERRERA-ESTRELLA, A. Trichoderma as biostimulant: exploiting the multilevel properties of a plant beneficial fungus. **Scientia Horticulturae,** v.196, p.109-123, 2015.

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.

MAGURRAN, A.E. **Medindo a diversidade biológica.** Tradução Dana Moiana Vianna. Curitiba: UFPR, 2013. 261p.

MAIA, L.C.; SILVA, F.S.B.; GOTO, B.T. Estrutura, ultraestrutura e germinação de glomerosporos. In: SIQUEIRA, J.O.; SOUZA, F.A.; CARDOSO, E.J.B.N.; TSAI, S.M. (Eds.). **Micorrizas: 30 anos de pesquisa no Brasil**. Lavras: UFLA, 2010. p.75-118.

MARCATTO, C. **Agricultura sustentável: conceitos e princípios**. Rede ambiente. Disponível em: <http://www.redeambiente.org.br/Artigos.asp?id_dir=6>. Acesso em: 24 mar. 2014.

MARTINEZ, C.O.; SILVA, C.M.M.S.; FAY, E.F.; ABAKERLI, R.B.; MAIA, A.H.N.; DURRANT, L.R. The effects of moisture and temperature on the degradation of sulfentrazone. **Geoderma**, v.147, p.56–62, 2008.

MATOS, A.K.V. **Revolução verde, biotecnologia e tecnologias alternativas**. Campinas: Cadernos da Fucamp, v.10, n.12, p.1-17, 2011. Disponível em: <http://www.fucamp.edu.br/editora/index.php/cadernos/article/view/134>. Acesso em 05 mar. 2014.

MATOS, R.M.B.; SILVA, E.M.R.; BERBARA, R.L.L. **Biodiversidade e Índices**. Seropédica: Embrapa Agrobiologia, 1999. (Embrapa-CNPAB, Documentos, 107). Disponível em: <http://www.cnpab.embrapa.br/system/files/downloads/doc107.pdf>. Acesso em: 05 mar. 2014.

MAZOYER, M.; ROUDART, L. **História das agriculturas do Mundo: do neolítico à crise contemporânea**. São Paulo: UNESP, 2010. 567p.

MENDES, I.C.; REIS JUNIOR, F.B.; HUNGRIA, M.; FERNANDES, M.F.; CHAER, G.M.; MERCANTE, F.M.; ZILLI, J.E. Microbiologia do solo e sustentabilidade de sistemas agrícolas. In: FALEIRO, F.G.; ANDRADE, S.R.M.; REIS JUNIOR, F.B. (Orgs.). **Biotecnologia: estado da arte e aplicações na agropecuária**. Planaltina: Embrapa Cerrados, 2011. p.217-244.

MICHEREFF FILHO, M.; FARIA, M.R.; WRAIGHT, S.P. **Micoinseticidas e Micoacaricidas no Brasil: Como estamos?.** Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 28p., 2007 (Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Documentos 240).

MORANDI, M.A.B; BETIOL, W. Controle biológico de doenças de plantas no Brasil. In: BETIOL, W.; MORANDI, M.A.B. (Orgs.). **Biocontrole de doenças em plantas: uso e perspectivas.** Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente. 2009. p.7-14.

MOREIRA, F.M.S.; CARES, J.E.; ZANETTI, R.; STURMER, S.L. O ecossistema solo: componentes, relações ecológicas e efeitos na produção vegetal. In: ____. **O ecossistema solo**. Lavras: UFLA, 2013. cap.1, p.13-20.

MOREIRA, F.M.S.; SIQUEIRA, J.O. **Microbiologia e Bioquímica do Solo.** 2.ed. Lavras: UFLA, 2006. 729p.

MORRIS, S.J.; BLACKWOOD, C.B. The ecology of soil organisms. In.: PAUL, E.A. (Eds.). **Soil Microbiology, Ecology, and Biochemistry**. 3.ed. Oxford: Elsevier Academic Press, 2007. p.195-230.

MUSUMECI, M.R. Defensivos agrícolas e sua interação com a microbiota do solo. In.: CARDOSO, E.J.B.N.; TSAI, S.M.; NEVES, M.C.P. (Eds.). **Microbiologia do Solo**. Campinas: SBCS, 1992. p.341-360.

NEUMANN, B.; LAING, M. Trichoderma: an ally in the quest for soil system sustainability. In: UPHOFF, N.; BALL, A.; FERNANDES, E.; HERREN, H.; HUSSON, O.; LAING, M.; PALM, C.A.; PRETTY, J.N.; SANCHEZ, P.A.; SANGINGA, N.; THIES J. (Eds.). **Biological Approaches to Sustainable Soil Systems.** Boca Raton: CRC Press, 2006. p.491-500.

OKADA, M. **Alicerce do Paraíso: Agricultura Natural, Arte e Sociedade**. 8.ed. São Paulo: FMO, v.5, 2005. 179p.

OLIVEIRA, L.G.; CAVALCANTI, M.A.Q.; FERNANDES, M.J.S.; LIMA, D.M.M. Diversity of filamentous fungi isolated from the soil in the semiarid area, Pernambuco, Brazil. **Journal of Arid Environments**, v.95, p.49-54, 2013.

PALLU, A.P.S. **Potencial biotecnológico de fungos do gênero *Penicillium* e interação com cana-de-açúcar.** 2010. 130f. Tese (Doutorado em Ciências). Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" – ESALQ, Piracicaba, 2010.

PASIN, L.A.A.P.; ABREU, M.S.; CHALFOUN, S.M.; PÁDUA, T.R.P. Efeito de micronutrientes na população fúngica associada a grãos de café (*Coffea arabica* l.). **Ciência Agrotecnologia**, v.26, n.5, p.918-926, 2002.

PFENNING, L.H. Fungos do solo. In: MOREIRA, F.M.S.; CARES, J.E.; ZANETTI, R.; STURMER, S.L. **O ecossistema solo**. Lavras: UFLA, 2013. p.271-288.

PHILLIPS, J.M.; HAYMAN, D.S. Improved proceduces for clearning roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assesment of infection. **Transactions of the British Mycological Society**, v.55, n.1, p.158-161, 1970.

PIMM, S.L. The complexity and stability of ecosystems. **Nature**, v. 307, p.321-326, 1984.

PINOTTI, M.M.Z.; SANTOS, J.C.P.; KLAUBERG FILHO, O.; CASTRO, R.L. Isolamento de Fungos benéficos de Solo associados ao manejo empregado em culturas de amora, framboesa e mirtilo no Sul do Brasil. **Revista Brasileira de Agroecologia**, v.6, n.1, p.67-80, 2011.

POMELLA, A.W.V.; RIBEIRO, R.T.S. Controle biológico com *Trichoderma* em grandes culturas – Uma visão empresarial. In: BETIOL, W.; MORANDI, M.A.B. (Orgs.). **Biocontrole de doenças em plantas: uso e perspectivas**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente. 2009. p.239-244.

POSTMA-BLAAUW, M.B.; DE GOEDE, R.G.M.; BLOEM, J.; FABER, J.H.; BRUSSAARD, L. Soil biota community structure and abundance under agricultural intensification and extensification. **Ecology**, v.91, p.460–473, 2010.

POWELL, J.; KLIRONOMOS, J. The ecology of plant-microbial mutualisms. In: PAUL, E.A. (Eds.). **Soil Microbiology, Ecology and Biochemistry.** 3.ed. Oxford: Elsevier Academic Press, 2007. p.257-281.

PRADE, C.A. **Aspectos ecológicos da comunidade fúngica do solo em ambientes ripários com diferentes formas de manejo**. 2007. 90f. Tese (Doutorado em Ciências). Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2007.

PRADE, C.A.; MATSUMURA, A.T.; OTT, A.P.; PORTO, M.L. Diversidade de fungos do solo em sistemas agroflorestais de citrus com diferentes tipos de manejo no município de Roca Sales, Rio Grande do Sul, Brasil. **Biociências**, v.15, p.73–81, 2007.

PRIMAVESI, A. **Manejo ecológico do solo: a agricultura em regiões tropicais**. São Paulo: Nobel, 1999. 549p.

PURIN, S.; KLAUBERG FILHO, O. Glomalina: Nova abordagem para entendermos a biologia dos fungos micorrízicos arbusculares. In: SIQUEIRA, J.O.; SOUZA, F.A.; CARDOSO, E.J.B.N.; TSAI, S.M. (Eds.). **Micorrizas: 30 anos de pesquisa no Brasil**. Lavras: UFLA, 2010. p.503-524.

QUAGGIO, J.A.; MATTOS JR, D.; CANTARELLA, H. Manejo da fertilidade do solo. In: MATTOS JR, D.; DE NEGRI, J.D.; PIO, R.M.; POMPEU JR, J. (Eds.). **Citros.** Campinas: Instituto Agronômico: Fundag, 2005. p.483-507.

RAIJ, B.van. **Fertilidade do solo e manejo de nutrientes**. Piracicaba: IPNI, 2011. 420p.

RAIJ, B.van; ANDRADE, J.C.; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J.A. **Análise química para avaliação da fertilidade de solos tropicais**. Campinas: IAC, 2001. 285p.

RANGEL, L.C. **Efeito do alumínio na dinâmica da parede celular da levedura de fissão (Schizosaccharomyces pombe)**. 2007. 84f. Dissertação (Mestrado) Universidade Estadual do Norte Fluminense – Darcy Ribeiro, Campo dos Goytacazes, 2007.

RECH, M.; PANSERA, M.R.; SARTORI, V.C.; RIBEIRO, R.T.S. Microbiota do solo em vinhedos agroecológico e convencional e sob vegetação nativa em Caxias do Sul, RS. **Revista Brasileira de Agroecologia**, v.8, n.3, p.141-151, 2013.

REIS, V.M.; ANDRADE, G.; FARIA, S.M.; SILVEIRA, A.P.D. Interações de fungos micorrízicos arbusculares com outros microrganismos do solo. In: SIQUEIRA, J.O.; SOUZA, F.A.; CARDOSO, E.J.B.N.; TSAI, S.M. (Eds.). **Micorrizas: 30 anos de pesquisa no Brasil**. Lavras: UFLA, 2010. p.361-382.

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

SACCO, D.; MORETTI, B.; MONACO, S.; GRIGNANI, C. Six-year transition from conventional to organic farming: effects on crop production and soil quality. **European Journal of Agronomy**, v.69, p.10–20, 2015.

SAMSON, R.A.; HOUBRAKEN, J.; THRANE, U.; FRISVAD, J.C.; ANDERSEN, B. **Food and indoor fungi**. Utrecht: CBS KNAW Biodiversity Center, 2010. 390p.

SANTILLI, J. **Agrobiodiversidade e direitos dos agricultores**. São Paulo: Peirópolis, 2009. 519p.

SANTOS, H.G.; JACOMINE, P.K.T.; ANJOS, L.H.C.; OLIVEIRA, V.A.; LUMBRERAS, J.F.; COELHO, M.R.; ALMEIDA, J.A.; CUNHA, T.J.F.; OLIVEIRA, J.B. **Sistema Brasileiro de Classificação de Solos**. 3.ed. Brasília: Embrapa, 2013. 353p.

SANTOS, V.B.; ARAÚJO, A.S.F.; LEITE, L.F.C.; NUNES, L.A.P.L.; MELO, W.J. Soil microbial biomass and organic matter fractions during transition from conventional to organic farming systems. **Geoderma**, v.170, p.227–231, 2012.

SILVA, A.M.A.; SANTIAGO, T.M.; ALVES, C.R.; GUEDES, M.I.F.; FREIRE, J.A.K.; VIEIRA, R.H.S.F.; SILVA, R.C.B. An evaluation of the corrosion behavior of aluminum surfaces in presence of fungi using atomic force microscopy and other tests. **Anti-Corrosion Methods and Materials**, v.54, n.5, p.289-293, 2007.

SINGH, P.K.; SINGH, M.; TRIPATHI, B.N. Glomalin: an arbuscular mycorrhizal fungal soil protein. **Protoplasma,** v.250, p.663–669, 2013.

THIELE-BRUHN, S.; BLOEM, J.; DE VRIES, F.T.; KALBITZ, K.; WAGG, K. Linking soil biodiversity and agricultural soil management. **Current Opinion Environmental Sustainability**, v. 4, p. 523-528, 2012.

THIES, J.E.; GROSSMAN, J.M. The soil habitat and soil ecology. In: UPHOFF, N.; BALL, A.; FERNANDES, E.; HERREN, H.; HUSSON, O.; LAING, M.; PALM, C.A.; PRETTY, J.N.; SANCHEZ, P.A.; SANGINGA, N.; THIES J. (Eds.). **Biological Approaches to Sustainable Soil Systems.** Boca Raton: CRC Press, 2006. p.59-78.

THORN, R.G.; LYNCH, M.D.J. Fungi and eukaryotic algae. In: PAUL, E.A. (Eds.). **Soil Microbiology, Ecology and Biochemistry.** 3.ed. Oxford: Elsevier Academic Press, 2007. p.145-162.

TISDALL, J.M.; OADES, L.M. Organic matter and water-stable aggregates in soil. **Journal Soil Science**, v. 33, p. 141-163, 1982.

TU, C.; LOUWS, F.J.; CREAMER, N.G.; MUELLER, J.P.; BROWNIE, C.; FAGER, K.; BELL, M.; HU, S. Responses of soil microbial biomass and N availability to transition

strategies from conventional to organic farming systems. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v.113, p.206–215, 2006.

UNITED NATIONS ENVIRONMENT PROGAMME (UNEP). **Assessing global land use: balancing consumption with sustainable supply**. International Resource Panel, 131p., 2014. Disponível em: <http://www.unep.org/publications/>. Acesso em: 21 mar. 2014.

VARELLA, C.A.A. Análise Multivariada Aplicada as Ciências Agrárias – Análise de Componentes Principais. **Programa de Pós-Graduação em Agronomia - UFRRJ**, 2008, 12p.

VORONEY, R.P.; The soil habitat. In.: PAUL, E.A. (Eds.). **Soil Microbiology, Ecology, and Biochemistry**. 3.ed. Oxford: Elsevier Academic Press, 2007. p.25-52.

WEBSTER, J.; WEBER, R.W.S. **Introduction to Fungi**. 3.ed. New York: Cambridge University Press, 2007. 841p.

WRIGHT, S.F.; UPADHYAYA, A. A survey of soils for aggregate stability and glomalin, a glycoprotein produced by hyphae of arbuscular mycorrhizal fungi. **Plant and Soil**, v.198, p.97-107, 1998.

BIBLIOGRAFIA CONSULTADA

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 10520**: informação e documentação: citações em documentos: apresentação. Rio de Janeiro, 2002.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 6023**: informação e documentação: referências: elaboração. Rio de Janeiro, 2002.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 14724**: informação e documentação: trabalhos acadêmicos: apresentação. Rio de Janeiro, 2011.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Normas de apresentação tabular**. 3.ed. Rio de Janeiro, 1993.

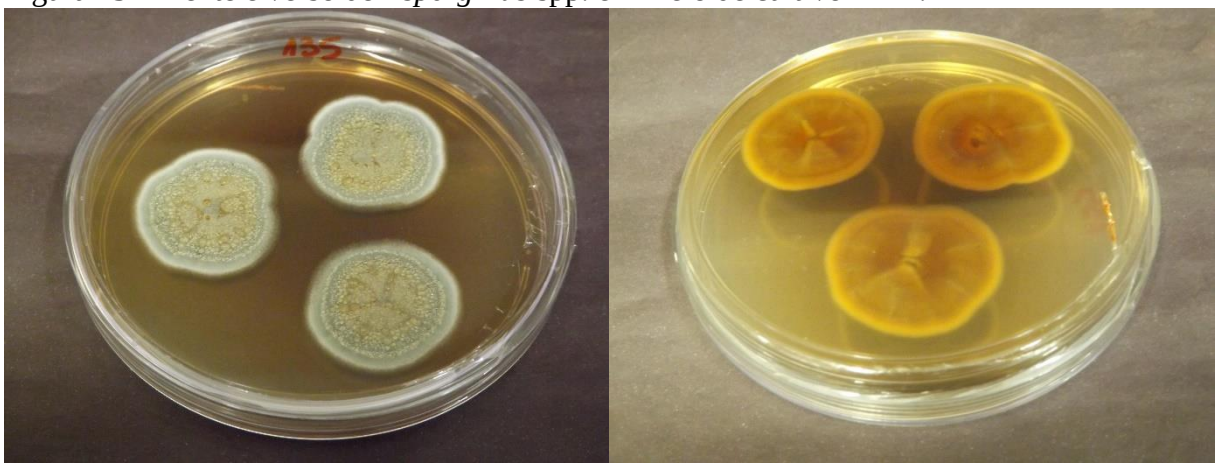
INSTITUTO NACIONAL DE METROLOGIA, QUALIDADE E TECNOLOGIA. **Sistema Internacional de Unidades**. 9.ed. Rio de Janeiro, 2012.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA. **Normas para publicações da UNESP:** referências. São Paulo: Editora UNESP, 2010, v.1.

ANEXO A

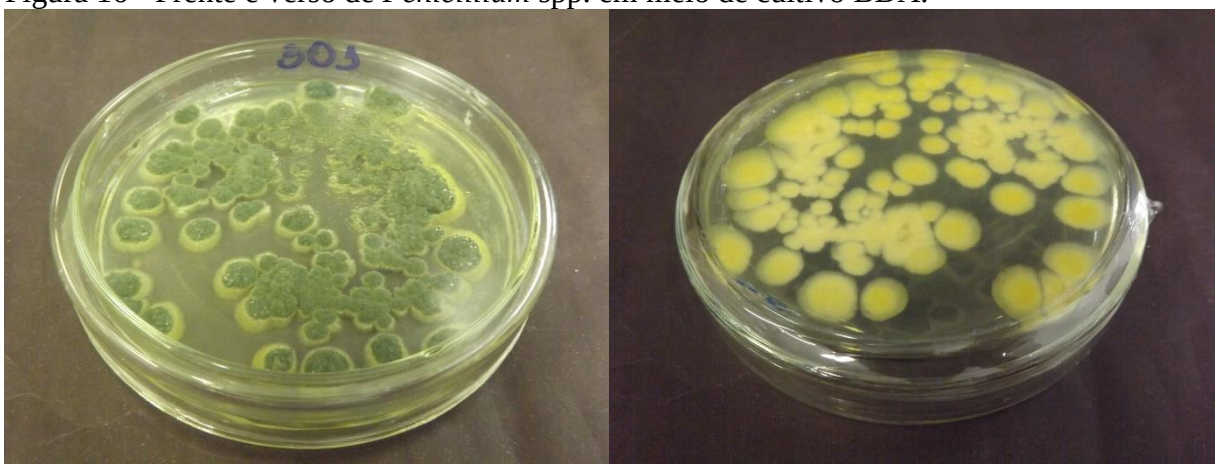
Registro fotográfico de colônias fúngicas

Figura 15 - Frente e verso de *Aspergillus* spp. em meio de cultivo BDA.



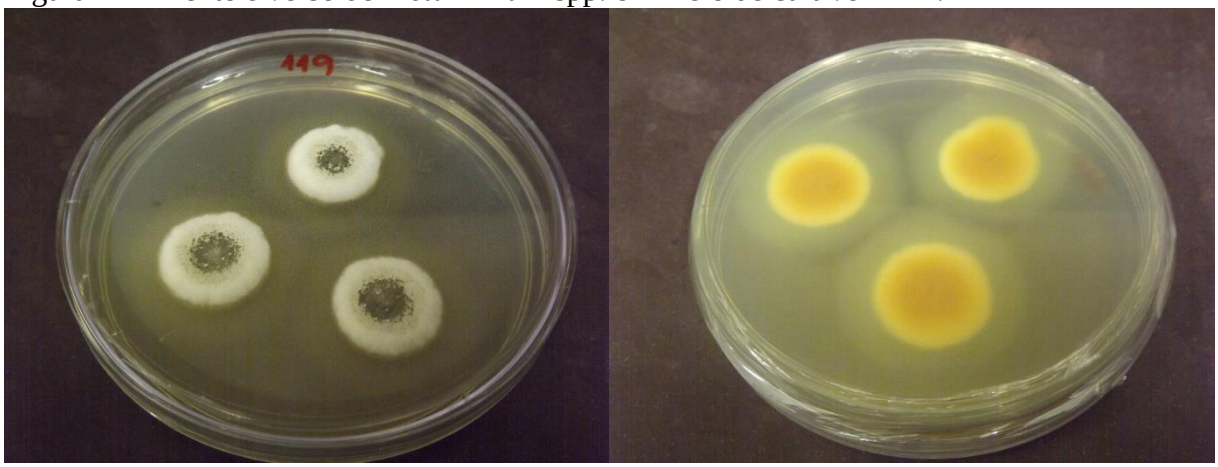
Fonte: Arquivos CPMO (2014). Crédito das imagens Amália Busoni e Antonio Perrussi Jr.

Figura 16 - Frente e verso de *Penicillium* spp. em meio de cultivo BDA.



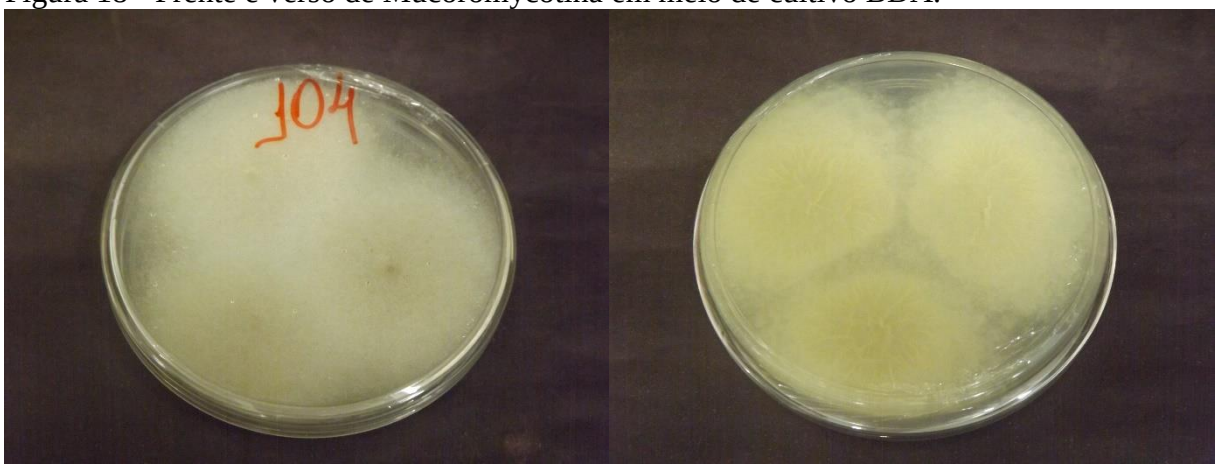
Fonte: Arquivos CPMO (2014). Crédito das imagens Amália Busoni e Antonio Perrussi Jr.

Figura 17 - Frente e verso de *Metarhizium* spp. em meio de cultivo BDA.



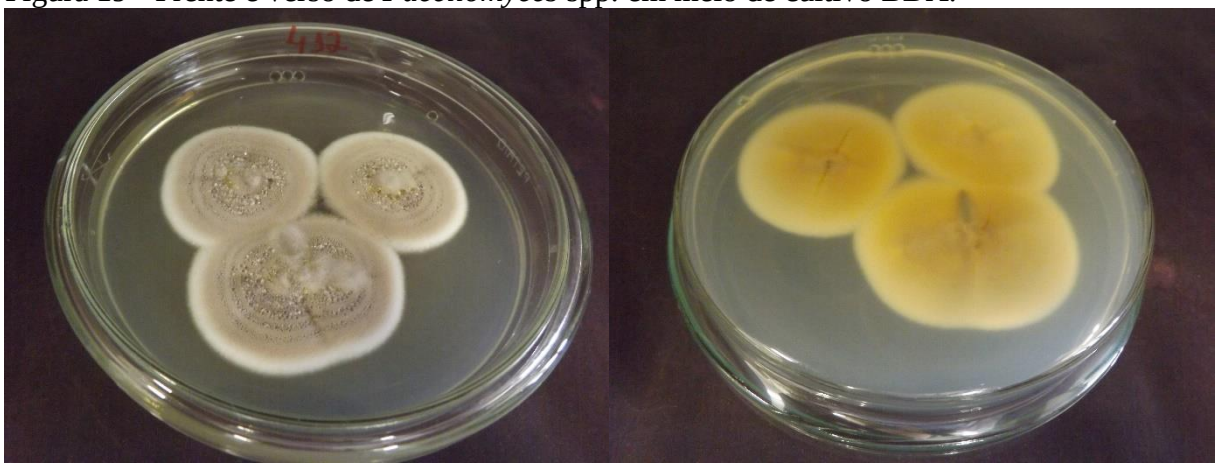
Fonte: Arquivos CPMO (2014). Crédito das imagens Amália Busoni e Antonio Perrussi Jr.

Figura 18 - Frente e verso de Mucoromycotina em meio de cultivo BDA.



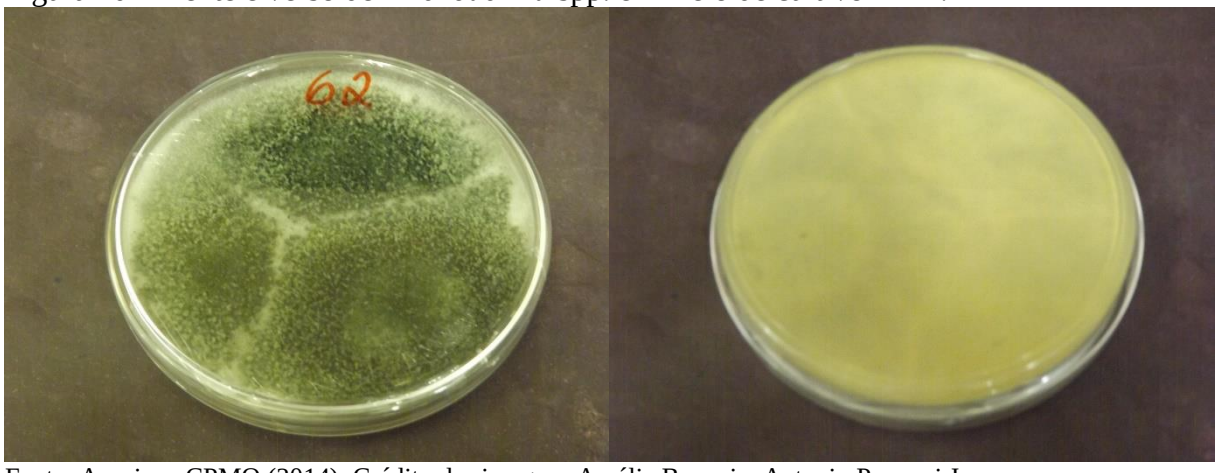
Fonte: Arquivos CPMO (2014). Crédito das imagens Amália Busoni e Antonio Perrussi Jr.

Figura 19 - Frente e verso de *Paecilomyces* spp. em meio de cultivo BDA.



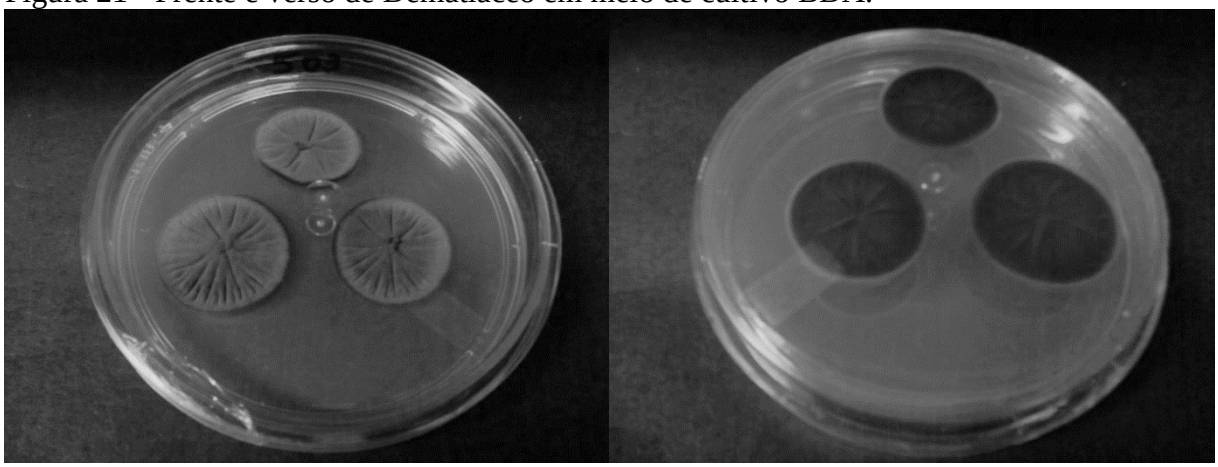
Fonte: Arquivos CPMO (2014). Crédito das imagens Amália Busoni e Antonio Perrussi Jr.

Figura 20 - Frente e verso de *Trichoderma* spp. em meio de cultivo BDA.



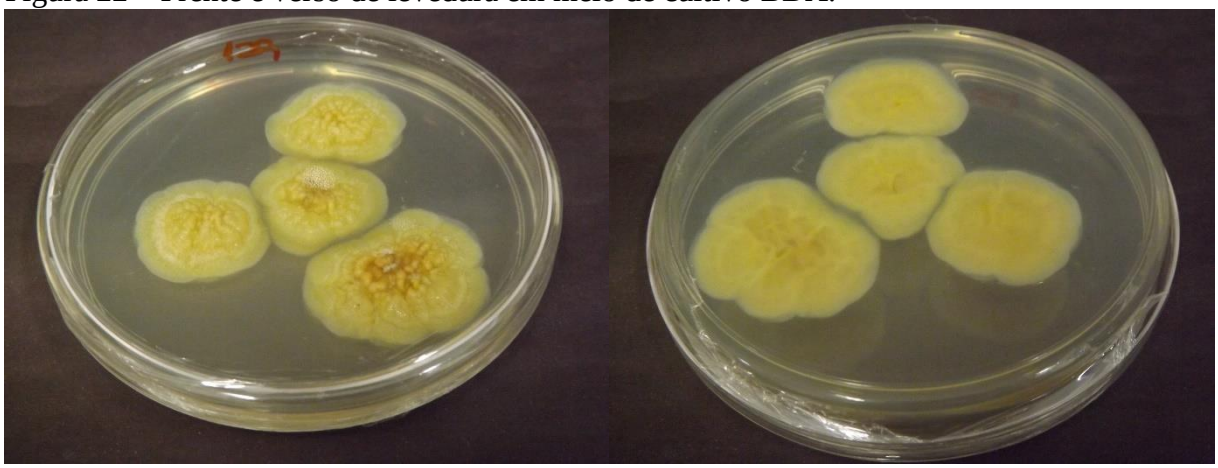
Fonte: Arquivos CPMO (2014). Crédito das imagens Amália Busoni e Antonio Perrussi Jr.

Figura 21 - Frente e verso de Dematiáceo em meio de cultivo BDA.



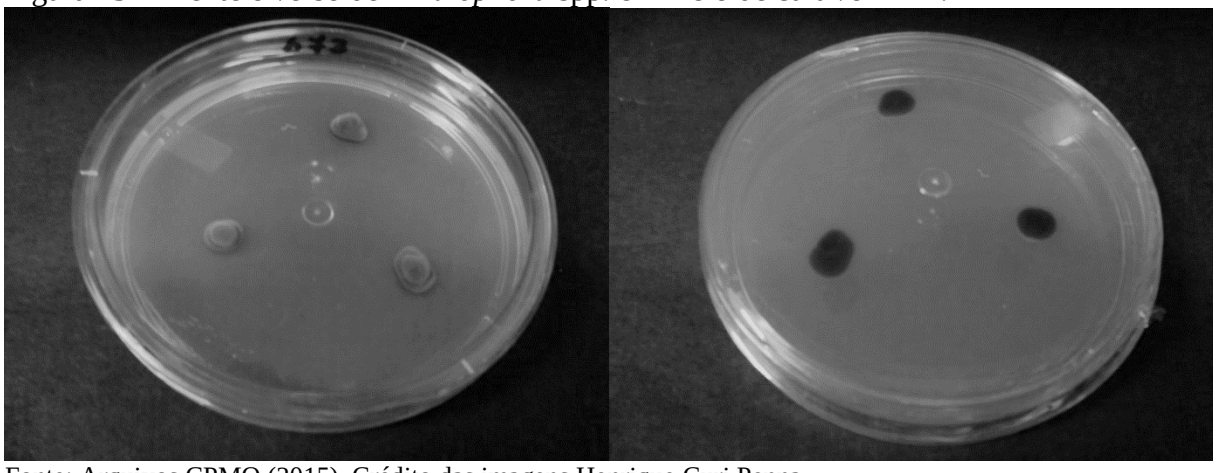
Fonte: Arquivos CPMO (2015). Crédito das imagens Henrique Curi Penna.

Figura 22 – Frente e verso de levedura em meio de cultivo BDA.



Fonte: Arquivos CPMO (2014). Crédito das imagens Amália Busoni e Antonio Perrussi Jr.

Figura 23 – Frente e verso de *Phialophora* spp. em meio de cultivo BDA.



Fonte: Arquivos CPMO (2015). Crédito das imagens Henrique Curi Penna.