

UNIVERSIDADE DE PASSO FUNDO  
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

**Estruturação, diversidade e uso de comunidades de fungos  
micorrízicos arbusculares em morangueiro**

José Luís Trevizan Chiomento

Passo Fundo

2018

José Luís Trevizan Chiomento

Estruturação, diversidade e uso de comunidades de fungos micorrízicos arbusculares em morangueiro

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Passo Fundo, como requisito parcial para obtenção de título de Mestre em Agronomia.

Orientadora:

Dra. Eunice Oliveira Calvete

Coorientadora:

Dra. Rosiani Castoldi da Costa

Passo Fundo

2018

CIP – Catalogação na Publicação

---

- C538e Chiomento, José Luís Trevizan  
Estruturação, diversidade e uso de comunidades de  
fungos micorrízicos arbusculares em morangueiro / José  
Luís Trevizan Chiomento. – 2018.  
104 f. : il. color. ; 30 cm.
- Orientadora: Dra. Eunice Oliveira Calvete.  
Coorientadora: Dra. Rosiani Castoldi da Costa.  
Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade  
de Passo Fundo, 2018.
1. Morango - Cultivo. 2. Fungos do solo. 3. Solos.  
I. Calvete, Eunice Oliveira, orientadora. II. Costa, Rosiani  
Castoldi da, coorientadora. III. Título.

CDU: 634.75

# ATA DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO



**PPGAgro**

Programa de Pós-Graduação em Agronomia  
Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária - FAMV

A Comissão Examinadora, abaixo assinada, aprova a Dissertação.

**"Estruturação, diversidade e uso de comunidades de fungos micorrízicos arbusculares em morangueiro"**

Elaborada por

José Luís Trevizan Chiomento

Como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em  
Agronomia – Produção e Proteção de Plantas

Aprovada em: 16/03/2018  
Pela Comissão Examinadora



**Dra. Eunice Oliveira Calvete**  
Presidente da Comissão Examinadora  
Orientadora



**Dr. Paulo Vitor Dutra de Souza**  
UFRGS



**Dra. Rosiani Castoldi da Costa**  
Coorientadora



**Dr. Edson Campanhola Bortoluzzi**  
Coord. Prog. Pós-Graduação em Agronomia



**Dr. Luis Eduardo Corrêa Antunes**  
Empresa Clima Temperado



**Dr. Hélio Carlos Rocha**  
Diretor FAMV

## **DEDICATÓRIA**

Aos meus pais, Nadir e Nerete, meus maiores incentivadores, dedico.

## **AGRADECIMENTOS**

Aos meus pais, pelo entusiasmo transmitido e por todo seu empenho e esforço quanto à concretização de meus objetivos. À minha irmã, Tábata, e ao meu cunhado, Maicon, pela colaboração durante esses dois anos e por me proporcionarem o melhor presente já recebido: meu sobrinho Bento.

À minha orientadora, Dra. Eunice Oliveira Calvete, por dilucidar o óbvio, por toda sua dedicação, paciência e conhecimentos transmitidos antes e durante minha inserção na pesquisa e pela sua amizade. À minha coorientadora, Dra. Rosiani Castoldi da Costa, por clarear os caminhos enigmáticos, por me auxiliar em todos os momentos e pela amizade. À equipe do Laboratório de Ecofisiologia Vegetal e aos amigos, pela ajuda em todas as etapas da pesquisa e pelas gargalhadas para superar os entraves ocorridos.

Ao Dr. Paulo Vítor Dutra de Souza (UFRGS), por disponibilizar seu tempo e compartilhar sua infraestrutura para treinamentos metodológicos necessários à pesquisa. Ao Dr. Sidney Luiz Stürmer (FURB) e à Dra. Rosilaine Carrenho (UEM) pela fundamental ajuda quanto à identificação de espécies de fungos micorrízicos arbusculares (FMA). À Dra. Simone Meredith Scheffer Basso (UPF), pelos ensinamentos sobre a aplicação da análise multivariada nesse estudo. Esta pesquisa foi fortificada graças à imensa colaboração de vocês.

À equipe da Empresa de Assistência Técnica e Extensão Rural do Estado do Rio Grande do Sul (Emater/RS) e aos produtores de morango dos municípios de Bom Princípio, Flores da Cunha, Ipê e São José do Hortêncio, por concordarem em participar da pesquisa, cedendo seu tempo e propriedades para a realização das coletas de solos. À empresa Bioagro Comercial Agropecuária Ltda., pelo fornecimento das mudas de morangueiro usadas neste trabalho.

Ao Programa de Suporte à Pós-Graduação de Instituições Comunitárias de Ensino Particulares (PROSUC) da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudos, à Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa), unidade Clima Temperado, pela ajuda financeira, e ao PPGAgro da UPF, pela formação de recursos humanos e pela possibilidade de atuar na pesquisa.

## **EPIGRAFE**

“O papel dos infinitamente pequenos na natureza é infinitamente grande.”

Louis Pasteur.

## RESUMO

CHIOMENTO, José Luís Trevizan. Estruturação, diversidade e uso de comunidades de fungos micorrízicos arbusculares em morangueiro. 2018. 104 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo, 2018.

O sistema de produção do morangueiro integra tecnologias que favorecem a produção e qualidade de frutos. Porém, as novas cultivares exigem tecnologias que geralmente envolvem o uso excessivo de insumos químicos, o que ocasiona contaminação ambiental. Assim, alternativas devem ser propostas para minimizar esse inconveniente, tornando o sistema de cultivo dessa hortícola mais sustentável. Uma ferramenta biotecnológica que atende esse propósito corresponde ao uso de inoculantes à base de fungos micorrízicos arbusculares (FMA). Apesar da relevância da interface morangueiro-FMA, a identificação e estruturação de comunidades micorrízicas que compõem a microbiota de solos em ecossistemas rio-grandenses cultivados com morangueiro são escassas. Por isso, o trabalho objetivou caracterizar solos cultivados e de mata nativa em locais-referência no cultivo de morangueiro, quanto à ocorrência de FMA. Assim, foram realizados três estudos. No primeiro, a lógica da pesquisa foi de descrição com levantamento de hipóteses no final do estudo, com o seguinte objetivo: 1) caracterizar solos cultivados e de mata nativa, de locais-referência no cultivo de morangueiro, quanto à comunidade de FMA. Os demais estudos foram de associação com interferência, com os seguintes objetivos: 2) verificar se há variabilidade quanto à diversidade e potencial de inóculo de comunidades de FMA em solos cultivados e de mata nativa dos locais amostrados; 3) avaliar se plantas de morangueiro na ausência e presença de inoculação com comunidades de FMA, obtidas de solos coletados em locais-referência no cultivo dessa espécie, diferem no desempenho morfoagronômico. Os resultados dos estudos mostraram que a micorrizosfera desses solos foi constituída por 42 espécies de FMA, das quais *Claroideoglomus claroideum* e *C. etunicatum* foram dominantes, independente do ecossistema. Solos de mata nativa apresentaram maior riqueza de FMA em relação aos solos cultivados, mas em solo agrícola pouco antropizado houve semelhança na quantidade de FMA quanto aos solos naturais. A inoculação com as comunidades micorrízicas identificadas mostrou efeito positivo no desempenho morfoagronômico das plantas de morangueiro, com destaque para o sistema radicial e para a qualidade dos frutos. Em conclusão, este trabalho fornece informações sobre a estruturação, diversidade e utilização de comunidades de FMA, presentes na microbiota de solos cultivados e naturais, de locais-referência no cultivo do morangueiro. No entanto, ainda há respostas que precisam ser compreendidas e investigadas sobre a dinâmica de FMA na rizosfera e no simbionte morangueiro, de modo que a associação micorrízica seja potencializada de forma ambientalmente sustentável.

Palavras-chave: 1. *Fragaria x ananassa* Duch. 2. Solos. 3. Composição micorrízica. 4. Heterogeneidade micorrízica. 5. Desempenho morfoagronômico.

## ABSTRACT

CHIOMENTO, José Luís Trevizan. Structuring, diversity and use of arbuscular mycorrhizal fungi communities in strawberry. 2018. 104 f. Dissertation (Masters in Agronomy) - Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo, 2018.

The strawberry production system integrates technologies that favor fruit production and quality. However, the new cultivars require technologies that generally involve the excessive use of chemical inputs, which causes environmental contamination. Thus, alternatives must be proposed to minimize this inconvenience, making the cultivation system of this horticultural more sustainable. A biotechnological tool that fulfills this purpose corresponds to the use of inoculants based on arbuscular mycorrhizal fungi (AMF). Despite the relevance of the strawberry-AMF interface, the identification and structuring of mycorrhizal communities that make up the microbiota of soils in Rio Grande do Sul ecosystems cultivated with strawberry are scarce. Therefore, the objective of this study was to characterize cultivated and native forest soils at reference-sites in strawberry cultivation, regarding the occurrence of AMF. Thus, three studies were carried out. In the first one, the logic of the research was a description with hypothesis survey at the end of the study, with the following objective: 1) to characterize cultivated and native forest soils, of reference-sites in strawberry cultivation, regarding the AMF community. The other studies were of association with interference, with the following objectives: 2) to verify if there is variability regarding the diversity and inoculum potential of AMF communities in cultivated and native forest soils of the sampled sites; 3) to evaluate if strawberry plants in the absence and presence of inoculation with AMF communities, obtained from soils collected at reference-sites in the cultivation of this species, differ in the morphoagronomic performance. The results of the studies showed that the mycorrhizasphere of these soils was constituted by 42 AMF species, of which *Claroideoglossum claroideum* and *C. etunicatum* were dominant, independent of the ecosystem. Native forest soils presented higher AMF richness in relation to cultivated soils, but in poorly anthropogenic agricultural soils there was similarity in the AMF amount in natural soils. The inoculation with the identified mycorrhizal communities showed a positive effect on the morphoagronomic performance of the strawberry plants, with emphasis on the root system and fruit quality. In conclusion, this research provides information on the structuring, diversity and utilization of AMF communities, present in the microbiota of cultivated and natural soils of reference-sites in strawberry cultivation. However, there are still answers that need to be understood and investigated about AMF dynamics in the rhizosphere and in the strawberry symbiont, so that the mycorrhizal association is potentiated in an environmentally sustainable way.

Key words: 1. *Fragaria x ananassa* Duch. 2. Soils. 3. Mycorrhizal composition. 4. Mycorrhizal heterogeneity. 5. Morphoagronomic performance.

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b>	<b>13</b>
<b>2</b>	<b>REVISÃO DA LITERATURA</b>	<b>16</b>
2.1	<i>Cultivo convencional do morangueiro e novos desafios</i>	16
2.2	<i>Biologia e ecologia de FMA</i>	17
2.3	<i>Diversidade de FMA</i>	19
2.4	<i>Influência do manejo de solos e de práticas agrícolas na ocorrência de FMA</i>	20
2.5	<i>Potencial de inóculo micorrízico</i>	22
<b>3</b>	<b>CAPÍTULO I</b>	<b>23</b>
3.1	<i>Resumo</i>	23
3.2	<i>Introdução</i>	23
3.3	<i>Material e Métodos</i>	25
3.3.1	Identificação e amostragem dos solos	25
3.3.2	Tratamentos e delineamento	31
3.3.3	Procedimentos	31
3.3.3.1	Heterogeneidade espacial de FMA	31
3.3.3.2	Dissimilaridade física e química dos solos amostrados	32
3.3.4	Análise de dados	32
3.4	<i>Resultados</i>	33
3.4.1	Heterogeneidade espacial de FMA	33
3.4.2	Dissimilaridade física e química dos solos amostrados	38
3.5	<i>Discussão</i>	42
3.6	<i>Conclusões</i>	44
<b>4</b>	<b>CAPÍTULO II</b>	<b>45</b>
4.1	<i>Resumo</i>	45
4.2	<i>Introdução</i>	45
4.3	<i>Material e Métodos</i>	47
4.3.1	Identificação e amostragem dos solos	47
4.3.2	Tratamentos e delineamento	48
4.3.3	Procedimentos	49
4.3.3.1	Riqueza e frequência relativa de espécies de FMA	50
4.3.3.2	Capacidade infectiva de comunidades de FMA	52

---

4.3.4	Análise de dados	53
4.4	<i>Resultados</i>	53
4.4.1	Riqueza e frequência relativa de espécies de FMA	53
4.4.2	Capacidade infectiva de comunidades de FMA	57
4.5	<i>Discussão</i>	57
4.6	<i>Conclusões</i>	61
<b>5</b>	<b>CAPÍTULO III</b>	<b>62</b>
5.1	<i>Resumo</i>	62
5.2	<i>Introdução</i>	62
5.3	<i>Material e Métodos</i>	64
5.3.1	Material vegetal e condições de crescimento	64
5.3.2	Tratamentos e delineamento	66
5.3.3	Procedimentos	68
5.3.3.1	Desempenho morfológico do morangueiro	69
5.3.3.2	Rendimento e qualidade fitoquímica de frutos de morango	70
5.3.3.3	Dissimilaridade morfoagronômica do morangueiro	71
5.3.4	Análise de dados	71
5.4	<i>Resultados</i>	72
5.4.1	Desempenho morfológico do morangueiro	72
5.4.2	Rendimento e qualidade fitoquímica de frutos de morango	76
5.4.3	Dissimilaridade morfoagronômica do morangueiro	78
5.5	<i>Discussão</i>	79
5.6	<i>Conclusões</i>	83
<b>6</b>	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS</b>	<b>84</b>
<b>7</b>	<b>CONCLUSÃO GERAL</b>	<b>87</b>
	<b>REFERÊNCIAS</b>	<b>88</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A produção de alimentos aborda uma das mais importantes e básicas necessidades humanas. No entanto, com a obrigação de alimentar bilhões de pessoas no mundo, a produção de alimentos é acompanhada por um enorme custo ambiental. Não há dúvida de que a busca pela sustentabilidade dos sistemas de produção têm atraído a atenção do mundo inteiro. Essa conduta é uma resposta à manutenção dos serviços ecossistêmicos, que têm reflexos diretos e indiretos aos seres humanos. Na última década foram propostas várias inovações tecnológicas para potencializar a agricultura sustentável por meio da redução de insumos químicos demandados às plantas cultivadas. Uma ferramenta biotecnológica promissora são os fungos micorrízicos arbusculares (FMA), microrganismos benéficos aos vegetais, naturalmente presentes nos solos.

Devido à redução das populações indígenas de FMA no solo, a inoculação de culturas hortícolas com esses microrganismos está se intensificando, sobretudo em sistemas de cultivo intensivo, a exemplo do morangueiro (*Fragaria x ananassa* Duch.). No Brasil, a produção de morangos incorpora tecnologias que favorecem sua produção e qualidade. Entretanto, essas tecnologias envolvem o uso excessivo de insumos químicos, o que ocasiona contaminação ambiental. Assim, alternativas devem ser propostas para minimizar esse inconveniente, como, por exemplo, o uso de inoculantes à base de FMA.

Apesar da importância dos FMA, a identificação e estruturação de comunidades micorrízicas que compõem a microbiota de solos em ecossistemas cultivados com morangueiro são escassas. Dessa forma, a possibilidade de favorecer a eficiência da micorriza arbuscular ao morangueiro, aliada à necessidade de compreender o papel desses microrganismos em ecossistemas naturais e agrícolas, justificam a importância de iniciar estudos de levantamentos micorrízicos em solos com aptidão agrícola para o cultivo do morangueiro no subtropical brasileiro.

O sistema de produção do morangueiro no Brasil caracteriza-se por ser uma atividade familiar de pequenos e médios agricultores. O interesse por seu cultivo deve-se à elevada rentabilidade agregada ao atrativo do fruto e à demanda de mercado. Ligado a esses aspectos, os FMA podem tornar o sistema de produção do morangueiro sustentável, pois a interação fungo-hospedeiro pode ser uma estratégia de biofertilização, o que ajudaria na redução das fertilizações químicas. Além disso, a simbiose proporciona proteção às plantas contra estresses bióticos, o que contribui para a redução do uso de biocidas, e melhora a qualidade e conteúdo nutracêutico dos frutos por meio do aumento da biossíntese de metabólitos secundários.

O conhecimento sobre a composição de comunidades de FMA em ecossistemas visa, além do desenvolvimento de inoculantes, o estabelecimento de métodos de manejo, de modo que esses fungos tenham seus efeitos benéficos potencializados. Com isso, surge a questão: quais as espécies de FMA que compõem a microbiota de solos cultivados e de mata nativa de locais-referência no cultivo de morangueiro na paisagem rio-grandense?

As hipóteses, para essa questão, são: 1) se a diversidade de FMA em solos cultivados com morangueiro e em solos de mata nativa é distinta, então haverá diferença entre os dois usos do solo quanto à riqueza e frequência de espécies micorrízicas, quando amostras de solos de ambos os usos, coletadas em quatro locais-referência no cultivo do morangueiro, forem analisadas por meio de microscopia; 2) se o desempenho do morangueiro varia quanto à ausência ou presença de inoculação com FMA, então o uso desses microrganismos nas plantas melhora seu desempenho morfoagronômico, quando plantas de morangueiro, cultivar Albion, forem submetidas a bioensaio em estufa agrícola.

Portanto, o trabalho objetivou caracterizar solos cultivados e de mata nativa, de locais-referência no cultivo de morangueiro, quanto à ocorrência de FMA. Esse estudo fornece uma visão da identificação e da diversidade de espécies de FMA em solos com aptidão agrícola para o morangueiro. Em adição, o estudo trata da inoculação de plantas dessa cultura com as comunidades micorrízicas caracterizadas.

Este trabalho está organizado de modo que nesta introdução apresentou-se a contextualização do tema, a problemática, a justificativa, as hipóteses e os objetivos da pesquisa. O próximo componente deste trabalho - revisão da literatura - apresenta aspectos relacionados aos sujeitos (solos e morangueiro) e aos objetos da pesquisa (diversidade de FMA e desempenho morfoagronômico do morangueiro), com as principais descobertas sobre o assunto publicadas nas principais revistas científicas da área. Nos capítulos I, II e III são apresentados e discutidos os resultados obtidos de dois anos de pesquisa, que abrangem desde a identificação de FMA até sua aplicação em plantas de morangueiro. Em seguida, faz-se considerações finais a respeito dos experimentos, e, por fim, apresenta-se a conclusão geral do trabalho.

## **2 REVISÃO DA LITERATURA**

### **2.1 Cultivo convencional do morangueiro e novos desafios**

Cultivado em grande parte do mundo pela sua adaptabilidade às condições de crescimento e ao ambiente de cultivo (AKHATOU et al., 2016), o morangueiro é apreciado pela sua textura suculenta e valor nutritivo. Dentre as pequenas frutas, o morangueiro é a principal espécie cultivada no Brasil, com produção aproximada de 150 mil toneladas, em uma área plantada correspondente a 4,2 mil hectares (FAGHERAZZI et al., 2017). A produção brasileira concentra-se nos estados de Minas Gerais, Rio Grande do Sul, São Paulo e Paraná (ANTUNES; PERES, 2013).

No Brasil, o sistema convencional (plantio no solo) ainda é a principal forma de cultivo (COSTA et al., 2014). Todavia, devido a problemas com doenças de solo e à proibição do uso de compostos fumigantes para sua desinfestação, o cultivo em substrato vem ganhando destaque. Além disso, o aumento da demanda de frutos, aliada à necessidade de produzir o ano todo, destaca o cultivo em ambiente protegido como boa alternativa (COSTA et al., 2016). Devido ao uso de cultivares classificadas como de dias neutros quanto ao florescimento e a novas técnicas de produção, a exemplo do cultivo em substrato, os morangos brasileiros são produzidos e comercializados durante todo o ano (ANTUNES; PERES, 2013; FAGHERAZZI et al., 2014). Destaca-se que a cultivar Albion é a mais usada e junto do cultivo em substrato permite aos produtores a manutenção das mesmas plantas por dois a três anos (FAGHERAZZI et al., 2017). Os morangos produzidos são destinados ao consumo *in natura* e à industrialização (BONA et al., 2015).

O melhoramento genético e a adaptabilidade do morangueiro tornaram possível sua produção em diferentes regiões do Brasil (GONÇALVES et al., 2015, p. 1). No entanto, as cultivares desenvolvidas em programas de melhoramento apresentam elevado

potencial produtivo em resposta ao uso excessivo de insumos químicos. Assim, o sistema de cultivo do morangueiro apresenta inconvenientes, como o elevado uso de defensivos agrícolas e de fertilizantes (ANDRADE et al., 2017), principalmente em relação ao P, pois critérios e recomendações técnicas são desconsiderados (PASZT et al., 2015), o que pode ocasionar contaminação ambiental.

Portanto, novas alternativas de manejos nutricional e fitossanitário devem ser propostas para minimizar esses inconvenientes. Dentre elas está o uso de inoculação com FMA para elevar a aquisição de P e diminuir as aplicações de defensivos agrícolas. Porém, não há, ainda, inoculantes comerciais disponíveis para o morangueiro.

## **2.2 Biologia e ecologia de FMA**

Os organismos do solo têm um papel importante no funcionamento dos agroecossistemas, pois contribuem para o equilíbrio da biosfera (BERRUTI et al., 2016). Estudos têm se intensificado acerca das micorrizas, principais componentes de um sistema solo-planta sustentável (MOLLAVALI et al., 2015). O termo “micorriza”, originado do grego (*myco* = fungo e *rhiza* = raiz) foi usado pela primeira vez em 1885, pelo botânico alemão Albert Bernhard Frank, para se referir às associações mutualistas entre fungos e raízes (MARTIN; SCHWAB, 2013).

Existem sete tipos de micorrizas. Contudo, a micorriza arbuscular é a associação mais comum nos ecossistemas terrestres (MARINS; CARRENHO, 2017). Os FMA são biotróficos obrigatórios, pois completam seu ciclo somente associados a uma planta hospedeira (FILE et al., 2012; GU et al., 2011). Sua reprodução é assexuada, com formação de esporos, que se desenvolvem terminalmente numa hifa. Esses fungos formam associações simbióticas com a maioria das plantas, alterando a morfologia e fisiologia da raiz (AHANGER et al., 2014, p. 71). O fungo, por meio das hifas, coloniza as células do córtex da raiz inter e intracelularmente, formando estruturas intracelulares especializadas chamadas de arbúsculos. Em alguns grupos taxonômicos formam-se, também, as vesículas, que são hifas com dilatações terminais (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006, p. 548) com função de armazenamento de reservas.

A simbiose inicia com a sinalização molecular entre os simbioses nas proximidades das raízes do hospedeiro, por meio de substâncias estimulantes aos fungos, como, por exemplo, metabólitos secundários exsudados pelas células vegetais quando sujeitas a estresse (DENISON; KIERS, 2011; MARTIN et al., 2016). Além disso, a simbiose estimula a síntese de metabólitos secundários, que contribuem para o crescimento e proteção das plantas aos estresses abióticos/bióticos e podem aumentar o acúmulo de compostos antioxidantes (BASLAM; GARMENDIA; GOICOECHEA, 2011; LENOIR; FONTAINE; SAHRAOUI, 2016).

A colonização radicial e a formação de estruturas fúngicas intracelulares são dinamicamente reguladas pela probabilidade da planta em otimizar a simbiose, de acordo com sua fisiologia e estágio de desenvolvimento, resultantes de condições ambientais (BALZERGUE et al., 2011; CHABAUD et al., 2011). Os efeitos das associações micorrízicas nos sistemas agrícolas são potencialmente benéficos, com poucos relatos de ação negativa no crescimento de plantas a campo (DANIELI-SILVA et al., 2010).

Estabelecida a simbiose, há fluxo bidirecional entre simbioses: o fungo fornece nutrientes para a planta, a qual destina carboidratos e lipídios ao fungo (FELLBAUM et al., 2014; KEYMER et al., 2017). O benefício à planta decorre do aumento da área de exploração das raízes micorrizadas por meio de rede de hifas, que são muito mais finas que as raízes e, portanto, são capazes de penetrar em poros menores no solo (ALLEN, 2011; GUTJAHR, 2014). Como as hifas se espalham no solo, as plantas micorrizadas, em relação àquelas desprovidas dessa simbiose, geralmente apresentam teores mais elevados de nutrientes com mobilidade reduzida (XU et al., 2017), o que diminui o requerimento de fertilizantes. O processo de troca de nutrientes entre a planta e fungo ocorre nos arbúsculos e depende de variáveis ambientais e biológicas (MORCILLO et al., 2016).

Os FMA têm o potencial de melhorar consideravelmente as características do solo rizosférico, afetando, assim, o crescimento e desenvolvimento da planta (NAVARRO; PEREZ-TORNERO; MORTE, 2014). Além disso, os FMA desempenham papel biológico no funcionamento e na estabilidade de ecossistemas naturais e agrícolas,

proporcionando melhor estabelecimento inicial de plantas (GOETTEN; MORETTO; STÜRMER, 2016; MANAUT et al., 2015), maior proteção às plantas contra patógenos (JUNG et al., 2012; WEHNER et al., 2011), maior absorção de água e nutrientes (GÓMEZ-BELLOT et al., 2015; GUTJAHR, 2014), mitigação ao estresse salino (ABD-ALLAH et al., 2015; HASHEM et al., 2015) e regulação do fluxo de carbono no sistema solo-planta (CORRADI; BONFANTE, 2012).

O primeiro relato da associação de FMA e do morangueiro foi de White (1929), que evidenciou que micorrizas são possíveis fatores de determinação na distribuição dessa cultura. Posteriormente, foram verificados os efeitos benéficos dos FMA no morangueiro. A inoculação e colonização das raízes por FMA antes do transplante de plântulas micropropagadas ajuda na tolerância ao estresse hídrico durante a aclimatização, melhorando o crescimento das plantas (BORKOWSKA, 2002). Além disso, os FMA podem aumentar a produção de estolões (NIEMI; VESTBERG, 1992) e o volume de raízes (SINCLAIR et al., 2014).

A inoculação de plantas de morangueiro com FMA beneficia a produção e a qualidade fitoquímica de frutos (CECATTO et al., 2016; MARTINEZ; WEILAND; PALENCIA, 2013) e, em relação à nutrição mineral, essa simbiose aumenta a aquisição de P, o que pode ajudar na redução das fertilizações fosfatadas (SHARMA; ADHOLEYA, 2004).

Naturalmente, os solos contêm comunidades de FMA. No entanto, é fundamental a determinação da sua diversidade e dos fatores que afetam essas comunidades (VÁLYI et al., 2016), pois quanto mais precisa a identificação das espécies maior será a compreensão da ecologia dos FMA e o efeito de fatores bióticos e abióticos sobre eles (SOUZA et al., 2010, p. 15).

### **2.3 Diversidade de FMA**

Os FMA pertencem ao filo Glomeromycota, organizado em três classes, cinco ordens, 15 famílias, 38 gêneros e aproximadamente 280 espécies (BŁASZKOWSKI;

CHWAT; GOTO, 2014; GOTO et al., 2012; OEHL et al., 2014). Em levantamento realizado no Brasil, observou-se 99 espécies de FMA em ecossistemas agrícolas e naturais (STÜRMER; SIQUEIRA, 2008, p. 575). Em revisão sistemática foram registradas 119 espécies em diferentes regiões e ecossistemas no Brasil (SOUZA et al., 2010, p. 45), o que representa 48% da diversidade conhecida, indicando que o país é uma grande fonte de diversidade de FMA.

As espécies de FMA são tradicionalmente descritas com base na morfologia e ontogenia de seus esporos (DAVISON et al., 2012). Embora a identificação de esporos seja amplamente usada para caracterizar comunidades de FMA no solo, a esporulação é um fenômeno sazonal, que depende da fisiologia do fungo, da planta hospedeira (BABU; REDDY, 2011) e de condições edafoclimáticas. Assim, a diversidade também é avaliada por culturas-armadilhas (MORTON; BENTIVENGA; BEVER, 1995), usadas para desencadear a esporulação de FMA presentes em amostras de solo e/ou raiz. Outro método para classificar espécies se dá pelo uso de técnicas moleculares, que permitem a detecção e a identificação de FMA baseadas no ácido desoxirribonucleico (DNA) (DAVISON et al., 2015; PAGANO et al., 2016, p. 17).

Nem todos os FMA têm comportamento igual num determinado ambiente (GÓMEZ-BELLOT et al., 2015). Dessa forma, sua diversidade varia de acordo com o tipo e estágio fenológico do hospedeiro, condições edafoclimáticas e práticas agrícolas (CHAUDHARY et al., 2014; HAWKES et al., 2011). Assim, estudos da diversidade de FMA e suas funções em diferentes aptidões agrícolas são importantes para compreender o impacto das mudanças no uso e manejo dos solos no contexto agroecossistêmico (SOKA; RITCHIE, 2015).

#### **2.4 Influência do manejo de solos e de práticas agrícolas na ocorrência de FMA**

A ocorrência geográfica e filogenética de FMA é uma provável adaptação das plantas à escassez e inaccessibilidade de nutrientes em seus habitats naturais (GUTJAHR, 2014). Como a composição e a distribuição de comunidades de FMA são afetadas pelo tipo de solo (JANSA et al., 2014; TORRECILLAS et al., 2014), a diversidade desses

microrganismos é favorecida por manejos que não prejudicam as propriedades físico-químicas do solo (CASTILLO et al., 2016).

O uso inadequado dos solos reduz o desenvolvimento de comunidades de FMA em até 80%, o que compromete a sustentabilidade dos ecossistemas (FERREIRA et al., 2012). Os manejos mecânicos do solo, repetidos periodicamente, destroem a rede micelial extrarradicial formada pelos FMA (BERRUTI et al., 2014, p. 168). Porém, a estruturação de comunidades de FMA geralmente é influenciada por propriedades químicas dos solos (CASAZZA et al., 2017; SANTOS; CARRENHO, 2011), principalmente pelo P e pH (BALOTA; MACHINESKI; STENZEL, 2011; GOSLING et al., 2013; HAZARD et al., 2013). No entanto, esses estudos consideraram apenas um conjunto limitado dessas propriedades (ALGUACIL et al., 2016).

Vários estudos mostraram que as práticas agrícolas têm impactos drásticos sobre comunidades de FMA, reduzindo, assim, sua diversidade (CASTILLO et al., 2016; DAI et al., 2013; VERBRUGGEN et al., 2012). As práticas agrícolas intensivas, como o uso de defensivos agrícolas, são uma ameaça particular para os FMA (BERRUTI et al., 2014, p. 168). Diferentes práticas de cultivo, como monocultura e pousio, reduzem a diversidade de comunidades de FMA (JIAO et al., 2011). O efeito da monocultura contínua favorece a seleção e proliferação de simbiontes fúngicos agressivos e menos cooperativos (BERRUTI et al., 2014, p. 171). Assim, a rotação de culturas conduz essas comunidades a serem menos parasitas (FESTER; SAWERS, 2011) e pode reformular comunidades de FMA derivadas de campos agrícolas, tornando-as mais diversas e similares às detectadas em ecossistemas naturais (VERBRUGGEN et al., 2012).

Dessa forma, a compreensão da dinâmica de comunidades de FMA em agroecossistemas é necessária para identificar os efeitos benéficos que cada espécie de fungo promove a seus hospedeiros (SONGACHAN; KAYANG, 2011). Portanto, o conhecimento acerca da diversidade das espécies nativas de FMA e suas interações com o meio é fundamental para que se estabeleçam manejos de modo que esses fungos potencializem seus efeitos benéficos (SENÉS-GUERRERO; SCHÜBLER, 2016),

visando, além da redução do uso de insumos e melhorias na produtividade e qualidade do produto, o desenvolvimento de inoculantes.

## **2.5 Potencial de inóculo micorrízico**

O processo de propagação e formulação de inoculantes implica numa série de etapas importantes, que são cruciais para a boa qualidade do produto final (BERRUTI et al., 2014, p. 170). Uma dessas etapas considera o potencial de inóculo micorrízico (PIM) do material usado como inoculante.

Assim, o PIM é definido como o número de propágulos fúngicos viáveis responsáveis pela infecção radicial inicial da planta hospedeira (ANDRANGO et al., 2016). O micélio micorrízico extrarradicial, os esporos e os fragmentos de raízes colonizadas representam os propágulos que determinam o PIM, mensurado pela colonização micorrízica em bioensaio com planta hospedeira (MOORMAN; REEVES, 1979; RUBIN; STÜRMER, 2015). O PIM é um atributo quantitativo que indica se uma comunidade de FMA é efetiva no estabelecimento da simbiose.

Embora existam inoculantes comerciais disponíveis à base de FMA, tanto nacionais quanto importados, é essencial que se conheça a diversidade desses microrganismos em relação ao local de cultivo e ao hospedeiro (SELVAKUMAR et al., 2016), pois os efeitos benéficos no crescimento e desenvolvimento das plantas não dependem somente do fungo, mas também das características do hospedeiro e das condições edafoclimáticas (PEDERSEN et al., 2015).

### 3 CAPÍTULO I

Fungos micorrízicos arbusculares na microbiota de solos em cenários estruturados para o morangueiro

#### 3.1 Resumo

A estruturação comunitária de fungos micorrízicos arbusculares (FMA) na micorrizosfera de solos com aptidão agrícola para o cultivo de morangueiro, no subtropical brasileiro, é desconhecida. Por isso, o trabalho objetivou caracterizar solos cultivados e de mata nativa, de locais-referência no cultivo de morangueiro, quanto à comunidade de FMA. Assim, foram realizados dois experimentos: no experimento I (heterogeneidade espacial de FMA) os tratamentos foram oito solos, delineados inteiramente ao acaso, com nove amostras por tratamento; no experimento II (dissimilaridade física e química dos solos amostrados) os tratamentos foram os oito solos, delineados inteiramente ao acaso, com três repetições. Os resultados mostraram que a micorrizosfera desses solos foi constituída por 42 espécies de FMA. Constatou-se que solos pouco antropizados sob cultivo do morangueiro assemelharam-se aos solos naturais quanto à heterogeneidade espacial de FMA. Além disso, observou-se que solos com elevados teores de Mn afetaram negativamente a ocorrência da espécie *Claroideoglossum etunicatum*. Em conclusão, os dados fornecem informações sobre as espécies de FMA que compõem a microbiota de solos agrícolas e naturais de locais-referência no cultivo de morangueiro. Adicionalmente, os dados permitem levantar as hipóteses de que há maior diversidade de FMA em solos de mata nativa em relação aos solos cultivados e que solos com elevados teores de Mn afetam negativamente a ocorrência da espécie *C. etunicatum*.

Palavras-chave: 1. *Fragaria x ananassa* Duch. 2. Levantamento. 3. Micorrizosfera. 4. Ecossistema natural. 5. Ecossistema agrícola.

#### 3.2 Introdução

O solo, habitat de diversos microrganismos, é um sistema dinâmico importante para manter a estabilidade dos ecossistemas terrestres (DA SILVA et al., 2014; ÖPIK et al., 2013). Dentre as associações ecológicas ocorrentes no solo está a micorriza arbuscular, representada pelos fungos micorrízicos arbusculares (FMA). Como os FMA desempenham funções essenciais nos serviços ecossistêmicos (BARDGETT; VAN DER PUTTEN, 2014; GIANINAZZI et al., 2010;), torna-se cada vez mais importante gerar

dados sobre a identificação e estruturação de comunidades desses microrganismos para elucidar seu papel nos ecossistemas naturais e agrícolas (BENDER; WAGG; VAN DER HEIJDEN, 2016).

Apesar da importância dos FMA em escala global, a caracterização das comunidades desses microrganismos em algumas biogeocenoses ainda é fragmentária (CASTILLO et al., 2016; DUHAMEL; PEAY, 2015), como é o caso de ecossistemas rio-grandenses cultivados com morangueiro (*Fragaria x ananassa* Duch.). Na paisagem rio-grandense, apenas um levantamento de FMA foi desenvolvido em solos sob cultivo de morangueiro, por meio de culturas-armadilhas (PEDERSEN et al., 2017). No entanto, nenhuma pesquisa foi feita em locais-referência com aptidão agrícola para o cultivo dessa espécie e nem diretamente em solo rizosférico. A metodologia para caracterizar as comunidades de FMA é feita pela extração de esporos do solo e identificação com base em sua morfologia e ontogenia (ALGUACIL et al., 2016).

Devido aos benefícios dos FMA no contexto ecossistêmico (GÓMEZ-BELLOT et al., 2015; HASHEM et al., 2015; MANAUT et al., 2015), os levantamentos de comunidades micorrízicas arbusculares, baseados em esporos, são importantes para avaliar os impactos agrícolas na ocorrência e distribuição desses microrganismos (OVERBY et al., 2015; SÄLE et al., 2015) e conhecer as espécies fúngicas que compõem a microbiota de solos com aptidão para o cultivo de morangueiro. Além disso, os FMA são um grupo relevante de microrganismos de solo que podem potencializar a agricultura agroecológica (SENÉS-GUERRERO; SCHÜBLER, 2016). Dessa forma, visando o desenvolvimento e uso de inoculantes, a caracterização, identificação e seleção de espécies comuns ou comunidades de FMA dentro de um ecossistema ou região geográfica é um estudo promissor para tornar o sistema de cultivo do morangueiro sustentável.

Há evidências de que fatores abióticos (por exemplo propriedades edáficas) e bióticos (por exemplo tipo de fitocenose) influenciam a distribuição das espécies de Glomeromycota em escalas globais (CHAUDHARY et al., 2014; TURRINI; GIOVANNETTI, 2012). Se a composição taxonômica de FMA pode diferir entre

habitats, quais espécies de FMA compõem a microbiota de solos cultivados e de mata nativa de locais-referência no cultivo de morangueiro?

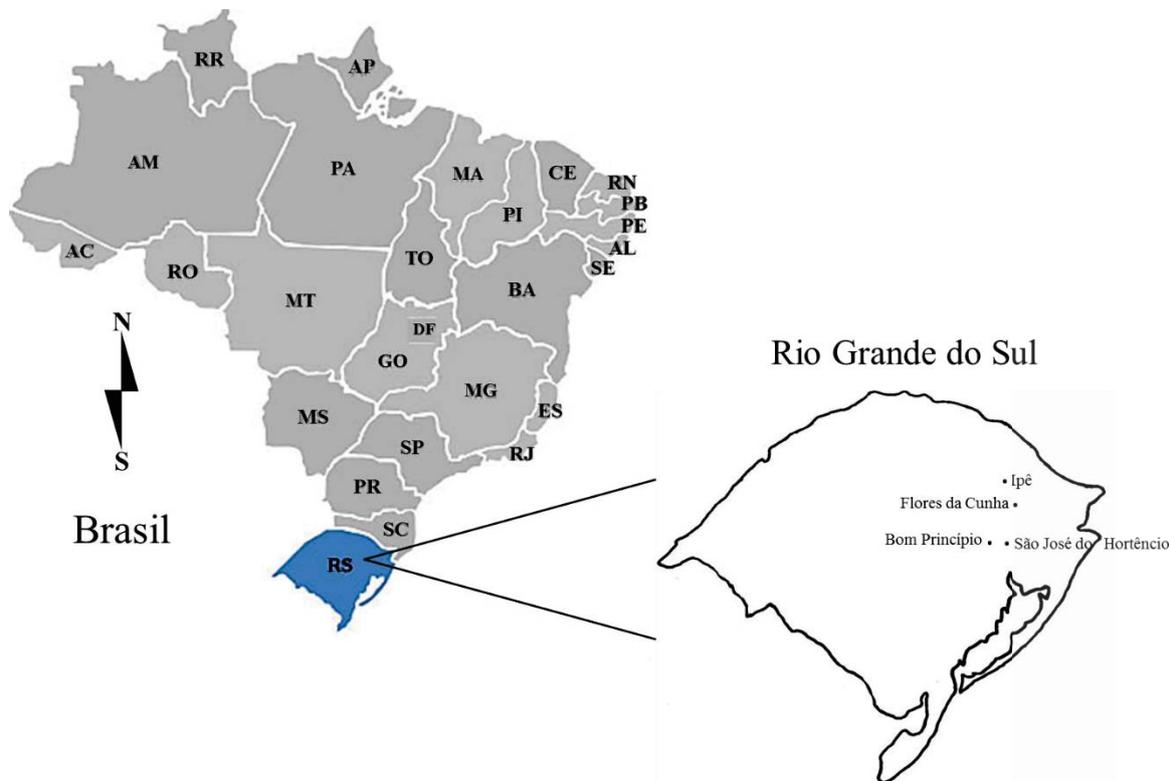
Portanto, o trabalho objetivou caracterizar solos cultivados e de mata nativa, de locais-referência no cultivo de morangueiro, quanto à comunidade de FMA. Esse estudo fornece uma visão da heterogeneidade espacial de FMA presentes na microbiota de solos naturais e agrícolas, para conhecer a estruturação comunitária desses microrganismos. Em adição, o estudo trata da dissimilaridade entre os solos coletados quanto aos atributos físicos e químicos e compara o efeito desses atributos entre os solos amostrados.

### **3.3 Material e Métodos**

#### **3.3.1 Identificação e amostragem dos solos**

As amostras dos solos foram coletadas em quatro diferentes locais com aptidão agrícola para o cultivo do morangueiro no estado do Rio Grande do Sul, Brasil (SPECHT; BLUME, 2011). Os locais selecionados (Figura 1) encontram-se na Região do Vale do Caí (municípios de Bom Princípio e São José do Hortêncio) e na Região da Serra (municípios de Flores da Cunha e Ipê). A caracterização biogeográfica e edafoclimática dos locais amostrados encontra-se na Tabela 1.

Figura 1 - Localização dos quatro municípios selecionados para coleta de solos no Rio Grande do Sul. Brasil - 2017



Fonte: Figura construída pelo autor, com base nas imagens disponíveis em “Dreamstime” e “MD Power”.

Tabela 1 - Características biogeográficas e edafoclimáticas dos quatro locais selecionados para coleta de solos no Rio Grande do Sul. Brasil - 2016

(Continua)

Caracterização	Locais <sup>1</sup>			
	BP	FC	IP	SH
Coordenadas geográficas	29° 29' 22" S 51° 21' 12" W	29° 01' 50" S 51° 11' 30" W	28° 49' 20" S 51° 16' 32" W	29° 29' 33" S 51° 12' 24" W
Altitude (m)	37,00	100,00	750,00	756,00
Bioma	Mata Atlântica	Mata Atlântica	Mata Atlântica	Mata Atlântica
Clima	Subtropical úmido do tipo Cfa	Oceânico do tipo Cfb	Oceânico do tipo Cfb	Subtropical úmido do tipo Cfa

Tabela 1 - Características biogeográficas e edafoclimáticas dos quatro locais selecionados para coleta de solos no Rio Grande do Sul, Brasil - 2016

(Conclusão)

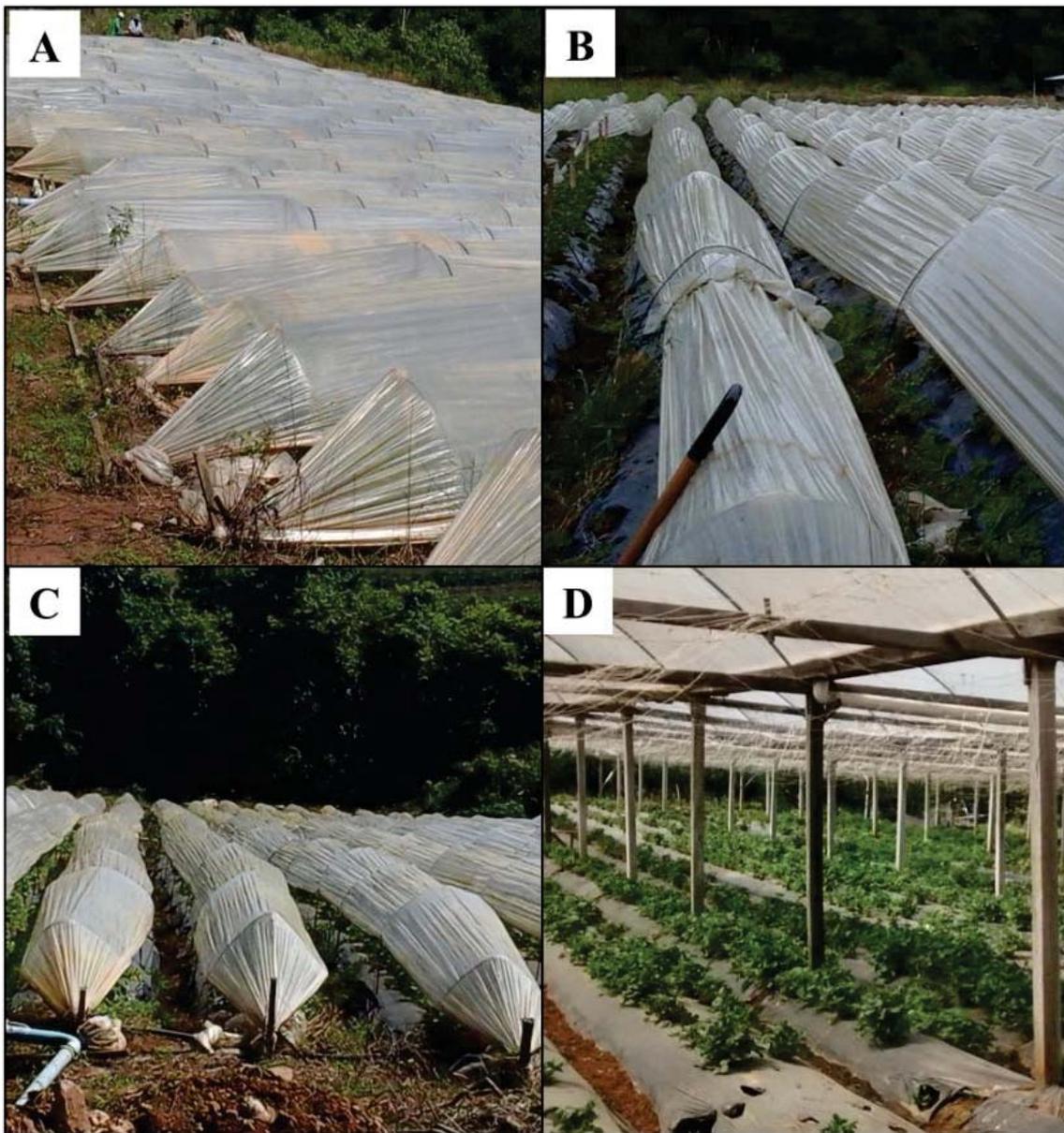
Caracterização	Locais <sup>1</sup>			
	BP	FC	IP	SH
Tipo de solo <sup>2</sup>	Chernossolo Háplico órtico	Cambissolo Húmico alumínico	Neossolo Regolítico distrófico	Argissolo Vermelho-Amarelo eutróficos
Precipitação (mm) <sup>3</sup>	223,50	247,60	226,50	221,50
Temperatura (°C) <sup>3</sup>	22,10	20,00	20,00	22,50
Umidade (%) <sup>3</sup>	62,00	61,20	60,90	62,00

Fonte: Dados referentes à altitude e ao clima foram disponibilizados pela Emater. Dados de precipitação, temperatura e umidade foram obtidos da empresa Somar Meteorologia.

<sup>1</sup>BP: Bom Princípio; FC: Flores da Cunha; IP: Ipê; SH: São José do Hortêncio. <sup>2</sup>Classificação de acordo com a proposta por Santos et al. (2013, p. 117-226). <sup>3</sup>Médias referentes ao mês de coleta dos solos (abril de 2016).

Em cada local foram amostrados solos sob cultivo do morangueiro (SC) (Figura 2) e solos de mata nativa (MN) (Figura 3). As coletas dos solos foram realizadas na primeira quinzena de abril (outono) de 2016. As informações sobre o sistema de cultivo do morangueiro, em cada local estudado, encontram-se na Tabela 2.

Figura 2 - Agroecossistemas sob cultivo do morangueiro no Rio Grande do Sul. A) Bom Princípio; B) Flores da Cunha; C) Ipê; D) São José do Hortêncio. Brasil - 2016



Fonte: Imagens do autor.

Figura 3 - Ecossistemas com mata nativa no Rio Grande do Sul. A) Bom Princípio; B) Flores da Cunha; C) Ipê; D) São José do Hortêncio. Brasil - 2016

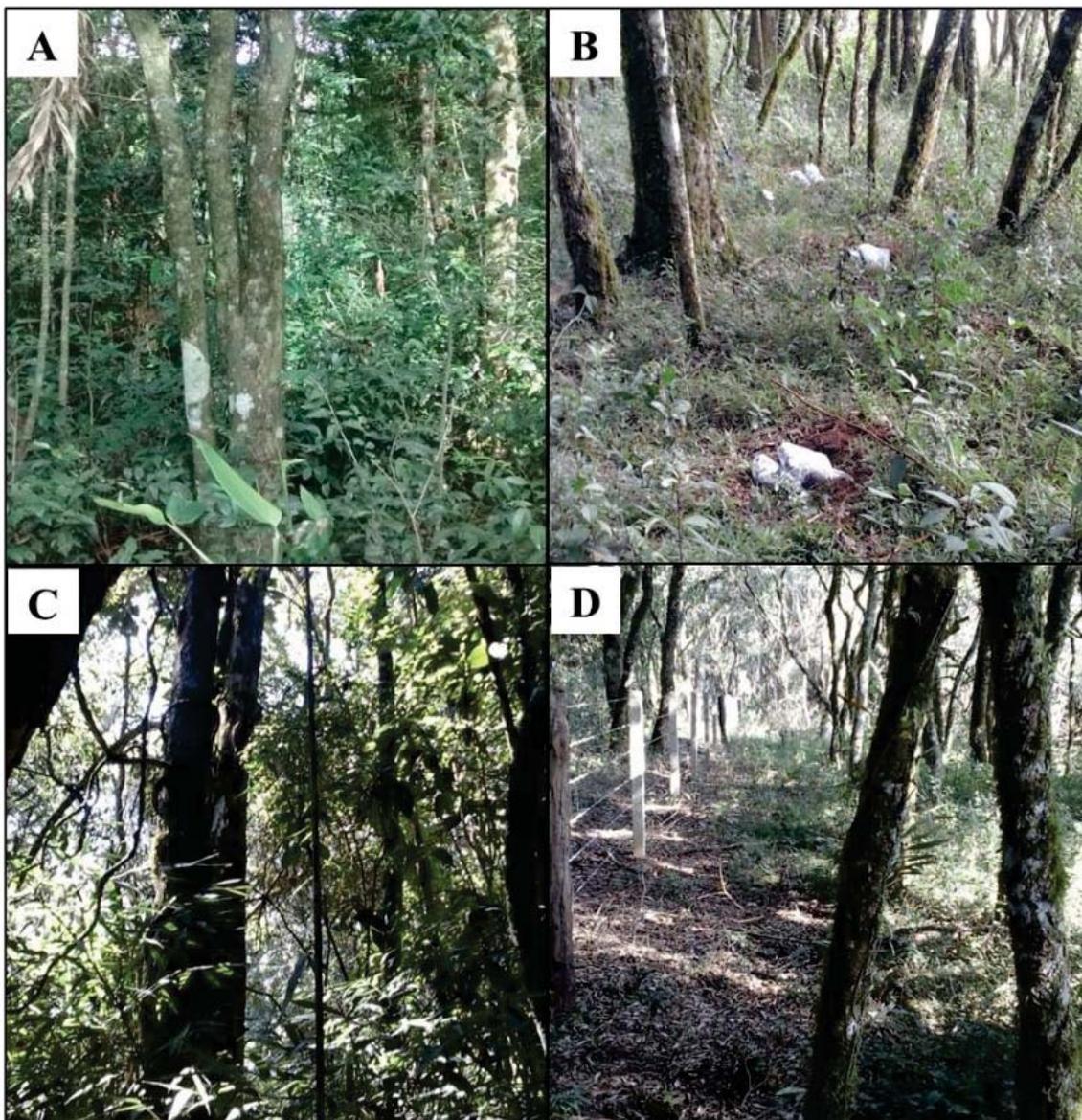


Tabela 2 - Caracterização do sistema de cultivo do morangueiro dos quatro locais selecionados para coleta de solos no Rio Grande do Sul. Brasil - 2016

Caracterização	Locais <sup>1</sup>			
	BP	FC	IP	SH
Tempo de cultivo	Seis anos	Sete anos	Quatro anos	Oito anos
Local de cultivo	Túnel baixo	Túnel baixo	Túnel baixo	Estufa agrícola
Cobertura do solo	Mulching	Mulching	Mulching	Mulching
Cultivares plantadas	Festival e Oso Grande	Albion	San Andreas	Aromas e San Andreas
Origem das cultivares	Minas Gerais e São Paulo	Chile	Argentina	Argentina
Plantio	Março/abril	Maio/junho	Junho	Maiο/junho
Colheita	Final de maio	Outubro	Outubro	Outubro
Rotação/sucessão de cultura	Milho e tomate	-	Cebola	Alface, pepino, rúcula e tomate
Fungicidas <sup>2</sup>	Azoxistrobina + difenoconazol	Difenoconazol e procimidona	Azoxistrobina e iprodiona	Tiofanato-metilico
Inseticidas <sup>2</sup>	Abamectina	Tiametoxam	Abamectina e lambda-cialotrina	Abamectina e tiametoxam

Fonte: Dados do autor.

<sup>1</sup>BP: Bom Princípio; FC: Flores da Cunha; IP: Ipê; SH: São José do Hortêncio. <sup>2</sup>Ingredientes ativos.

Em cada local foram coletadas, aleatoriamente, três amostras de solo rizosférico sob cultivo do morangueiro e três amostras de solo de mata nativa, totalizando 24 amostras. Cada amostra foi composta por quatro subamostras. A coleta foi realizada com pá-de-corte, na profundidade de 0 a 10 cm. Todas as amostras foram acondicionadas em embalagens plásticas e destinadas a análises biológicas, físicas e químicas. Os experimentos foram desenvolvidos no subtropico brasileiro, no município de Passo Fundo/RS (28° 15' 46" S, 52° 24' 24" W), de abril (outono) a novembro (primavera) de 2016.

### **3.3.2 Tratamentos e delineamento**

Foram realizados dois experimentos (experimento I: heterogeneidade espacial de FMA; experimento II: dissimilaridade física e química dos solos amostrados). Em ambos os experimentos os tratamentos foram os oito solos (quatro locais e dois usos do solo), dispostos no delineamento inteiramente casualizado. No experimento I, para avaliação da heterogeneidade espacial de FMA, em cada solo estudado foram consideradas nove amostras. O experimento II foi constituído de três repetições.

### **3.3.3 Procedimentos**

#### **3.3.3.1 Heterogeneidade espacial de FMA**

No experimento I, as amostras de solo foram secas em temperatura ambiente e após conservadas sob refrigeração (2 a 4 °C), acondicionadas em embalagens plásticas, até a realização das avaliações, que iniciaram em julho (inverno) de 2016 e finalizaram em novembro do mesmo ano. Para verificar a heterogeneidade espacial de FMA realizou-se a extração dos esporos em 50 g de solo por meio do método de peneiramento úmido (GERDEMANN; NICOLSON, 1963) e centrifugação em sacarose (JENKINS, 1964).

Posterior à extração, os esporos foram agrupados por morfotipos (cor, formato e tamanho), em microscópio estereoscópio, e colocados em lâminas com álcool polivinílico-lactoglicerol (PVLG) e Melzer, conforme Morton (1988). A identificação das espécies foi realizada em microscópio óptico, com base nas características morfológicas dos esporos de acordo com Schenck e Pérez (1990), Blaszkowski (2012) e pelas descrições obtidas no banco de dados da International Culture Collection of (Vesicular) Arbuscular Mycorrhizal Fungi (INVAM, 2017). A classificação taxonômica usada foi a proposta por Redecker et al. (2013).

Para recuperar espécies que não estavam esporulando no momento da coleta dos solos, estabeleceram-se culturas-armadilhas em casa de vegetação (STUTZ; MORTON, 1996), em abril, as quais permaneceram sob cultivo por um período de cinco meses,

usando como hospedeiros o morangueiro e o sorgo (*Sorghum bicolor* (L.) Moench). Os vasos de 3,6 L contendo os hospedeiros foram preenchidos com areia esterilizada + solo-inóculo e mantidos em bancadas metálicas, a 1,2 m em relação à superfície do solo, em uma estufa agrícola de 90 m<sup>2</sup>, com teto semicircular, instalada no sentido nordeste-sudeste. A estrutura de aço galvanizado estava coberta com filme de polietileno de baixa densidade, com aditivo antiultravioleta e com espessura de 150 micra, e as laterais estavam cobertas com tela antiafideos. A irrigação usada foi com aspersores, no sistema mecanizado, com vazão de 2 L/min por unidade. Durante a execução do experimento, por meio de uma miniestação meteorológica, monitorou-se a radiação fotossinteticamente ativa e a temperatura média do ar no interior da estufa, cujos valores médios foram de 61,34  $\mu\text{mol m}^2/\text{s}$  e 15 °C, respectivamente. Após os cinco meses, foi coletada uma amostra de 50 g da cultura-armadilha para extração e identificação dos esporos, seguindo a metodologia citada anteriormente.

### **3.3.3.2 Dissimilaridade física e química dos solos amostrados**

No experimento II, uma amostra de 500 g de cada solo foi usada para obter suas propriedades físicas e químicas. Os atributos pH H<sub>2</sub>O, índice SMP, P, K, MO, Al, Ca, Mg, Zn, Cu e Mn foram determinados conforme Tedesco et al. (1995, p. 17-36) e o atributo H+Al foi determinado conforme Vettori (1969, p. 14). A determinação de argila, silte e areia foi realizada pelo método do hidrômetro (KLEIN, 2014, p. 19-23).

### **3.3.4 Análise de dados**

Os dados obtidos referentes à heterogeneidade espacial de FMA (experimento I) foram submetidos à análise multivariada, com auxílio do programa Genes<sup>®</sup> (CRUZ, 2016). A presença/ausência de FMA nos solos amostrados foi submetida à dissimilaridade multicategórica binária qualitativa, pelo índice de complemento aritmético da coincidência simples, com posterior agrupamento dos solos quanto às espécies de FMA pelo método Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean (UPGMA). Após a obtenção do dendrograma, o mesmo foi cortado usando como critério

40% de dissimilaridade e o agrupamento foi validado por meio do coeficiente de correlação cofenética (CCC).

Os dados obtidos referentes à dissimilaridade física e química dos solos (experimento II) foram submetidos às análises multivariada e de variância, com auxílio do programa Genes<sup>®</sup> (CRUZ, 2016). Para verificar a dissimilaridade entre os solos, usou-se a distância de Mahalanobis ( $D^2$ ) e, por meio dela, obteve-se a contribuição relativa das propriedades físicas e químicas para divergência entre solos, conforme Singh (1981). Para a análise de agrupamento dos solos quanto à caracterização física e química, usaram-se os métodos de UPGMA (com base na matriz da  $D^2$ ) e de otimização de Tocher. Após a obtenção do dendrograma pelo UPGMA, o mesmo foi cortado usando como critério 40% de dissimilaridade e o agrupamento foi validado por meio do CCC. Além disso, para comparar o efeito dos atributos físicos e químicos entre os solos amostrados, os dados foram submetidos à análise de variância e as médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade de erro.

### **3.4 Resultados**

#### **3.4.1 Heterogeneidade espacial de FMA**

Foram identificadas 42 espécies de FMA em solos de locais-referência no cultivo de morangueiro, compreendidas em cinco famílias de Glomeromycota (Tabela 3 e Figura 4). Dessas, 19 espécies não puderam ser identificadas ao nível de espécie e, portanto, foram identificadas ao nível de gênero. Do total de espécies identificadas, 36% pertencem à família Acaulosporaceae, 2% à Ambisporaceae, 7% à Claroideoglomeraceae, 26% à Gigasporaceae e 29% à Glomeraceae. Observou-se que o fungo *Claroideoglomus etunicatum* esteve presente em todos os solos, com exceção da amostra coletada em Flores da Cunha em solo cultivado (Tabela 3).

Quinze espécies foram recuperadas por meio de culturas-armadilhas, usando como hospedeiros o morangueiro e o sorgo. Dessas espécies, 53% foram recuperadas no cultivo do sorgo e 47% recuperadas no cultivo do morangueiro (Tabela 4).

Tabela 3 - Espécies de FMA identificadas de locais-referência no cultivo de morangueiro no Rio Grande do Sul. Passo Fundo - 2016/2017

(Continua)

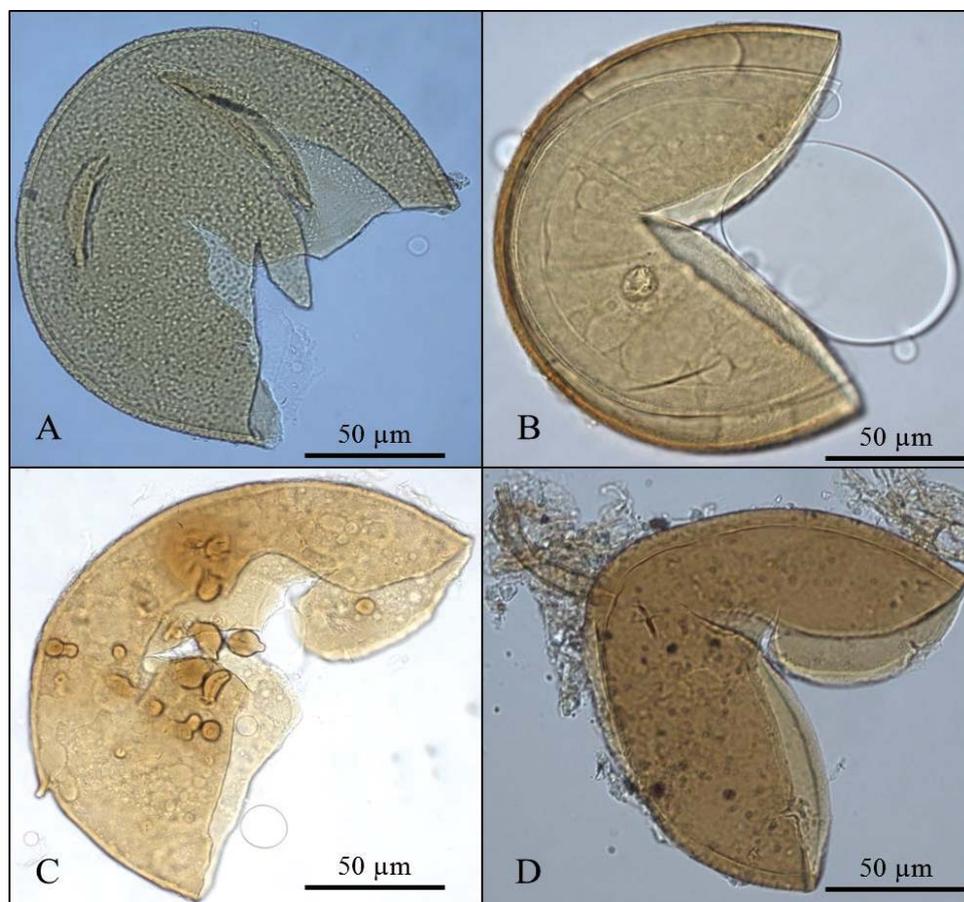
Família Espécie <sup>1</sup>	Locais <sup>2</sup>											
	BP	FC	IP	SH	BP	FC	IP	SH	BP	FC	IP	SH
	SC	SC	SC	SC	MN							
<b>Acaulosporaceae</b>												
<i>Acaulospora</i> aff. <i>lacunosa</i>	- <sup>3</sup>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Acaulospora</i> aff. <i>scrobiculata</i>	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-
<i>Acaulospora colossica</i> P. A. Schultz, Bever & J.B. Morton	-	-	+	-	+	+	-	-	+	+	+	-
<i>Acaulospora foveata</i> Trappe & Janos	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Acaulospora koskei</i> Blaszk.	+	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-
<i>Acaulospora lacunosa</i> J.B. Morton	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-
<i>Acaulospora mellea</i> Spain & Schenck	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+
<i>Acaulospora rehmsii</i> Sieverding & Toro	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Acaulospora scrobiculata</i> Trappe	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-
<i>Acaulospora</i> sp.	-	-	+	-	+	-	-	-	+	-	-	-
<i>Acaulospora</i> sp. ( <i>colossica</i> like M+)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
<i>Acaulospora</i> sp1 ( <i>E. infrequens</i> like)	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-
<i>Acaulospora</i> sp2 ( <i>excavata</i> like)	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	+
<i>Acaulospora spinosa</i> Walker & Trappe	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
<i>Acaulospora tuberculata</i> Janos & Trappe	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
<b>Ambisporaceae</b>												
<i>Ambispora leptoticha</i> (N.C. Schenck & G.S. Sm.) R.J. Bills & J.B. Morton	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-
<b>Claroideoglomeraceae</b>												
<i>Claroideoglomerus</i> aff. <i>luteum</i>	+	-	-	+	+	-	-	+	+	+	+	+
<i>Claroideoglomerus claroideum</i> (N.C. Schenck & G.S. Sm.) C. Walker & A. Schüßler	+	+	-	+	+	+	-	+	+	-	-	+
<i>Claroideoglomerus etunicatum</i> (W.N. Becker & Gerd.) C. Walker & A. Schüßler	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+
<b>Gigasporaceae</b>												
<i>Cetraspora pellucida</i> (T.H. Nicolson & N.C. Schenck) Oehl, F.A. Souza & Sieverd.	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Dentiscutata biomnata</i> (Spain, Sieverd. & S. Toro) Sieverd., F.A. Souza & Oehl	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
<i>Dentiscutata erythropha</i> (Koske & C. Walker)	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-
<i>Dentiscutata heterogama</i> (T. H Nicolson & Gerd.) Sieverd., F.A. Souza & Oehl	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-

Tabela 3 - Espécies de FMA identificadas de locais-referência no cultivo de morangueiro no Rio Grande do Sul. Passo Fundo - 2016/2017

Família Espécie <sup>1</sup>	Locais <sup>2</sup>												(Conclusão)
	BP	FC	IP	SH	BP	FC	IP	SH	BP	FC	IP	SH	
	SC	SC	SC	SC	MN								
<i>Dentiscutata rubra</i> (Stürmer & J.B. Morton)	- <sup>3</sup>	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
<i>Dentiscutata savannicola</i> (R.A. Herrera & Ferrer)	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	
<i>Gigaspora</i> sp.	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	
<i>Racocetra</i> sp.	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	
<i>Racocetra verrucosa</i> (Koske & C. Walker) Oehl, F.A. Souza & Sieverd	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	
<i>Scutellospora calospora</i> (Nicol. & Gerd.) C. Walker & F.E. Sanders	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	
<i>Scutellospora</i> sp1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	
<b>Glomeraceae</b>													
<i>Glomus</i> aff. <i>caledonium</i>	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
<i>Glomus</i> aff. <i>heterosporum</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	
<i>Glomus</i> aff. <i>manihotis</i>	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	
<i>Glomus</i> aff. <i>versiforme</i>	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	
<i>Glomus microaggregatum</i> Koske, Gemma & Oleixa	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	
<i>Glomus</i> sp. ( <i>caesaris</i> like)	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	
<i>Glomus</i> sp1	-	-	+	-	-	+	-	-	-	+	-	+	
<i>Glomus</i> sp2	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	
<i>Funneliformis</i> aff. <i>geosporum</i>	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	
<i>Funneliformis</i> aff. <i>mosseae</i>	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	
<i>Funneliformis geosporum</i> (T.H. Nicolson & Gerd.) C. Walker & A. Schüßler	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	
<i>Funneliformis mosseae</i> (T.H. Nicolson & Gerd.) C. Walker & A. Schüßler	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
<b>TOTAL</b>	<b>8</b>	<b>6</b>	<b>14</b>	<b>10</b>	<b>14</b>	<b>11</b>	<b>15</b>	<b>15</b>	<b>12</b>	<b>12</b>	<b>12</b>	<b>12</b>	

<sup>1</sup>Classificação de Glomeromycota por Redecker et al. (2013). <sup>2</sup>BP: Bom Princípio; FC: Flores da Cunha; IP: Ipê; SH: São José do Hortêncio; SC: solo cultivado; MN: solo de mata nativa. <sup>3</sup>Ausência (-) ou presença (+) de espécies de FMA.

Figura 4 - Esporos de FMA referentes às espécies *Acaulospora lacunosa* (A), *A. mellea* (B), *Glomus* sp1 (C) e *Glomus* sp2 (D). Passo Fundo - 2016



Fonte: Sidney Luiz Stürmer.

Tabela 4 - Espécies de FMA recuperadas dos solos amostrados, por meio de culturas-armadilhas. Passo Fundo - 2016/2017

(Continua)

Locais <sup>1</sup>	Espécies	Hospedeiros
BP SC	<i>A. rehmi</i>	Morangueiro
	<i>Glomus</i> sp. ( <i>caesaris</i> like)	Sorgo
BP MN	<i>Claroideoglomus</i> aff. <i>luteum</i>	Sorgo
	<i>C. claroideum</i>	Sorgo
FC SC	<i>Funneliformis</i> aff. <i>geosporum</i>	Morangueiro
FC MN	<i>A. colossica</i>	Morangueiro
	<i>Glomus</i> aff. <i>versiforme</i>	Sorgo

Tabela 4 - Espécies de FMA recuperadas dos solos amostrados, por meio de culturas-armadilhas. Passo Fundo - 2016/2017

(Conclusão)

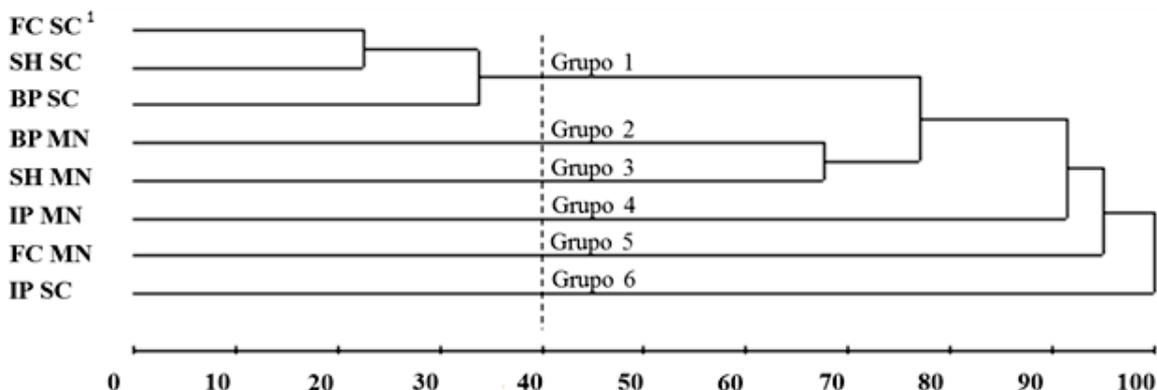
Locais <sup>1</sup>	Espécies	Hospedeiros
IP SC	<i>Glomus</i> aff. <i>manihotis</i>	Sorgo
IP MN	<i>F. mosseae</i>	Morangueiro
SH SC	<i>Funneliformis</i> aff. <i>geosporum</i>	Morangueiro
	<i>Glomus</i> sp. ( <i>caesaris</i> like)	Morangueiro
SH MN	<i>Acaulospora</i> sp2 ( <i>excavata</i> like)	Sorgo
	<i>C. claroideum</i>	Sorgo
	<i>Glomus</i> aff. <i>heterosporum</i>	Morangueiro
	<i>Glomus</i> sp1	Sorgo

<sup>1</sup>BP: Bom Princípio; FC: Flores da Cunha; IP: Ipê; SH: São José do Hortêncio; SC: solo cultivado; MN: solo de mata nativa.

Por meio da análise multivariada, observou-se que houve heterogeneidade espacial de FMA nos solos amostrados. A heterogeneidade foi acessada pela matriz de coeficientes de dissimilaridade e variou de 0,0952 (FC SC x SH SC) a 0,4524 (FC MN x BP MN e IP SC x FC MN). Essa dissimilaridade foi ilustrada pelo dendrograma gerado pelo método de UPGMA (Figura 5), cujo ajuste à matriz de distância dos dados multicategóricos binários, calculado pelo coeficiente de correlação cofenética, foi de 93%, indicando adequação do modelo. Assim, houve a formação de seis grupos (Figura 5), evidenciando a elevada dissimilaridade entre os solos quanto às espécies de FMA.

O grupo 1 reuniu três solos cultivados com morangueiro, coletados em Flores da Cunha, São José do Hortêncio e Bom Princípio. Esse grupo apresentou 81% de coincidência quanto à presença (quatro espécies) e ausência (30 espécies) das 42 espécies de FMA identificadas (Tabela 3). As espécies em comum nos três solos foram: *C. claroideum*, *C. etunicatum*, *Glomus* aff. *versiforme* e *Glomus* sp. (*caesaris* like) (Tabela 3). Não houve similaridade para os demais grupos formados. Desses, quatro grupos foram formados por solos de mata nativa e apenas um por solo cultivado (IP SC) (Figura 5).

Figura 5 - Agrupamento dos solos em relação à ocorrência de FMA pelo método de ligação média entre grupos (UPGMA). Passo Fundo - 2017



Fonte: Dados do autor.

¹BP: Bom Princípio; FC: Flores da Cunha; IP: Ipê; SH: São José do Hortêncio; SC: solo cultivado; MN: solo de mata nativa.

### 3.4.2 Dissimilaridade física e química dos solos amostrados

Pela distância de Mahalanobis ( $D^2$ ), observou-se dissimilaridade física e química dos solos amostrados. Os solos mais dissimilares foram IP MN e SH MN ( $D^2 = 35.322,51$ ) e os solos mais similares foram BP MN e FC MN ( $D^2 = 425,50$ ). Os atributos que mais contribuíram para divergência, em ordem decrescente de importância, foram H+Al, MO e P, que juntos explicaram 84% da variabilidade entre os solos (Figura 6).

De acordo com suas características físicas e químicas, três grupos de solos foram gerados pelo método de UPGMA, com base na matriz de distância de Mahalanobis, e pelo método de otimização de Tocher. Com base na matriz da distância de Mahalanobis, a dissimilaridade foi ilustrada por dendrograma gerado pelo método de UPGMA (Figura 7), cujo ajuste, calculado pelo coeficiente de correlação cofenética, foi de 70%, indicando adequação do modelo.

Figura 6 - Contribuição relativa das propriedades físicas e químicas para dissimilaridade entre solos. Passo Fundo - 2017

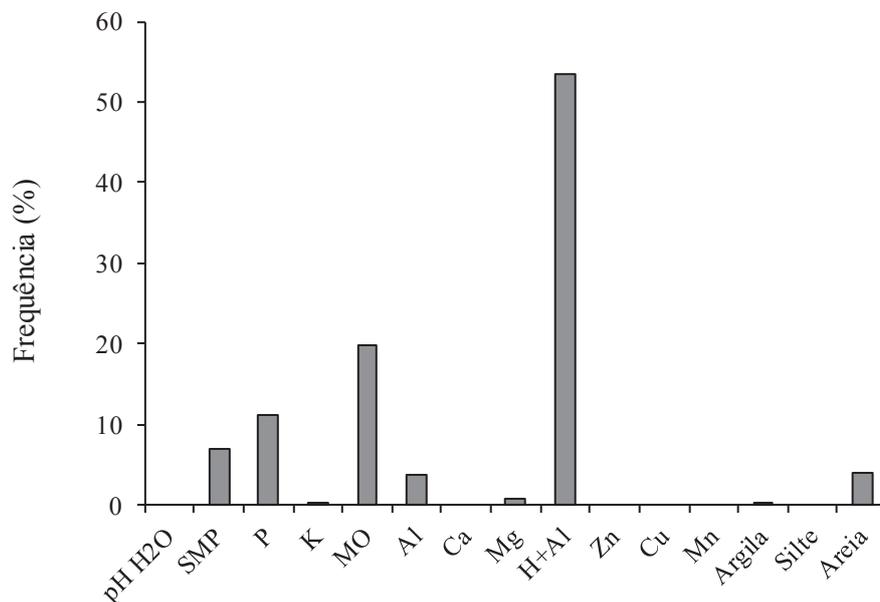
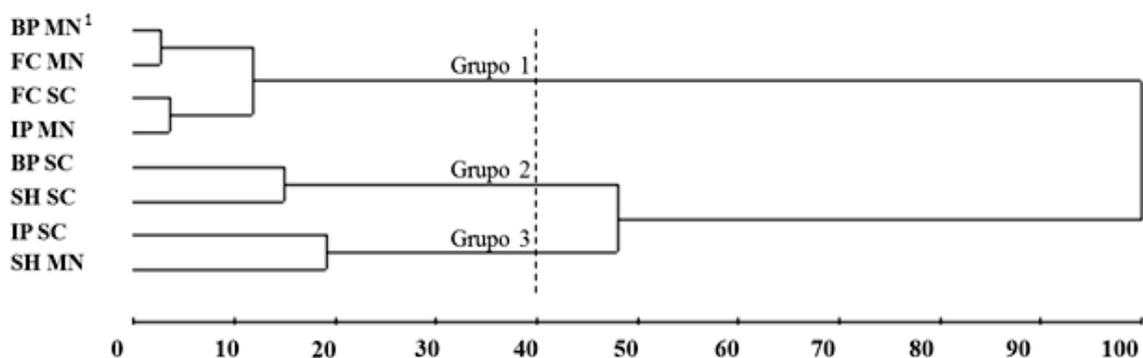


Figura 7 - Agrupamento dos solos em relação a sua caracterização física e química pelo método de ligação média entre grupos (UPGMA). Passo Fundo - 2017



<sup>1</sup>BP: Bom Princípio; FC: Flores da Cunha; IP: Ipê; SH: São José do Hortêncio; SC: solo cultivado; MN: solo de mata nativa.

Considerando os atributos que tiveram maior contribuição para dissimilaridade entre os solos, os teores de H+Al e de MO foram 87% e 64% maiores no grupo 1 em relação ao grupo 2, respectivamente, e o teor de P foi 96% maior no grupo 2 em relação ao grupo 3 (Tabela 5).

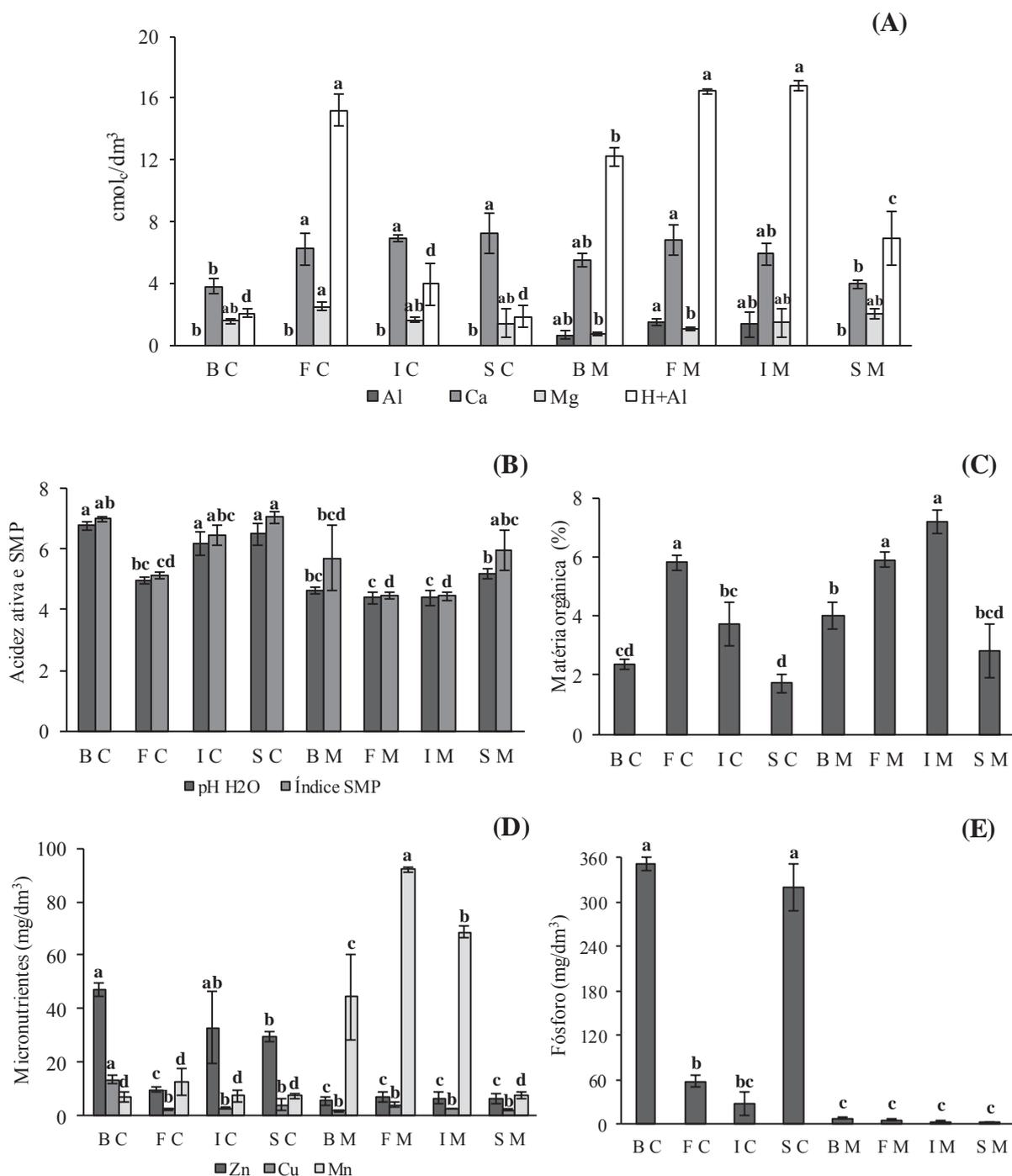
Tabela 5 - Caracterização física e química dos grupos de solos formados pelos métodos de UPGMA e de otimização de Tocher. Passo Fundo - 2017

Atributo	Grupo 1 <sup>1</sup>	Grupo 2	Grupo 3
pH H <sub>2</sub> O	4,60 <sup>2</sup>	6,64	5,69
Índice SMP	4,94	7,03	6,20
P (mg/dm <sup>3</sup> )	18,58	335,08	14,23
K (mg/dm <sup>3</sup> )	91,42	275,83	114,50
MO (%)	5,73	2,05	3,28
Al (cmol <sub>c</sub> /dm <sup>3</sup> )	0,88	0,00	0,00
Ca (cmol <sub>c</sub> /dm <sup>3</sup> )	6,12	5,50	5,44
Mg (cmol <sub>c</sub> /dm <sup>3</sup> )	1,43	1,48	1,84
H+Al (cmol <sub>c</sub> /dm <sup>3</sup> )	15,16	1,95	5,43
Zn (mg/dm <sup>3</sup> )	7,37	38,24	19,82
Cu (mg/dm <sup>3</sup> )	2,85	13,69	2,70
Mn (mg/dm <sup>3</sup> )	54,48	7,42	7,57
Argila (%)	44,17	18,00	55,83
Silte (%)	22,92	14,00	25,50
Areia (%)	32,92	68,00	23,33

<sup>1</sup>Grupo 1: BP MN, FC MN, FC SC e IP MN. Grupo 2: BP SC e SH SC. Grupo 3: IP SC e SH MN. <sup>2</sup>Média dos atributos por grupo de solos formado.

As amostras dos solos apresentaram características químicas distintas, principalmente para os atributos H+Al, MO, Mn e P (Figura 8). De modo geral, os solos cultivados apresentaram acidez ativa 24% maior (Figura 8 B) e teores de P superiores em 97% (Figura 8 E) quanto aos solos naturais. Porém, os solos de mata nativa tiveram teores de Mn 83% maiores em relação aos solos cultivados (Figura 8 D).

Figura 8 - Propriedades químicas dos solos coletados de locais-referência no cultivo de morangueiro (1). A) alumínio, cálcio, magnésio e acidez potencial; B) acidez ativa e índice SMP; C) matéria orgânica; D) micronutrientes; E) fósforo. Passo Fundo - 2017



Nota: Letras distintas sobre as colunas indicam diferença pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ).

(1) B: Bom Princípio; F: Flores da Cunha; I: Ipê; S: São José do Hortêncio; C: solo cultivado; M: solo de mata nativa.

### 3.5 Discussão

O Brasil está entre os quatro países que mais contribuíram com a descrição de espécies de FMA nos últimos cinco anos (ÖPIK; DAVISON, 2016) e representa 50% da diversidade mundial desses microrganismos (GOMIDE et al., 2014). Nesse estudo 19 espécies foram identificadas apenas em nível de gênero (Tabela 3), o que pode sinalizar a ocorrência de novas espécies para a micorrizologia (COSTA et al., 2016). No entanto, a composição de comunidades de FMA em solos cultivados com morangueiro no subtropical brasileiro é pouco conhecida, com apenas uma pesquisa realizada, por meio de culturas-armadilhas (PEDERSEN et al., 2017), que identificou 13 espécies de FMA, das quais seis não foram detectadas neste trabalho (*A. morrowiae*, *Glomus* sp3, *Glomus* sp4, *Paraglomus brasilianum*, *Rhizophagus intraradices* e *Septoglomus viscosum*). Ressalta-se que a dominância de um ou mais gêneros de FMA em ecossistemas resulta da interação de fatores edafoclimáticos, da capacidade de dispersão dos fungos e da compatibilidade genética entre fungos e plantas que ocorrem no local, o que pode contribuir para o desenvolvimento ou extinção de algumas espécies (ZANGARO; MOREIRA, 2010, p. 279-310). Como as culturas-armadilhas não reproduzem bem as condições *in situ* nas quais os esporos se desenvolvem (DA SILVA et al., 2014), o uso dessa técnica pode ser ineficiente para verificar a estruturação de comunidades de FMA. Salienta-se que os estudos sobre a ocorrência e diversidade de FMA são feitos, tradicionalmente, por extração de esporos do solo e identificação com base em seus morfotipos (ALGUACIL et al., 2016; OEHL et al., 2010).

Esse estudo forneceu informações sobre as espécies de FMA que compõem a microbiota de solos agrícolas e naturais de locais-referência no cultivo de morangueiro. A micorrizosfera desses solos foi constituída por 42 espécies desses microrganismos, pertencentes às famílias Acaulosporaceae, Ambisporaceae, Claroideoglomeraceae, Gigasporaceae e Glomeraceae. Além disso, descobriu-se que a quantidade de espécies de FMA mostrou-se similar nos ecossistemas natural e agrícola no município de Ipê (Tabela 3) e observou-se que, quanto à ocorrência de FMA, o solo cultivado desse município não se agrupou aos demais solos cultivados (Figura 5). Assim, sugere-se que solos agrícolas

cultivados com morangueiro por menos tempo (quatro anos, por exemplo), assemelharam-se aos solos naturais quanto à heterogeneidade espacial de FMA.

Estudos evidenciaram que distúrbios antropogênicos, como a produção de culturas arvenses e sistemas de uso de solos, podem influenciar a dinâmica populacional de FMA (HERRMANN et al., 2016; MOORA et al., 2014; ÖPIK; DAVISON, 2016). Porém, como o ecossistema de Ipê foi antropizado há quatro anos e os demais foram modificados há mais tempo (Tabela 2), a influência da antropização na composição da comunidade de FMA foi mínima no solo cultivado de Ipê. Isso sugere que as comunidades de FMA têm maior variabilidade de espécies em sistemas agrícolas consolidados do que em sistemas cultivados há pouco tempo.

Com base na identificação de FMA, observou-se que a espécie *C. etunicatum* ausentou-se apenas no solo natural de Flores da Cunha (Tabela 3), o qual diferenciou-se dos demais solos, em particular, pelo maior teor de Mn (Figura 8 D). Pouco se sabe sobre a influência do Mn na abundância, diversidade e composição de comunidades de FMA (ALGUACIL et al., 2016), em especial sobre *C. etunicatum*. No entanto, estudos relataram que a diversidade e estrutura de comunidades desses microrganismos foi afetada negativamente pela concentração de Mn no solo (WEI et al., 2014; XU et al., 2017). Assim, de acordo com os resultados, supõe-se que o Mn atua como um filtro ambiental para a espécie *C. etunicatum*.

Sem dúvida, a caracterização de comunidades de FMA em algumas biogeocenoses ainda é fragmentária (CASTILLO et al., 2016; DUHAMEL; PEAY, 2015) e carece de pesquisas mais robustas (ÖPIK; DAVISON, 2016). Assim, evidenciou-se nesse trabalho o primeiro levantamento de FMA na micorrizosfera de solos de locais-referência no cultivo de morangueiro no subtropical brasileiro. Os solos de ecossistemas naturais e agrícolas caracterizados neste estudo mostraram-se ambientes espacialmente heterogêneos quanto à ocorrência de FMA e revelaram-se um repositório importante para a diversidades desses microrganismos.

Os resultados obtidos podem contribuir para compreender a composição das comunidades desses microrganismos em solos da paisagem rio-grandense, com aptidão agrícola para o cultivo de morangueiro. Com esse conhecimento, torna-se possível o desenvolvimento de inoculantes para essa cultura hortícola, com o papel de tornar seu cultivo mais sustentável.

### **3.6 Conclusões**

Em conclusão, os dados fornecem informações sobre as espécies de FMA que compõem a microbiota de solos agrícolas e naturais de locais-referência no cultivo de morangueiro. A micorrizosfera desses solos é constituída por 42 espécies desses microrganismos, pertencentes às famílias Acaulosporaceae, Ambisporaceae, Claroideoglomeraceae, Gigasporaceae e Glomeraceae. Em adição, constata-se que solos agrícolas pouco antropizados assemelham-se aos solos naturais quanto à heterogeneidade espacial de FMA. Além disso, os dados permitem levantar as hipóteses de que há maior diversidade de FMA em solos de mata nativa em relação aos solos cultivados e que solos com elevados teores de Mn afetam negativamente a ocorrência da espécie *C. etunicatum*.

## 4 CAPÍTULO II

Diversidade de fungos micorrízicos arbusculares sinaliza espécies generalistas na micorrizosfera de solos de locais-referência no cultivo de morangueiro

### 4.1 Resumo

Os fungos micorrízicos arbusculares (FMA) são microrganismos importantes na manutenção do ecossistema por sustentar a estabilidade ambiental. Assim, é necessário compreender os fatores que moldam as comunidades micorrízicas. Entretanto, a diversidade FMA na micorrizosfera de solos com aptidão agrícola para o cultivo de morangueiro, no subtropico brasileiro, é desconhecida. Por isso, o trabalho objetivou verificar se há variabilidade quanto à diversidade e potencial de inóculo de comunidades de FMA em solos cultivados e de mata nativa de locais-referência no cultivo de morangueiro. Assim, foram realizados dois experimentos: no experimento I (diversidade de FMA) os tratamentos foram oito solos, delineados inteiramente ao acaso, com nove amostras por tratamento; no experimento II (potencial de inóculo micorrízico) os tratamentos foram os oito solos e uma testemunha (*Rhizophagus clarus*), delineados inteiramente ao acaso, com três repetições. Os resultados mostraram que solos de mata nativa apresentaram maior quantidade de espécies de FMA em relação aos solos cultivados. As espécies *Claroideoglomus* aff. *luteum*, *C. claroideum*, *C. etunicatum*, *Funneliformis mosseae* e *Glomus* sp2 foram as mais frequentes nos locais estudados. Em conclusão, os dados evidenciam diversidade de FMA em solos de locais-referência no cultivo de morangueiro e que as espécies *C. claroideum* e *C. etunicatum* aparecem com dominância, independente do ecossistema.

Palavras-chave: 1. *Fragaria x ananassa* Duch. 2. Riqueza micorrízica. 3. Dominância. 4. Ecossistemas naturais. 5. Ecossistemas agrícolas.

### 4.2 Introdução

Considerados os principais componentes de um sistema solo-planta sustentável (MOLLAVALI et al., 2015), os fungos micorrízicos arbusculares (FMA) são microrganismos presentes no solo (SENÉS-GUERRERO; SCHÜBLER, 2016) que formam associações simbióticas com 80% da flora terrestre (BERRUTI et al., 2016), inserida em ecossistemas naturais e agrícolas (MENSAH et al., 2015). A micorriza arbuscular é a simbiose mais difundida no planeta (AVIO et al., 2017; ÖPIK et al., 2013)

e é importante na manutenção dos serviços ecossistêmicos por sustentar a estabilidade ambiental (DA SILVA et al., 2014). Os solos, de forma natural, contêm comunidades de FMA. No entanto, é importante determinar sua diversidade, seu potencial de inóculo micorrízico e os fatores abióticos e bióticos que afetam essas comunidades (VÁLYI et al., 2016), pois nem todos os FMA têm comportamento igual num determinado ambiente (GÓMEZ-BELLOT et al., 2015).

Pesquisadores de todo o mundo têm feito um amplo esforço para compreender os fatores que moldam as comunidades de FMA (CASAZZA et al., 2017). A composição de comunidades desses microrganismos em solos cultivados com morangueiro (*Fragaria x ananassa* Duch.) no Brasil é pouco conhecida. Na biogeocenose do subtropical brasileiro, apenas um estudo sobre a diversidade de FMA foi desenvolvido em solos sob cultivo de morangueiro, por meio de culturas-armadilhas (PEDERSEN et al., 2017). No entanto, nenhuma pesquisa foi feita em locais-referência com aptidão agrícola para o cultivo dessa espécie e nem diretamente em solo rizosférico.

Compreender a estruturação de comunidades de FMA é um dos objetivos da ecologia (ÖPIK; DAVISON, 2016) e a maneira mais fácil de entender a bionomia desses simbiontes é estudando sua diversidade em ecossistemas e relacionando sua ocorrência com características edafoclimáticas e tipo de fitocenose (CASTILLO et al., 2016; PÄRTEL; BENNETT; ZOBEL, 2016). A diversidade de FMA contribui para a coexistência, produtividade e manutenção da flora em ecossistemas (WAGG et al., 2011). Estudos sobre a diversidade desses microrganismos são importantes para conhecer sua dinâmica populacional e assim potencializar os benefícios da micorriza arbuscular (PEDERSEN et al., 2017). Além disso, explorar o potencial de inóculo micorrízico dessas comunidades contribui para o desenvolvimento de inoculantes e fortalecimento da agricultura sustentável. O uso de inoculantes à base de FMA pode reduzir a aplicação de insumos químicos em agroecossistemas (MAHECHA-VÁSQUEZ; SIERRA; POSADA, 2017) e incrementar a produtividade e/ou qualidade dos cultivos.

Há evidências de que a estruturação e distribuição de comunidades de FMA em biogeocenoses são afetadas, sobretudo, pela flora hospedeira e fatores edáficos

(DAVISON et al., 2015; TORRECILLAS et al., 2014). Se o tipo de solo determina a composição de comunidades desses microrganismos, qual solo, dentre os cultivados com morangueiro e de mata nativa, apresenta maior diversidade e potencial de inóculo de comunidades de FMA?

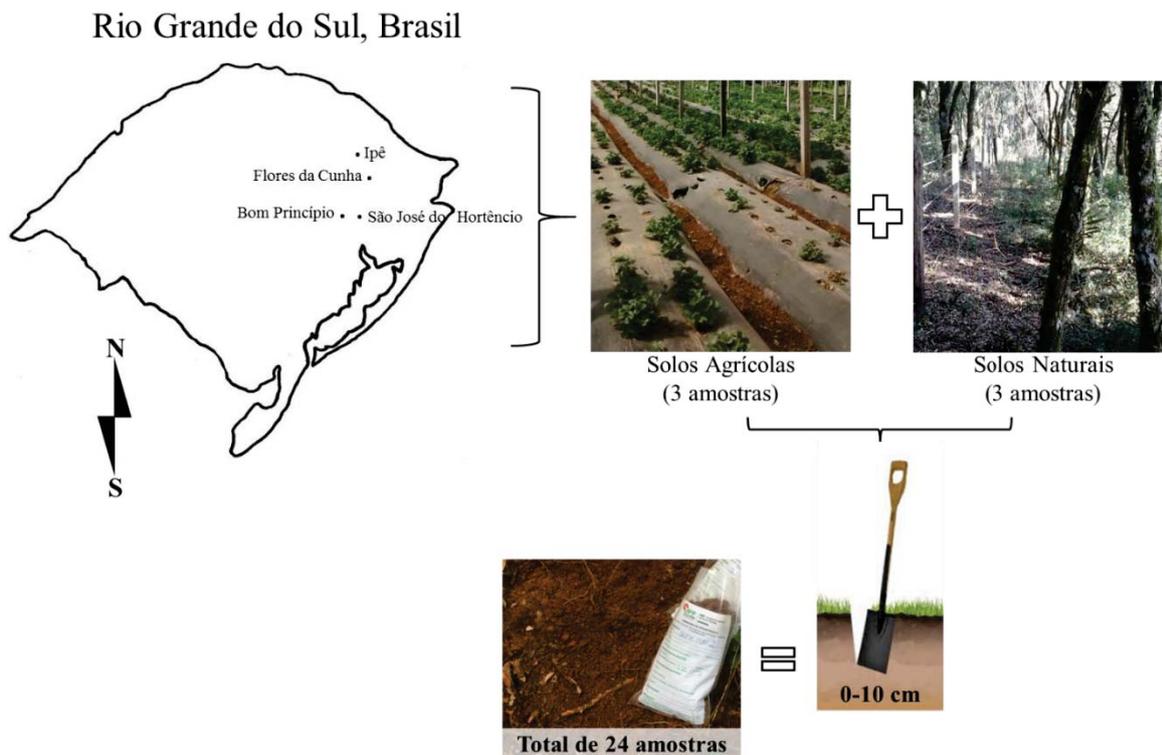
Portanto, com base na hipótese de que há maior diversidade de FMA em solos de mata nativa em relação aos solos cultivados, o trabalho objetivou verificar se há variabilidade quanto à diversidade e potencial de inóculo de comunidades de FMA em solos cultivados e de mata nativa de locais-referência no cultivo de morangueiro. Esse estudo fornece uma visão da riqueza, da frequência e da capacidade infectiva de espécies de FMA, presentes na microbiota de solos naturais e agrícolas, para compreender a dinâmica populacional desses microrganismos.

### **4.3 Material e Métodos**

#### **4.3.1 Identificação e amostragem dos solos**

Idem ao item 3.3.1 do capítulo I e conforme a representação esquemática da Figura 1.

Figura 1 - Esquema da identificação e amostragem dos solos usados no estudo. Passo Fundo - 2017



Fonte: Figura construída pelo autor.

#### 4.3.2 Tratamentos e delineamento

Foram realizados dois experimentos (experimento I: diversidade de comunidades de FMA; experimento II: potencial de inóculo micorrízico). No experimento I os tratamentos foram os oito solos, dispostos no delineamento inteiramente casualizado. Em cada solo estudado foram consideradas nove amostras para avaliação da diversidade de FMA. No experimento II os tratamentos foram os oito solos (contendo comunidades de FMA identificadas) e uma testemunha (*Rhizophagus clarus* (Nicolson & Schenck) C. Walker & A. Schüßler.), dispostos no delineamento inteiramente casualizado, com três repetições. Usou-se o isolado *R. clarus* como testemunha devido a sua elevada capacidade infectiva (em geral superior a 60%). Cada repetição foi composta por uma planta de sorgo (*Sorghum bicolor* (L.) Moench).

### 4.3.3 Procedimentos

Após a realização das coletas, as amostras de solo foram transportadas até a Universidade de Passo Fundo e, após secagem em temperatura ambiente, permaneceram conservadas sob refrigeração (2 a 4 °C), acondicionadas em embalagens plásticas, até a realização das avaliações, que ocorreram de julho a novembro de 2016.

Uma amostra de 500 g de cada solo foi usada para obter suas propriedades físicas e químicas (Tabela 1). Os atributos pH H<sub>2</sub>O, índice SMP, P, K, MO, Al, Ca, Mg, Zn, Cu e Mn foram determinados conforme Tedesco et al. (1995, p. 17-36) e o atributo H+Al foi determinado conforme Vettori (1969, p. 14). A determinação de argila, silte e areia foi realizada pelo método do hidrômetro (KLEIN, 2014, p. 19-23).

Tabela 1 - Caracterização física e químicas dos solos usados no estudo. Passo Fundo - 2017

Atributo	BP SC <sup>1</sup>	FC SC	IP SC	SH SC	BP MN	FC MN	IP MN	SH MN
pH H <sub>2</sub> O	6,78 <sup>2</sup>	4,98	6,18	6,49	4,65	4,39	4,39	5,20
Índice SMP	7,00	5,12	6,44	7,05	5,71	4,47	4,46	5,96
P (mg/dm <sup>3</sup> )	351,04	57,70	26,58	319,12	7,24	5,73	3,64	1,89
K (mg/dm <sup>3</sup> )	379,00	122,33	140,00	172,67	54,00	87,33	102,00	89,00
MO (%)	2,37	5,80	3,73	1,73	4,03	5,90	7,20	2,83
Al (cmol/dm <sup>3</sup> )	0,00	0,00	0,00	0,00	0,67	1,53	1,33	0,00
Ca (cmol/dm <sup>3</sup> )	3,78	6,23	6,92	7,21	5,53	6,83	5,90	3,95
Mg (cmol/dm <sup>3</sup> )	1,55	2,50	1,65	1,42	0,72	1,05	1,44	2,04
H+Al (cmol/dm <sup>3</sup> )	2,07	15,19	3,98	1,84	12,20	16,44	16,81	6,89
Zn (mg/dm <sup>3</sup> )	46,99	9,92	33,00	29,49	5,72	7,13	6,73	6,63
Cu (mg/dm <sup>3</sup> )	13,69	2,64	3,04	4,17	1,89	4,28	2,56	2,35
Mn (mg/dm <sup>3</sup> )	7,23	12,70	7,47	7,61	44,43	92,13	68,67	7,67
Argila (%)	20,00	42,67	58,33	16,00	26,67	53,33	54,00	53,33
Silte (%)	16,00	25,67	23,00	12,00	18,33	24,67	23,00	28,00
Areia (%)	64,00	31,67	18,67	72,00	55,00	22,00	23,00	28,00

Fonte: Dados do autor.

<sup>1</sup>BP: Bom Princípio; FC: Flores da Cunha; IP: Ipê; SH: São José do Hortêncio; SC: solo cultivado; MN: mata nativa. <sup>2</sup>Médias de três repetições.

#### 4.3.3.1 Riqueza e frequência relativa de espécies de FMA

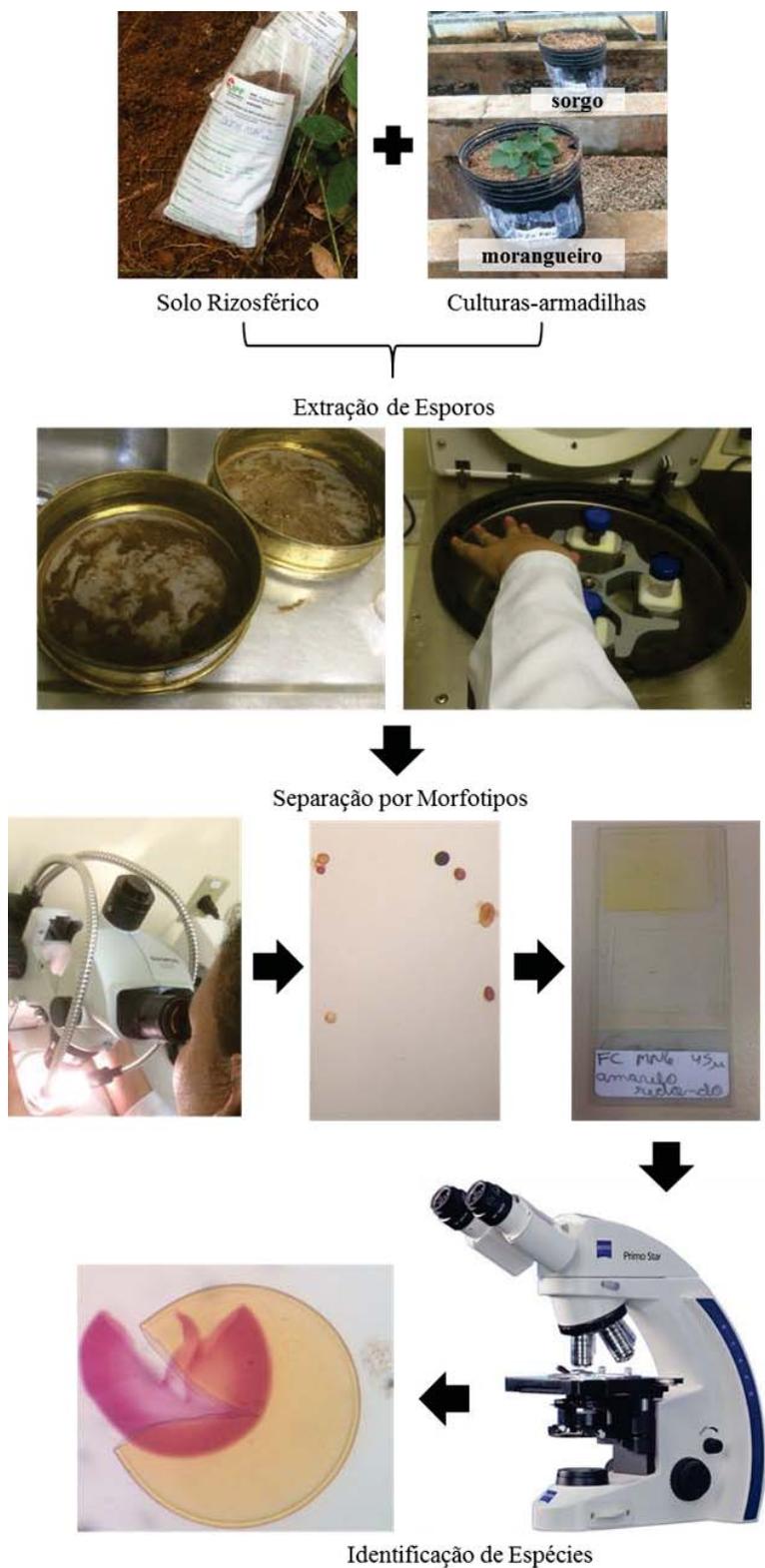
Para verificar a diversidade de FMA (experimento I) realizaram-se os procedimentos de secagem e acondicionamento das amostras de solos, estabelecimento de culturas-armadilhas, extração de esporos e identificação de espécies, já descritos no item 3.3.3.1 do capítulo I e conforme a representação esquemática da Figura 2.

Após a identificação das espécies de FMA, obtiveram-se a riqueza de espécies (RE) e frequência relativa (FR) das comunidades desses microrganismos. A RE corresponde ao número de espécies encontradas nas amostras, enquanto que a FR indica a frequência de ocorrência de cada espécie e foi obtida pela equação proposta por Brower e Zar (1984, p. 33):

$$FR (\%) = \frac{\text{número de locais onde a espécie ocorre}}{\text{número total de locais avaliados}} \times 100 \quad (1)$$

De acordo com a FR, as espécies foram classificadas em: dominantes (> 50%), muito comuns (entre 31% e 50%), comuns (entre 13% e 30%) e raras (< 13%).

Figura 2 - Esquema da extração de esporos e identificação de espécies de FMA em solo rizosférico e em cultivo-armadilha. Passo Fundo - 2017



#### 4.3.3.2 Capacidade infectiva de comunidades de FMA

A análise do potencial de inóculo micorrízico (experimento II) foi realizada de acordo com bioensaio do potencial de colonização média descrito por Moorman e Reeves (1979), na proporção de 1:1 (50% de solo nativo e 50% do diluente areia). O cultivo do sorgo foi realizado em tubetes de poliestireno, com volume de 250 cm<sup>3</sup>. Em setembro (primavera), os tubetes foram preenchidos com os solos coletados + areia e cinco sementes foram semeadas. Após uma semana, realizou-se o desbaste e apenas uma planta permaneceu em cada tubete.

Os tubetes foram mantidos em bancadas metálicas, a 1,2 m em relação à superfície do solo, em estufa agrícola de 90 m<sup>2</sup>, com teto semicircular, instalada no sentido nordeste-sudeste. A estrutura de aço galvanizado estava coberta com filme de polietileno de baixa densidade, com aditivo antiultravioleta e com espessura de 150 micra, e as laterais estavam cobertas com tela antiafídeos.

A irrigação usada foi com aspersores, no sistema mecanizado, com vazão de 2 L/min por unidade. O regime de irrigação consistiu no acionamento dos aspersores quatro vezes ao dia, com molhamento total de sete minutos. A lâmina de água fornecida ao sorgo foi de 4,35 mm/dia. Durante a execução do experimento, por meio de uma miniestação meteorológica, monitorou-se a radiação fotossinteticamente ativa e a temperatura média do ar no interior da estufa, cujos valores médios foram de 268  $\mu\text{mol m}^2/\text{s}$  e 20 °C, respectivamente. A avaliação foi feita 45 dias após a semeadura. A parte aérea da planta e o solo foram descartados e as raízes lavadas para retirar o excesso de solo.

Para verificar o potencial de inóculo micorrízico, após a retirada das plantas dos tubetes, as raízes foram preparadas de acordo com Phillips e Hayman (1970) e sua porcentagem de colonização micorrízica foi determinada conforme Trouvelot, Kouch e Gianinazzi-Pearson (1986), pela equação:

$$\text{CM (\%)} = \frac{\text{número total de fragmentos com raízes micorrizadas}}{\text{número total de fragmentos}} \times 100 \quad (2)$$

#### **4.3.4 Análise de dados**

Os dados obtidos referentes à diversidade de FMA foram submetidos à análise descritiva, por serem avaliações que resultaram em apenas um valor para as nove repetições amostrais. Os dados referentes ao potencial de inóculo micorrízico foram submetidos à análise de variância e as médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade de erro, com auxílio do programa Genes® (CRUZ, 2016).

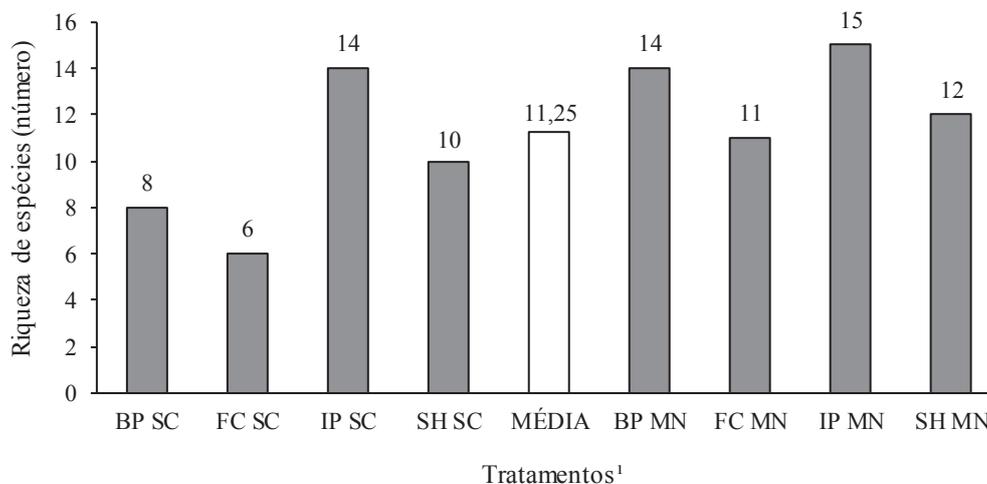
### **4.4 Resultados**

#### **4.4.1 Riqueza e frequência relativa de espécies de FMA**

Houve variabilidade em relação à riqueza e frequência relativa de espécies de FMA dos solos coletados. Solos de mata nativa e o solo cultivado em Ipê foram superiores em quantidade de espécies micorrízicas em relação à média e aos demais solos cultivados com morangueiro (Figura 3). O solo de mata nativa do município de Ipê apresentou 60% a mais de riqueza de espécies quando comparado ao solo cultivado do município de Flores da Cunha. Nos solos de mata nativa, houve variação de 27% entre os locais com a maior e a menor riqueza de espécies. Nos solos cultivados essa variação foi de 57%.

Houve redução na riqueza de espécies micorrízicas dos solos naturais para os solos cultivados em 46%, 43%, 17% e 7% nos municípios de Flores da Cunha, Bom Princípio, São José do Hortêncio e Ipê, respectivamente (Figura 3).

Figura 3 - Riqueza de espécies de comunidades de FMA. Passo Fundo - 2017

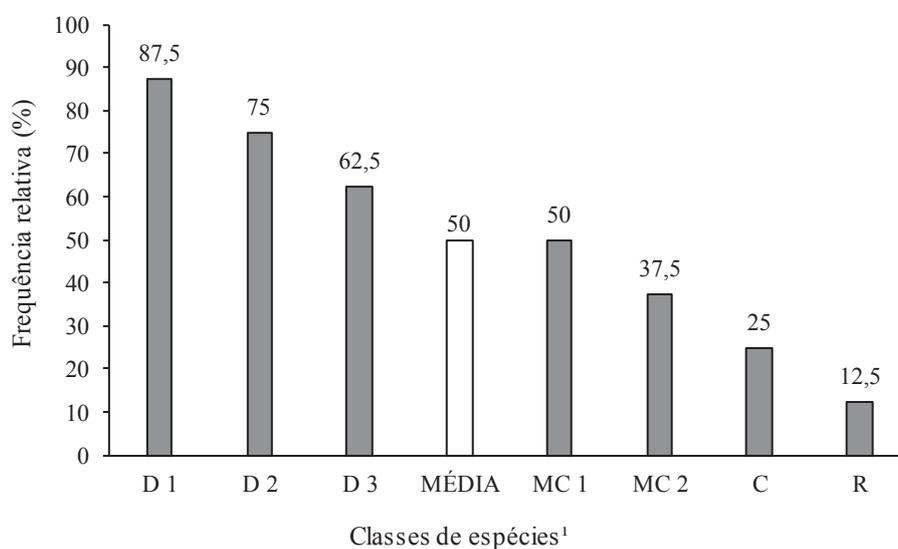


Fonte: Dados do autor.

¹BP: Bom Princípio; FC: Flores da Cunha; IP: Ipê; SH: São José do Hortêncio; SC: solo cultivado; MN: solo de mata nativa.

As espécies *Claroideoglomus* aff. *luteum*, *C. claroideum*, *C. etunicatum*, *Funneliformis mosseae* e *Glomus* sp2 foram as mais frequentes em relação às 72 amostras de solos coletadas (Figura 4). Das demais espécies identificadas, seis foram classificadas como muito comuns, nove foram classificadas como comuns e 22 foram classificadas como raras (Figura 4).

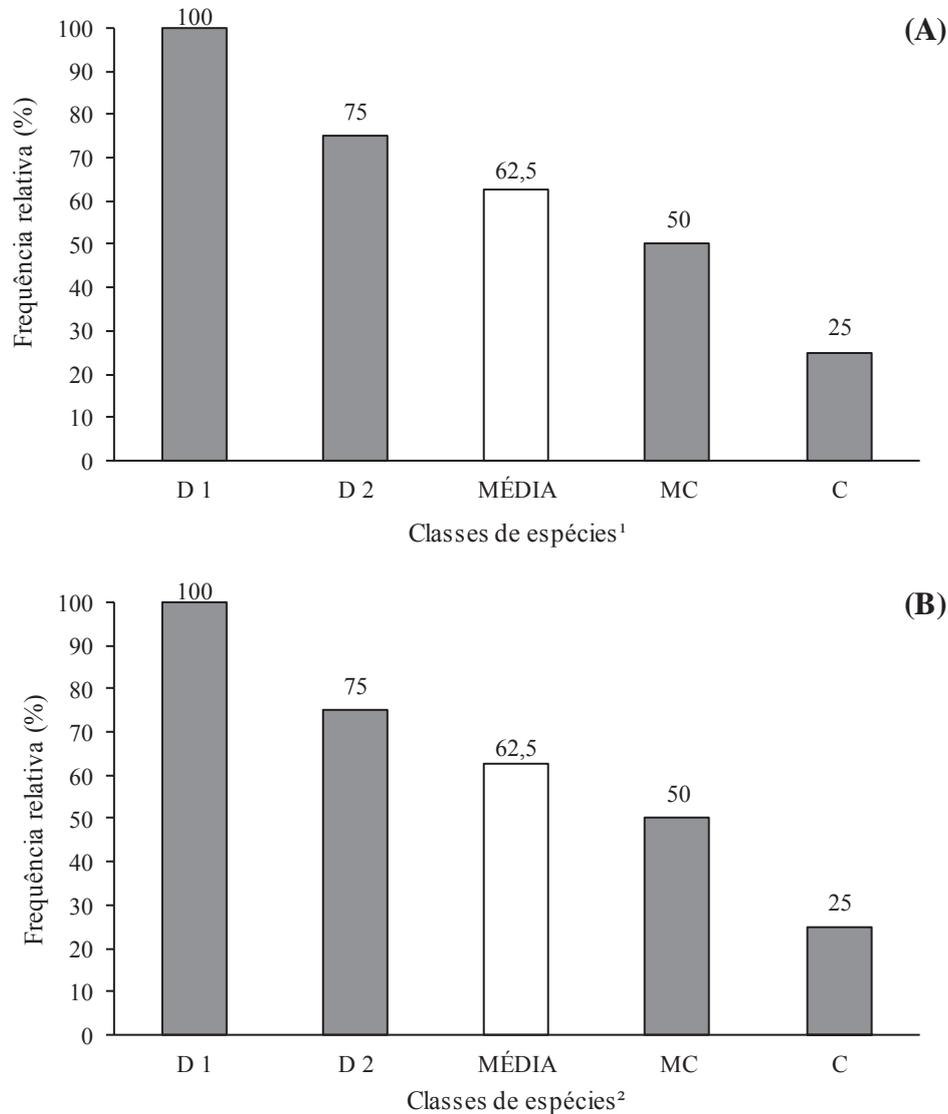
Figura 4 - Frequência relativa por classes de espécies (D: dominante = > 50%; MC: muito comum = entre 31% e 50%; C: comum = entre 13% e 30%; R: rara = < 13%). Passo Fundo - 2017



<sup>1</sup>**D1:** *Claroideoglopus etunicatum*; **D2:** *C. claroideum*, *Funneliformis mosseae*; **D3:** *Claroideoglopus* aff. *luteum*, *Glomus* sp2; **MC1:** *Acaulospora colossica*, *Glomus* sp. (*caesaris* like), *Glomus* sp1; **MC2:** *A. koskei*, *Funneliformis* aff. *geosporum*, *Glomus* aff. *versiforme*; **C:** *Acaulospora* aff. *scrobiculata*, *A. lacunosa*, *A. mellea*, *Acaulospora* sp., *Acaulospora* sp2 (*excavata* like), *Funneliformis* aff. *mosseae*, *F. geosporum*, *Gigaspora* sp., *Glomus* aff. *manihotis*; **R:** *Acaulospora* aff. *lacunosa*, *A. foveata*, *A. rehmi*, *A. scrobiculata*, *Acaulospora* sp. (*colossica* like M+), *Acaulospora* sp1 (*E. infrequens* like), *A. spinosa*, *A. tuberculata*, *Ambispora leptoticha*, *Cetraspora pellucida*, *Dentiscutata biornata*, *D. erythropha*, *D. heterogama*, *D. rubra*, *D. savannicola*, *Glomus* aff. *caledonium*, *Glomus* aff. *heterosporum*, *G. microaggregatum*, *Racocetra* sp., *R. verrucosa*, *Scutellospora* sp1, *S. calospora*.

Nos solos cultivados, as espécies *C. claroideum*, *C. etunicatum*, *Funneliformis* aff. *geosporum*, *Glomus* aff. *versiforme* e *Glomus* sp. (*caesaris* like) foram as mais frequentes (Figura 5 A). Já nos solos de mata nativa, as espécies mais frequentes foram *Acaulospora colossica*, *Claroideoglopus* aff. *luteum*, *C. claroideum*, *C. etunicatum*, *F. mosseae*, *Glomus* sp1 e *Glomus* sp2 (Figura 5 B).

Figura 5 - Frequência relativa de comunidades micorrízicas em solos cultivados (A) e de mata nativa (B) por classes de espécies (D: dominante = > 50%; MC: muito comum = entre 31% e 50%; C: comum = entre 13% e 30%; R: rara = < 13%). Passo Fundo - 2017

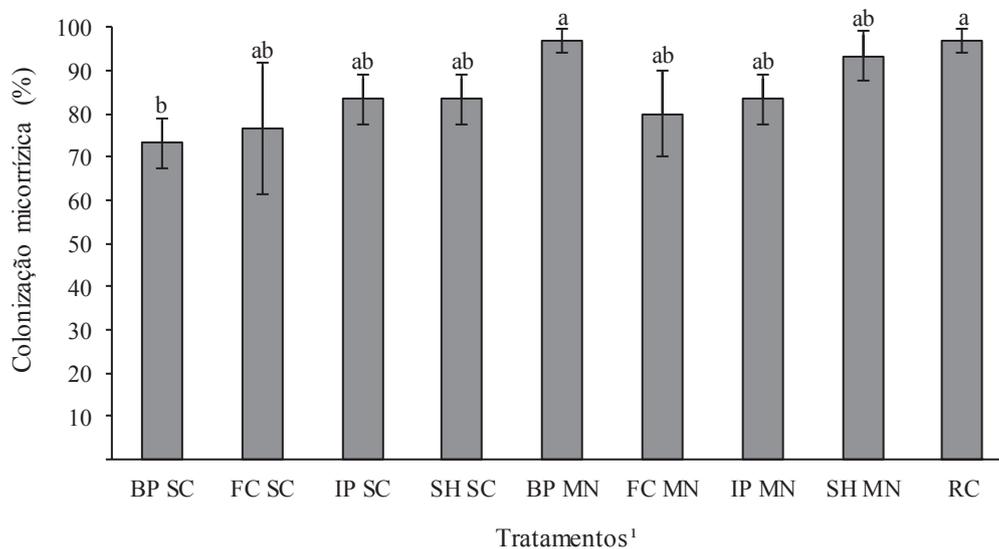


<sup>1</sup>(A): Frequência relativa em solos cultivados (D1: *Claroideoglobus etunicatum*; *Glomus* sp. (*caesaris* like); D2: *C. claroideum*, *Funneliformis* aff. *geosporum*; *Glomus* aff. *versiforme*; MC: *Claroideoglobus* aff. *luteum*; *F. mosseae*; *Funneliformis* aff. *mosseae*; *Glomus* sp2; C: *Acaulospora colossica*; *A. foveata*; *A. koskei*; *A. rehmi*; *Acaulospora* sp.; *Cetraspora pellucida*; *Dentiscutata erythropha*, *D. heterogama*; *D. rubra*; *Gigaspora* sp.; *Glomus* aff. *caledonium*; *Glomus* aff. *manihotis*; *Glomus* sp1). <sup>2</sup>(B): Frequência relativa em solos de mata nativa (D1: *F. mosseae*; D2: *A. colossica*; *Claroideoglobus* aff. *luteum*; *C. claroideum*; *C. etunicatum*; *Glomus* sp1; *Glomus* sp2; MC: *Acaulospora* aff. *scrobiculata*; *A. koskei*; *A. lacunosa*; *A. mellea*; *Acaulospora* sp2 (*excavata* like); C: *Acaulospora* aff. *lacunosa*; *A. scrobiculata*; *Acaulospora* sp.; *Acaulospora* sp. (*colossica* like M+); *Acaulospora* sp1 (*E. savannicola* like); *A. spinosa*; *A. tuberculata*; *Ambispora leptoticha*; *D. biomata*; *D. savannicola*; *F. geosporum*; *Gigaspora* sp.; *Glomus* aff. *heterosporum*; *Glomus* aff. *manihotis*; *G. microaggregatum*; *Racocetra* sp.; *R. verrucosa*; *Scutellospora* sp1; *S. calospora*).

#### 4.4.2 Capacidade infectiva de comunidades de FMA

Houve variabilidade quanto à capacidade infectiva das comunidades e do isolado de FMA nas raízes do sorgo (Figura 6). Apesar das diferenças entre os tratamentos, em todos eles a colonização micorrízica foi superior a 70% (Figura 6). Além disso, observou-se que plantas inoculadas com o isolado *R. clarus* (testemunha) e com o solo de mata nativa de Bom Princípio apresentaram 24% a mais de colonização micorrízica em relação a plantas inoculadas com o solo cultivado desse mesmo local (Figura 6).

Figura 6 - Potencial de inóculo micorrízico de solos coletados de locais-referência no cultivo de morangueiro. Passo Fundo - 2017



Nota: Letras distintas sobre as colunas indicam diferença pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ).

<sup>1</sup>BP: Bom Princípio; FC: Flores da Cunha; IP: Ipê; SH: São José do Hortêncio; SC: solo cultivado; MN: solo de mata nativa; RC: *Rhizophagus clarus*.

#### 4.5 Discussão

A pesquisa mostrou variabilidade quanto à diversidade e potencial de inóculo de FMA em solos de locais-referência no cultivo de morangueiro. Sugere-se que a menor dinâmica populacional desses microrganismos em solos cultivados foi atribuída ao uso e manejo dos solos e às práticas agrícolas aplicadas ao cultivo do morangueiro. As espécies *C. claroideum* e *C. etunicatum* apareceram com dominância, independente do

ecossistema. Assim, a inoculação de plantas de morangueiro com as espécies de FMA dominantes encontradas em solos cultivados (Figura 5 A), pode beneficiar os produtores quanto ao rendimento e/ou qualidade de frutos.

Confirmando a hipótese do trabalho, houve maior diversidade de FMA em solos naturais, pois a antropização edáfica afeta negativamente a distribuição desses microrganismos (PEDERSEN et al., 2017). Como foi relatado pelos produtores de morangueiro, houve preparo mecânico do solo para o plantio da cultura e isso contribuiu para a menor heterogeneidade espacial de FMA nos solos cultivados. Além disso, pesquisas mostraram que práticas agrícolas intensivas, como o uso de biocidas e fertilizantes, têm impactos drásticos sobre comunidades desses microrganismos, reduzindo, assim, sua diversidade (CASTILLO et al., 2016; DAI et al., 2013). Nesse estudo, em todos os locais amostrados reportou-se a aplicação de defensivos agrícolas no morangueiro (Tabela 2, capítulo I, p. 30).

Em escala global, a composição de comunidades de FMA estrutura-se por condições geográficas, edafoclimáticas e tipo de fitocenose (ALGUACIL et al., 2015; DAVISON et al., 2015; KIVLIN; HAWKES; TRESEDER, 2011). Porém, os fatores edáficos são a principal causa da composição dessas comunidades (HAZARD et al., 2013; JANSA et al., 2014). Dentre eles, o pH é considerado o fator-chave que molda a distribuição espacial desses simbiontes (BAINARD et al., 2015) pois, além de regular a biodisponibilidade de nutrientes do solo (XU et al., 2017), a acidez é considerada um filtro ambiental de comunidades de FMA (DA SILVA et al., 2014; JANSA et al., 2014). A maior diversidade de espécies desses microrganismos em solos de mata nativa foi atribuída, em parte, à acidez e à fertilidade do solo (Tabela 1) pois, de modo geral, aumentos de pH e de P diminuem a riqueza de espécies de FMA (BAINARD et al., 2015; SHENG et al., 2013). Assim, devido aos solos de mata nativa serem mais ácidos e terem menor disponibilidade de P (Tabela 1) foi evidenciada maior diversidade micorrízica nesses ecossistemas.

Não há dúvida de que a aptidão do solo tem efeito na distribuição espacial de FMA (BORRIELLO et al., 2015; CICCOLINI; BONARI; PELLEGRINO, 2015) e esse

trabalho também demonstrou que o uso do solo contribui para a diversidade micorrízica. Porém, como condições ecogeográficas e o tipo de fitocenose também interferem na composição de comunidades de FMA, os padrões da distribuição desses microrganismos não podem ser explicados apenas pela heterogeneidade edáfica (COUTINHO et al., 2015; XU et al., 2017).

Os FMA têm resposta idiossincrática em relação à comunidade vegetal (TOJU et al., 2015). Em ambientes não filtrantes e abioticamente homogêneos, como observado em solos naturais (Tabela 1), os efeitos do hospedeiro vegetal seriam relativamente mais importantes na estruturação da comunidade micorrízica (VÁLYI et al., 2016). Dessa forma, comparando os ecossistemas quanto à presença de hospedeiros, os solos de mata nativa eram heterogêneos em relação aos solos cultivados e isso pode explicar a maior diversidade de espécies de FMA em solos naturais, pois a pluralidade vegetal beneficia a riqueza de espécies micorrízicas (HIIESALU et al., 2014). Considerando o bioma Mata Atlântica, os solos de mata nativa amostrados estão inseridos nas Florestas Estacional Decidual e Ombrófila Mista, abrangendo espécies vegetais com hábito de crescimento desde arbustivo até arbóreo (Figura 3, capítulo I, p. 29). Porém, como a composição florística era semelhante, independente da fitofisionomia, houve menor variação de espécies de FMA em solos naturais (27%) em relação aos solos cultivados, que apresentaram maior variação de espécies (57%), provavelmente pela filtragem edáfica.

A cobertura vegetal dos solos também pode ter favorecido a maior diversidade de FMA em ecossistemas naturais. A uniformidade da cobertura vegetal em solos naturais pode ter um efeito homogeneizador nas comunidades de FMA (DAI et al., 2013), pois as plantas hospedeiras influenciam a formação populacional de micorrizas nos solos (AL-YAHYA'EI et al., 2011). Uma diferença perceptível entre os ecossistemas naturais e agrícolas foi a cobertura vegetal. Em todos os ecossistemas naturais os solos de mata nativa estavam sob cobertura vegetal. Mesmo todos os solos cultivados estando cobertos com mulching (Tabela 2, capítulo I, p. 30), essa proteção não corresponde à cobertura vegetal quanto à aptidão agroecológica. Assim, práticas agrícolas convencionais e uso/manejo do solo causam perda de diversidade de FMA e também, pela pressão de

seleção, favorecem a esporulação de determinados grupos ecológicos de FMA (CASTILLO et al., 2016), denominados de generalistas ou dominantes.

As espécies micorrízicas *C. claroideum* e *C. etunicatum* mostraram-se dominantes, independente da aptidão dos solos amostrados. Outras pesquisas também evidenciaram que essas espécies foram as mais frequentes em diferentes biogeocenoses (COUTINHO et al., 2015; PEDERSEN et al., 2017; SENÉS-GUERRERO; SCHÜBLER, 2016; TEIXEIRA-RIOS et al., 2013). No filo Glomeromycota, a ordem Glomerales, composta pelas famílias Claroideoglomeraceae e Glomeraceae, é conhecida por dominar as comunidades de FMA em distintos ecossistemas (CASAZZA et al., 2017; ESTRADA et al., 2013). A espécie *F. mosseae*, conhecida por ser cosmopolita (AL-QARAWI; MRIDHA; DHAR, 2013), foi dominante apenas em solos de mata nativa, diferente do obtido por Dai et al. (2013) e Pedersen et al. (2017), que mostraram maior frequência da espécie em solos cultivados. Os padrões de distribuição de FMA em ecossistemas são influenciados por fatores abióticos e bióticos e são relacionados às estratégias de sobrevivência desses microrganismos (BAINARD et al., 2014; YANG et al., 2016). O fato das espécies generalistas serem relatadas em todas as partes do mundo indica que esse grupo de FMA conseguiria ocupar a maioria dos ecossistemas existentes de forma permanente (CASTILLO et al., 2016).

Os FMA são de grande valor para o funcionamento e a sustentabilidade dos ecossistemas (CASTILLO et al., 2016). Dessa forma, estudos da diversidade desses microrganismos e suas funções em diferentes aptidões edáficas contribuem para compreender o impacto das mudanças no uso dos solos no contexto agroecossistêmico (SOKA; RITCHIE, 2015). A influência do uso do solo nas comunidades de FMA na paisagem rio-grandense, com aptidão agrícola para o cultivo de morangueiro, é desconhecida. Assim, esse estudo representa a primeira tentativa de compreender a diversidade de FMA em locais-referência no cultivo de morangueiro.

#### 4.6 Conclusões

Em conclusão, os dados evidenciam diversidade de FMA em solos de locais-referência no cultivo de morangueiro. A menor dinâmica populacional destes microrganismos em solos cultivados deve-se ao uso e manejo dos solos e às práticas agrícolas aplicadas no cultivo do morangueiro. As espécies *C. claroideum* e *C. etunicatum* aparecem com dominância, independente do ecossistema. Adicionalmente, sugere-se aos produtores de morangueiro a inoculação das plantas com as espécies de FMA dominantes, encontradas em solos cultivados. Assim, recomendam-se estudos que viabilizem o desenvolvimento de inoculantes comerciais ou que potencializem a produção *on-farm* de inoculantes, com essas espécies dominantes, para beneficiar os produtores de morangueiro quanto ao rendimento e/ou qualidade de frutos.

## 5 CAPÍTULO III

Comunidades de fungos micorrízicos arbusculares oriundas de locais-referência no cultivo de morangueiro incrementam o teor antociânico de morangos

### 5.1 Resumo

A aplicação de fungos micorrízicos arbusculares (FMA) no cultivo do morangueiro pode melhorar o crescimento e desenvolvimento dessa cultura. Por isso, o trabalho objetivou avaliar se plantas de morangueiro na ausência e presença de inoculação com comunidades de FMA, obtidas de solos coletados em locais-referência no cultivo dessa espécie, diferem no desempenho morfoagronômico. Assim, foi realizado um experimento em que os tratamentos foram oito comunidades de FMA e uma testemunha, com três repetições. Os resultados indicaram efeito positivo no desempenho morfoagronômico das plantas de morangueiro quando essas foram inoculadas com FMA, com destaque para o sistema radicial e para a qualidade dos frutos. Em conclusão, os dados mostram que há benefícios nas plantas micorrizadas com comunidades de FMA, principalmente na morfologia, com ênfase no sistema radicial, e na qualidade dos frutos pelo aumento do teor antociânico.

Palavras-chave: 1. *Fragaria x ananassa* Duch. 2. Micorriza arbuscular. 3. Morfologia fitométrica. 4. Produção. 5. Qualidade.

### 5.2 Introdução

O morangueiro (*Fragaria x ananassa* Duch.) tem um elevado valor de produção, pois é cultivado em todo mundo pela demanda por frutos (KORON; SONJAK; REGVAR, 2014) e se destaca por ser uma fonte alimentar bastante nutritiva (ROBINSON-BOYER et al., 2016). No Brasil, a produção de morangos fica em torno de 150 mil toneladas, em uma área plantada correspondente a 4,2 mil hectares (FAGHERAZZI et al., 2017). Devido à demanda de consumidores por frutos com altos índices de fitoquímicos, graças aos seus efeitos benéficos à saúde (ROUPHAEL et al., 2010), aliada ao aumento no rendimento, a aplicação de ferramentas biotecnológicas no cultivo do morangueiro pode melhorar o desempenho morfoagronômico dessa cultura.

O melhoramento genético e a adaptabilidade do morangueiro tornaram possível sua produção em diferentes regiões do Brasil (GONÇALVES et al., 2015, p. 1). No entanto, as cultivares desenvolvidas em programas de melhoramento apresentam elevado potencial produtivo em resposta ao uso excessivo de insumos químicos. Assim, o sistema de cultivo do morangueiro apresenta inconvenientes, como o elevado uso de defensivos agrícolas e de fertilizantes (ANDRADE et al., 2017), o que pode ocasionar contaminação ambiental. Dessa forma, visando uma agricultura sustentável, novas alternativas de manejos nutricional e fitossanitário devem ser propostas para minimizar esses inconvenientes, a exemplo da inoculação com fungos micorrízicos arbusculares (FMA).

Em culturas hortícolas a inoculação com FMA mostra-se uma biotecnologia promissora para potencializar a agricultura sustentável, sobretudo em sistemas intensivos de cultivo (ROUPHAEL et al., 2015), a exemplo do morangueiro. Isso se deve ao efeito benéfico dos FMA sobre o hospedeiro, como já reportado na horticultura (AVIO et al., 2017; ZHONGQUN; ZHI, 2013). O morangueiro é uma espécie colonizada por FMA e um grande número de estudos focam suas interações. Nessa cultura, a micorriza arbuscular pode ser uma estratégia de biofertilização, o que ajudaria na redução das fertilizações químicas (SHARMA; ADHOLEYA, 2004). Além disso, a simbiose beneficia a morfologia radicular das plantas (SINCLAIR et al., 2014) e melhora a qualidade e conteúdo nutracêutico dos frutos (CECATTO et al., 2016; LINGUA et al., 2013) por meio do aumento da biossíntese de metabólitos secundários (GIOVANNETTI et al., 2012).

Como a rizosfera da planta é habitada por FMA (ZOU et al., 2017), uma ferramenta promissora para aumentar a sustentabilidade dos sistemas de produção é o uso desses microrganismos (BASU; RABARA; NEGI, 2018; ROUPHAEL et al., 2015). Apesar da simbiose ser dependente da combinação fungo-planta (GOSLING et al., 2006), nenhum estudo ainda analisou a identidade dos FMA que habitam os locais de cultivo do morangueiro.

A horticultura moderna enfrenta propósitos opostos, como a necessidade de produzir mais alimentos, com melhor qualidade, e minimizar os danos aos ecossistemas

(DUHAMEL; VANDENKOORNHUYSE, 2013). Porém, conciliar esses objetivos representa um grande desafio de sustentabilidade aos horticultores e cientistas (OWEN et al., 2015). Dessa forma, para os produtores de morango potencializar a agricultura sustentável surge a questão: como a inoculação com comunidades de FMA, obtidas de solos da paisagem rio-grandense com aptidão agrícola para o cultivo do morangueiro, interfere no desempenho morfoagronômico dessa cultura?

Portanto, com base na hipótese de que o uso de FMA no morangueiro melhora seu desempenho morfoagronômico, o trabalho objetivou avaliar se plantas de morangueiro na ausência e presença de inoculação com comunidades de FMA, obtidas de solos coletados em locais-referência no cultivo dessa espécie, diferem no desempenho morfoagronômico. Esse estudo fornece uma visão da morfologia, da produção e da qualidade de plantas de morangueiro, cultivar Albion, submetidas à biotecnologia micorrízica.

### **5.3 Material e Métodos**

#### **5.3.1 Material vegetal e condições de crescimento**

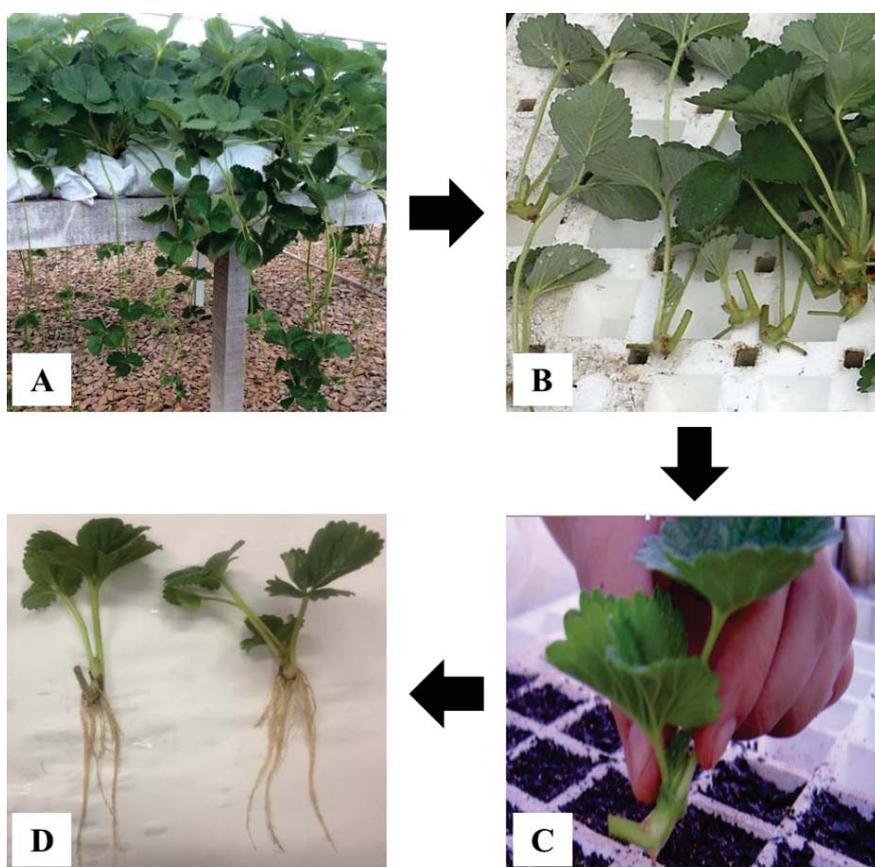
O experimento foi conduzido entre outubro de 2016 e novembro de 2017 em estufa agrícola na Universidade de Passo Fundo (28° 15' 46" S, 52° 24' 24" W), no subtropical brasileiro. O ambiente de cultivo constituiu-se de uma estrutura de aço galvanizado, coberta com filme de polietileno de baixa densidade, com aditivo antiultravioleta e com espessura de 150 micra, instalada no sentido nordeste-sudeste.

Matrizes de morangueiro da cultivar Albion, classificada como de dias neutros (DN) quanto ao florescimento, oriundas do viveiro Llahuén/Patagônia chilena (33° 50' 15,41" S, 70° 40' 03,06" W), foram transplantadas em junho de 2016 (inverno) em recipientes (*bags*), preenchidos com substrato comercial Horta 2<sup>®</sup>, que foram mantidos em bancadas de 1,20 m de altura, com a finalidade de produção de mudas. Após 90 dias, em setembro (primavera) de 2016, pontas de estolões foram retiradas das matrizes e transferidas para bandeja de poliestireno de 72 células, com volume de 50 cm<sup>3</sup> por célula,

preenchida com areia esterilizada para obtenção das mudas que constituíram-se no material vegetal do experimento.

As mudas foram irrigadas por nebulização intermitente, com linhas irrigantes distanciadas a 1,5 m contendo nebulizadores dispostos a cada 1 m. O sistema foi regulado com *timer* para funcionar a cada oito minutos, com duração do molhamento de dez segundos. As etapas de obtenção das mudas estão apresentadas na Figura 1.

Figura 1 - Mudanças de morangueiro, cultivar Albion. A) matrizes; B) pontas de estolões; C) plantio; D) obtenção das mudas. Passo Fundo - 2016



Fonte: Figura construída pelo autor com base em imagens próprias, de Fabiola Stockmans de Nardi e de Miriane Dal Picio.

### **5.3.2 Tratamentos e delineamento**

Os tratamentos, delineados em esquema unifatorial, foram oito comunidades de FMA (Tabela 1), coletadas e identificadas de solos em locais-referência no cultivo de morangueiro na paisagem rio-grandense, e uma testemunha (plantas não micorrizadas), dispostos no delineamento inteiramente casualizado, com três repetições. Os solos amostrados foram selecionados de diferentes locais com aptidão agrícola para o cultivo do morangueiro no estado do Rio Grande do Sul, Brasil, de acordo com Specht e Blume (2011).

Tabela 1 - Comunidades de FMA identificadas em solos de locais-referência no cultivo de morangueiro no Rio Grande do Sul. Passo Fundo - 2016/2017

Locais	Ecosistema	Sigla	Coordenadas geográficas	Comunidade micorrízica <sup>1</sup>
Bom Princípio	Agrícola	BP	29° 29' 22" S	<i>Acaulospora koskei</i> , <i>A. rehmi</i> , <i>Claroideogломus</i> aff. <i>luteum</i> , <i>C. claroideum</i> , <i>C. etunicatum</i> , <i>Funneliformis</i> aff. <i>mosseae</i> , <i>Glomus</i> aff. <i>versiforme</i> e <i>Glomus</i> sp. ( <i>caesaris</i> like)
		SC	51° 21' 12" W	
Bom Princípio	Natural	BP	29° 29' 22" S	<i>Acaulospora</i> aff. <i>scrobiculata</i> , <i>A. colossica</i> , <i>A. scrobiculata</i> , <i>Acaulospora</i> sp., <i>Acaulospora</i> sp1 ( <i>E. infrequens</i> like), <i>Acaulospora</i> sp2 ( <i>excavata</i> like), <i>Ambispora leptoticha</i> , <i>Claroideogломus</i> aff. <i>luteum</i> , <i>C. claroideum</i> , <i>C. etunicatum</i> , <i>F. mosseae</i> , <i>G. microaggregatum</i> , <i>Glomus</i> sp1 e <i>Glomus</i> sp2
		MN	51° 21' 12" W	
Flores da Cunha	Agrícola	FC	29° 01' 50" S	<i>C. claroideum</i> , <i>C. etunicatum</i> , <i>Funneliformis</i> aff. <i>geosporum</i> , <i>Glomus</i> aff. <i>versiforme</i> , <i>Glomus</i> sp. ( <i>caesaris</i> like) e <i>Glomus</i> sp2
		SC	51° 11' 30" W	
Flores da Cunha	Natural	FC	29° 01' 50" S	<i>A. colossica</i> , <i>A. koskei</i> , <i>A. lacunosa</i> , <i>A. mellea</i> , <i>A. tuberculata</i> , <i>C. claroideum</i> , <i>Dentiscutata savannicola</i> , <i>F. mosseae</i> , <i>Glomus</i> aff. <i>manihotis</i> , <i>Racocetra</i> sp. e <i>R. verrucosa</i>
		MN	51° 11' 30" W	
Ipê	Agrícola	IP	28° 49' 20" S	<i>A. colossica</i> , <i>Acaulospora</i> sp., <i>Cetraspora pellucida</i> , <i>C. etunicatum</i> , <i>D. erythropha</i> , <i>D. heterogama</i> , <i>D. rubra</i> , <i>Funneliformis</i> aff. <i>geosporum</i> , <i>F. mosseae</i> , <i>Gigaspora</i> sp., <i>Glomus</i> aff. <i>caledonium</i> , <i>Glomus</i> aff. <i>manihotis</i> , <i>Glomus</i> sp. ( <i>caesaris</i> like) e <i>Glomus</i> sp1
		SC	51° 16' 32" W	
Ipê	Natural	IP	28° 49' 20" S	<i>Acaulospora</i> aff. <i>lacunosa</i> , <i>Acaulospora</i> aff. <i>scrobiculata</i> , <i>A. colossica</i> , <i>A. koskei</i> , <i>A. lacunosa</i> , <i>Acaulospora</i> sp. ( <i>colossica</i> like M+), <i>A. spinosa</i> , <i>Claroideogломus</i> aff. <i>luteum</i> , <i>C. etunicatum</i> , <i>D. biornata</i> , <i>F. geosporum</i> , <i>F. mosseae</i> , <i>Glomus</i> sp1, <i>Glomus</i> sp2 e <i>Scutellospora calospora</i>
		MN	51° 16' 32" W	
São José do Hortêncio	Agrícola	SH	29° 29' 33" S	<i>A. foveata</i> , <i>Claroideogломus</i> aff. <i>luteum</i> , <i>C. claroideum</i> , <i>C. etunicatum</i> , <i>Funneliformis</i> aff. <i>geosporum</i> , <i>Funneliformis</i> aff. <i>mosseae</i> , <i>F. mosseae</i> , <i>Glomus</i> aff. <i>versiforme</i> , <i>Glomus</i> sp. ( <i>caesaris</i> like) e <i>Glomus</i> sp2
		SC	51° 12' 24" W	
São José do Hortêncio	Natural	SH	29° 29' 33" S	<i>A. mellea</i> , <i>Acaulospora</i> sp2 ( <i>excavata</i> like), <i>Claroideogломus</i> aff. <i>luteum</i> , <i>C. claroideum</i> , <i>C. etunicatum</i> , <i>F. geosporum</i> , <i>F. mosseae</i> , <i>Gigaspora</i> sp., <i>Glomus</i> aff. <i>heterosporum</i> , <i>Glomus</i> sp1, <i>Glomus</i> sp2 e <i>Scutellospora</i> sp1
		MN	51° 12' 24" W	

Fonte: Dados do autor.

<sup>1</sup>Classificação de Glomeromycota por Redecker et al. (2013).

### 5.3.3 Procedimentos

Em outubro de 2016 (primavera), após quatro semanas de aclimatização, as mudas de morangueiro, cultivar Albion (Figura 1 D), foram transplantadas em vasos de polietileno, com capacidade volumétrica de 9 L, preenchidos com areia esterilizada. Para os tratamentos inoculados com as comunidades de FMA (Tabela 1) adicionou-se 10 g de solo-inoculante, na cova de plantio das mudas, na ocasião do transplante. Os vasos foram mantidos em uma bancada de 1,2 m em relação à superfície do solo.

A irrigação empregada no experimento foi localizada, por meio de hastes gotejadoras, no sistema mecanizado, com vazão de 2,4 L/h por unidade. O regime de irrigação consistiu no acionamento das hastes gotejadoras quatro vezes ao dia, com molhamento total de dez minutos. A fertirrigação fornecida às plantas, semanalmente, foi conforme descrita por Furlani e Fernandes Júnior (2004), de acordo com os estádios de desenvolvimento da cultura (Tabela 2).

Tabela 2 - Concentração de macronutrientes em solução nutritiva para o cultivo sem solo de morangueiro. Passo Fundo - 2016/2017

Estádio	Concentração de macronutrientes (mmol/L) <sup>1</sup>						
	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	NH <sub>4</sub> <sup>-</sup>	K <sup>+</sup>	H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> <sup>-</sup>	Ca <sup>++</sup>	Mg <sup>++</sup>	SO <sub>4</sub> <sup>--</sup>
Vegetativo	8,3	0,8	3,8	1,6	2,6	1,5	1,5
Reprodutivo	8,3	----	4,6	1,6	2,6	1,5	1,5

Fonte: Furlani e Fernandes Júnior (2004).

<sup>1</sup>NO<sub>3</sub><sup>-</sup>: nitrato; NH<sub>4</sub><sup>-</sup>: amônio; K<sup>+</sup>: potássio; H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub><sup>-</sup>: dihidrogenofosfato; Ca<sup>++</sup>: cálcio; Mg<sup>++</sup>: magnésio; SO<sub>4</sub><sup>--</sup>: sulfato.

Os tratamentos fitossanitários aplicados nas plantas estão apresentados na Tabela 3. Após o início da floração, uma colmeia de abelhas (*Apis mellifera* L.) foi posicionada na lateral externa da estufa para auxiliar na polinização. Durante a execução do experimento, por meio de uma miniestação meteorológica, monitorou-se a radiação fotossinteticamente ativa e a temperatura média do ar no interior da estufa, cujos valores médios foram de 208,1  $\mu\text{mol m}^2/\text{s}$  e 20,1 °C, respectivamente.

Tabela 3 - Tratamentos fitossanitário usados no morangueiro. Passo Fundo - 2016/2017

Data	Produto	Classe	Ingrediente ativo	Dose (mL/L de H <sub>2</sub> O)
Novembro de 2016	Ortus 50 SC <sup>®</sup>	Acaricida	fenpiroximato	1
Janeiro de 2017	Malathion 1000 EC <sup>®</sup>	Inseticida	malationa	2
Abril de 2017	Malathion 1000 EC <sup>®</sup>	Inseticida	malationa	2
Mai de 2017	Malathion 1000 EC <sup>®</sup>	Inseticida	malationa	2

As avaliações foram iniciadas após a frutificação das plantas. Foram avaliados atributos morfológicos da parte aérea e do sistema radicial, modelos de qualidade das plantas, acúmulo de massa seca e atributos de produção e de qualidade de frutos.

### 5.3.3.1 Desempenho morfológico do morangueiro

Quanto à morfologia da parte aérea, ao final do experimento mensurou-se o diâmetro da coroa, com paquímetro digital, e a altura da parte aérea das plantas, com régua. Também avaliou-se o número de coroas por planta, a massa fresca e a massa seca da parte aérea. Para obter a massa seca, as plantas foram mantidas em estufa com circulação forçada de ar, a 65 °C durante 48 horas, até massa constante, procedendo à pesagem em balança analítica eletrônica.

Para avaliar a morfologia do sistema radicial das plantas, as raízes foram coletadas e lavadas em água para eliminar os fragmentos do substrato e, posteriormente, foram analisadas por meio de imagens do software WinRHIZO<sup>®</sup>, acoplado a um scanner. Os atributos avaliados foram o comprimento total de raízes (cm), área superficial (cm<sup>2</sup>) e volume radicial (cm<sup>3</sup>). As raízes foram agrupadas pelo software em distintas classes de diâmetro em relação à sua extensão total (BÖHM, 1979, p. 125-138): raízes muito finas ( $\emptyset < 0,5$  mm), raízes finas ( $\emptyset$  de 0,5 a 2 mm) e raízes grossas ( $\emptyset > 2$  mm). Também avaliou-se a massa fresca e seca do sistema radicial, seguindo a metodologia descrita anteriormente para a morfologia da parte aérea.

A qualidade das plantas foi obtida por modelos de desenvolvimento. Assim, determinou-se o índice de qualidade de Dickson (IQD), proposto por Dickson, Leaf e Hosner (1960), pela equação:

$$IQD = \frac{(MST)}{\left(\frac{H}{DC} + \frac{MSPA}{MSR}\right)} \quad (1)$$

onde: MST = massa seca total (g); H = altura da parte aérea (cm); DC = diâmetro da coroa (cm); MSPA = massa seca da parte aérea (g); MSR = massa seca da raiz (g).

Além disso, foi determinado o acúmulo de massa seca (AMS) da parte aérea e do sistema radicial, de acordo com Atif et al. (2016), pela equação:

$$AMS = \left(\frac{\text{massa seca}}{\text{massa fresca}}\right) \times 100 \quad (2)$$

Para verificar a capacidade infectiva das comunidades de FMA porções de raízes das plantas micorrizadas foram preparadas de acordo com Phillips e Hayman (1970) e sua porcentagem de colonização micorrízica foi determinada conforme Trouvelot, Kouch e Gianinazzi-Pearson (1986), pela equação:

$$CM (\%) = \frac{\text{número total de fragmentos com raízes micorrizadas}}{\text{número total de fragmentos}} \times 100 \quad (3)$$

### 5.3.3.2 Rendimento e qualidade fitoquímica de frutos de morango

A partir da frutificação, em dezembro (verão) de 2016, avaliou-se o número e a massa fresca (g) totais de frutos, colhidos quando estavam totalmente maduros. Os frutos foram pesados em balança digital eletrônica. Também foram avaliados os teores de clorofila “a”, “b” e total nas folhas das plantas, com auxílio de clorofilômetro Falker, modelo CFL 1030. Em cada planta foram realizadas 15 medições no terço central do limbo foliar. Os teores de clorofila obtidos foram expressos, de forma adimensional, em índice de clorofila Falker (ICF), proporcionais aos valores medidos em laboratórios (BARBIERI JUNIOR et al., 2012).

Em relação à qualidade fitoquímica do morangueiro, foram avaliadas as características químicas dos frutos referentes ao teor de sólidos solúveis totais (SST),

expresso em °Brix, e acidez total titulável (ATT), expressa em % de ácido cítrico, a partir de 100 g de frutos em cada tratamento. O teor de SST foi determinado em refratômetro analógico, enquanto que a ATT foi realizada de acordo com as normas do Instituto Adolfo Lutz (IAL, 2008, p. 579-580). Para avaliar o sabor dos frutos, determinou-se a relação SST/ATT. No último mês de colheita (novembro de 2017), os frutos colhidos foram acondicionados em sacos plásticos e armazenados a -20 °C para os procedimentos de extração, realizado conforme Revilla, Ryan e Martin-Ortega (1998), e quantificação do teor total de antocianinas (mg EP/100g FF), determinado pelo método de pH diferencial, conforme descrito por Lee, Durst e Wrolstad (2005) e Giusti e Wrolstad (2001, p. 1-13).

### **5.3.3.3 Dissimilaridade morfoagronômica do morangueiro**

Após a obtenção de todos os atributos morfológicos da parte aérea e do sistema radicial, de modelos de qualidade das plantas, de acúmulo de massa seca, de produção e de qualidade de frutos do morangueiro, realizou-se a análise conjunta dos dados de forma descritiva, por meio da análise multivariada.

### **5.3.4 Análise de dados**

Os dados obtidos referentes ao desempenho morfológico, rendimento e qualidade fitoquímica do morangueiro foram submetidos à análise de variância e, quando houve significância, as médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade de erro, com auxílio do programa Genes® (CRUZ, 2016). O atributo massa fresca de frutos foi analisado pela estatística descritiva por meio das medidas referentes à tendência central (média aritmética) e à dispersão (desvio padrão).

Para a exploração conjunta dos atributos avaliados foi realizada a análise multivariada, com auxílio do programa Genes® (CRUZ, 2016). Para verificar a dissimilaridade entre os tratamentos, usou-se a distância de Mahalanobis ( $D^2$ ) e, por meio dela, obteve-se a contribuição relativa dos atributos morfoagronômicos para divergência entre tratamentos, conforme Singh (1981). Em relação ao desempenho morfoagronômico

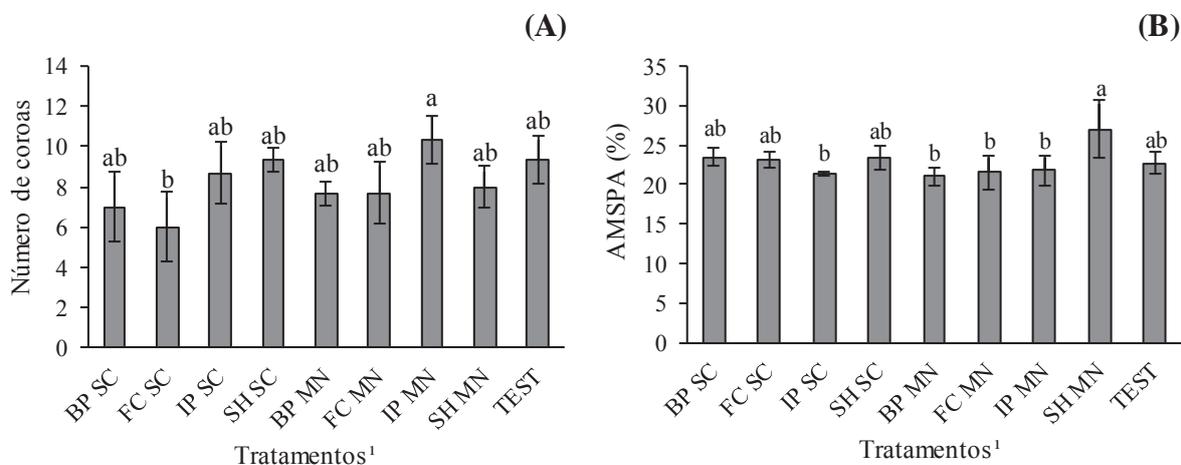
do morangueiro, cultivar Albion, realizou-se a análise de agrupamento dos tratamentos, por meio dos métodos de Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean (UPGMA), com base na matriz da  $D^2$ , e de otimização de Tocher. Após a obtenção do dendrograma pelo UPGMA, o mesmo foi cortado usando como critério 40% de dissimilaridade e o agrupamento foi validado por meio do coeficiente de correlação cofenética (CCC).

## **5.4 Resultados**

### **5.4.1 Desempenho morfológico do morangueiro**

Houve variabilidade entre os tratamentos nos dois atributos morfológicos da parte aérea das plantas de morangueiro, cultivar Albion. Plantas inoculadas com a comunidade micorrízica IP MN foram superiores em 42% e em 10% quanto ao número de coroas em relação às plantas inoculadas com a comunidade FC SC e às plantas não inoculadas, respectivamente (Figura 2 A). Para o acúmulo de massa seca da parte aérea, o efeito da micorrização foi 20% maior em plantas inoculadas com a comunidade SH MN em comparação àquelas inoculadas com as comunidades IP SC, BP MN, FC MN e IP MN (Figura 2 B). Além disso, em relação às plantas não micorrizadas, esse efeito foi 16% maior (Figura 2 B).

Figura 2 - Morfologia da parte aérea de plantas de morangueiro, cultivar Albion, na presença e ausência de inoculação. A) número de coroas; B) acúmulo de massa seca da parte aérea. Passo Fundo - 2017



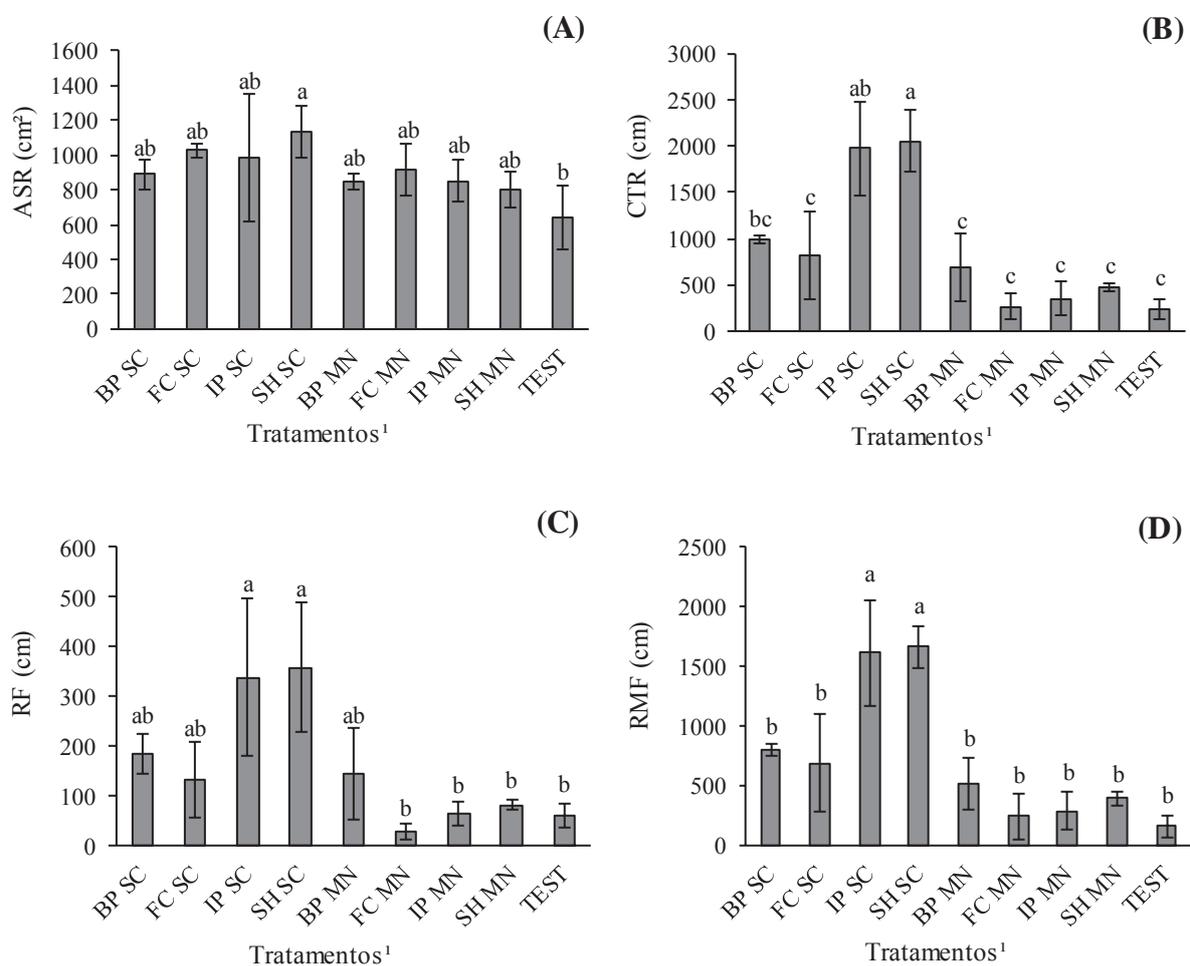
Fonte: Dados do autor.

Nota: Letras distintas sobre as colunas indicam diferença pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ).

<sup>1</sup>BP: Bom Princípio; FC: Flores da Cunha; IP: Ipê; SH: São José do Hortêncio; SC: solo cultivado; MN: solo de mata nativa; TEST: testemunha.

Diferenças foram encontradas na morfologia do sistema radicular. A esse respeito, plantas inoculadas com a comunidade SH SC tiveram área superficial e comprimento total de raízes superiores em 44 e 88%, respectivamente, em relação àquelas não micorrizadas (Figura 3 A e B). Além disso, plantas inoculadas com as comunidades IP SC e SH SC apresentaram sistema radicular mais profuso pois, em média, tiveram 82 e 90% a mais de raízes finas e raízes muito finas, respectivamente, em comparação às plantas desprovidas da micorriza arbuscular (Figura 3 C e D). A morfologia do sistema radicular desses tratamentos, obtida por meio do software WinRHIZO<sup>®</sup>, acoplado a um scanner, pode ser observada na Figura 4.

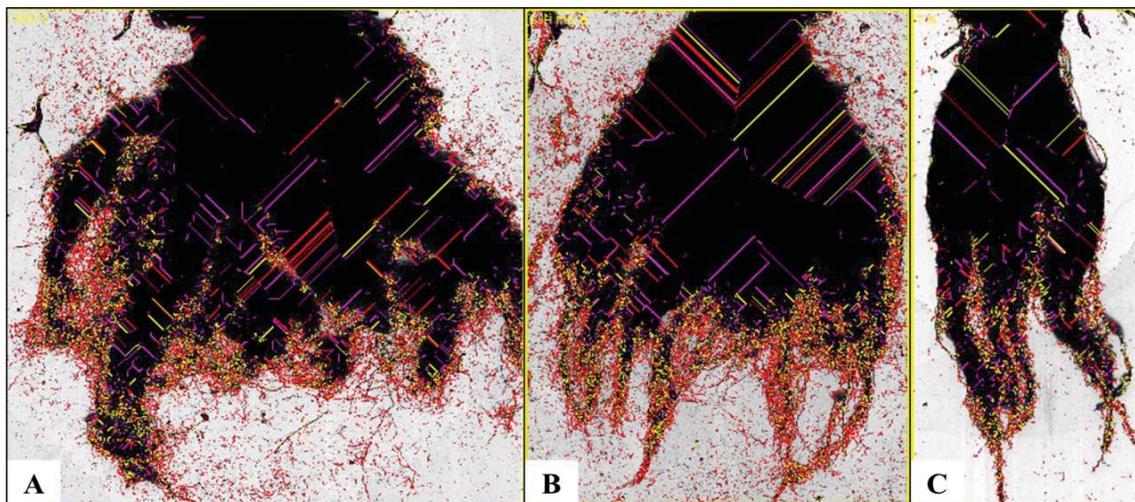
Figura 3 - Morfologia do sistema radicial de plantas de morangueiro, cultivar Albion, na presença e ausência de inoculação. A) área superficial radicial; B) comprimento total radicial; C) raízes finas; D) raízes muito finas. Passo Fundo – 2017



Nota: Letras distintas sobre as colunas indicam diferença pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ).

<sup>1</sup>BP: Bom Princípio; FC: Flores da Cunha; IP: Ipê; SH: São José do Hortêncio; SC: solo cultivado; MN: solo de mata nativa; TEST: testemunha.

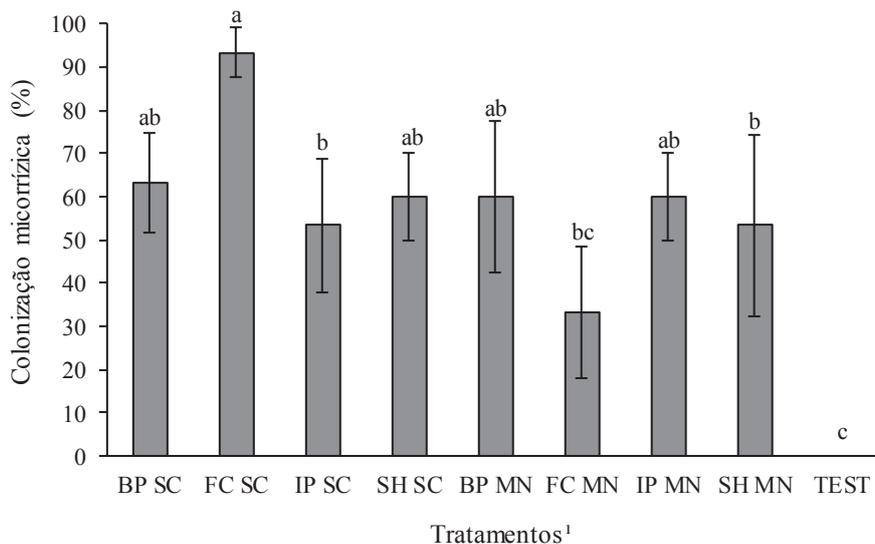
Figura 4 - Sistema radicial de plantas inoculadas com as comunidades micorrízicas IP SC (A), SH SC (B) e de planta desprovida de inoculação (C). Passo Fundo - 2017



Fonte: Imagens do autor.

Discriminações foram obtidas quanto à capacidade infectiva das comunidades de FMA nas raízes das plantas inoculadas. A comunidade FC SC apresentou 64% a mais de colonização micorrízica em relação à comunidade FC MN (Figura 5), sendo esta a maior diferença obtida entre os tratamentos. Por outro lado, ao comparar os inóculos de solos cultivados (SC) com os de mata nativa (MN) da mesma localidade, verificou-se que em Ipê (IP) houve variação de 11% da MN para SC, enquanto em São Jose do Hortêncio (SH) a variação foi de 11% do SC para MN (Figura 5). Não houve infecção posterior das plantas desprovidas de inoculação micorrízica (Figura 5).

Figura 5 - Capacidade infectiva de comunidades de FMA em raízes de morangueiro, cultivar Albion. Passo Fundo - 2017



Nota: Letras distintas sobre as colunas indicam diferença pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ).

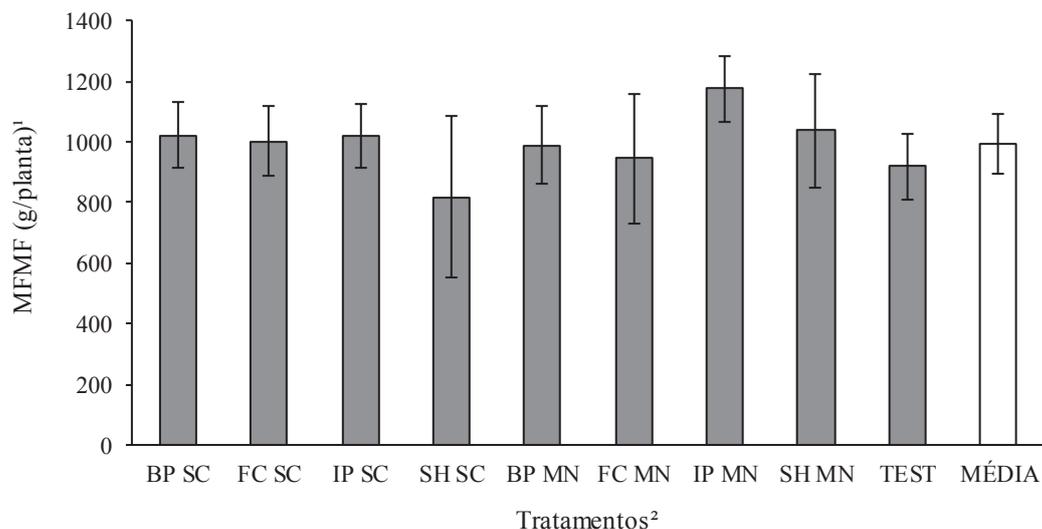
¹BP: Bom Princípio; FC: Flores da Cunha; IP: Ipê; SH: São José do Hortêncio; SC: solo cultivado; MN: solo de mata nativa; TEST: testemunha.

#### 5.4.2 Rendimento e qualidade fitoquímica de frutos de morango

Com aproximadamente um (1) ano de colheita de morangos a média total por planta foi de  $1 \text{ kg} \pm 0,096 \text{ kg}$ , considerando plantas com e sem inoculação. Entre as plantas inoculadas, a maior produção foi observada naquelas desenvolvidas na presença da comunidade IP MN, com  $1,17 \text{ kg} \pm 0,10 \text{ kg}$ , que produziram 22% a mais em relação às plantas não inoculadas com FMA (Figura 6), mostrando incremento na produção em 254,78 g/planta ou 267,5 kg/estufa de 500 m<sup>2</sup>. O peso médio dos frutos foi de 10,88 g e 11 g para os tratamentos IP MN e testemunha, respectivamente.

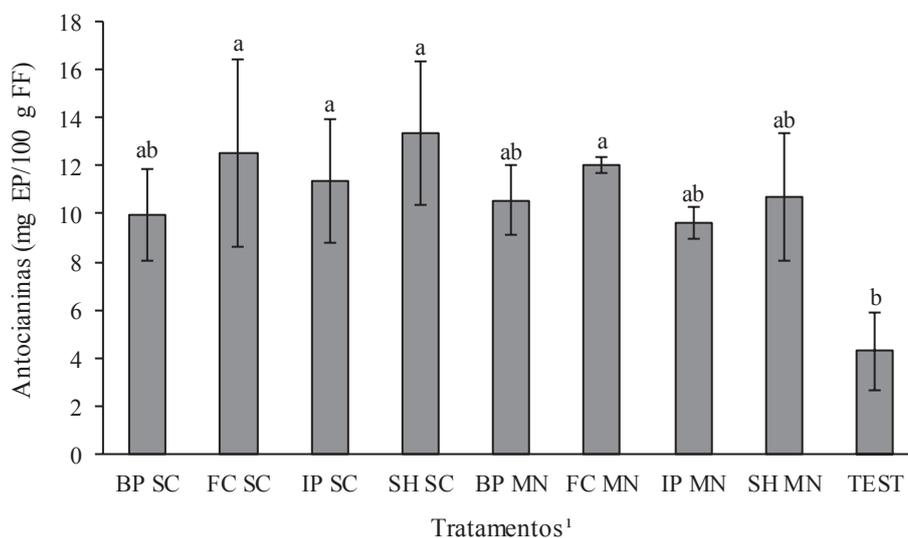
O efeito da inoculação também foi observado no teor de antocianinas em frutos da cultivar Albion. Plantas micorrizadas apresentaram teores de antocianinas superiores às plantas não micorrizadas (Figura 7). Destacaram-se, em ordem decrescente, aquelas inoculadas com as comunidades SH SC, FC SC, FC MN e IP SC, apresentando em média 65% a mais de antocianinas em relação aos frutos de plantas não micorrizadas (Figura 7).

Figura 6 - Produção acumulada de frutos de morangueiro, cultivar Albion, na presença e ausência de inoculação. Passo Fundo - 2017



<sup>1</sup>MEMF: massa fresca média de frutos. <sup>2</sup>BP: Bom Princípio; FC: Flores da Cunha; IP: Ipê; SH: São José do Hortêncio; SC: solo cultivado; MN: solo de mata nativa; TEST: testemunha.

Figura 7 - Teor de antocianinas em frutos de morangueiro, cultivar Albion, na presença e ausência de inoculação. Passo Fundo - 2017



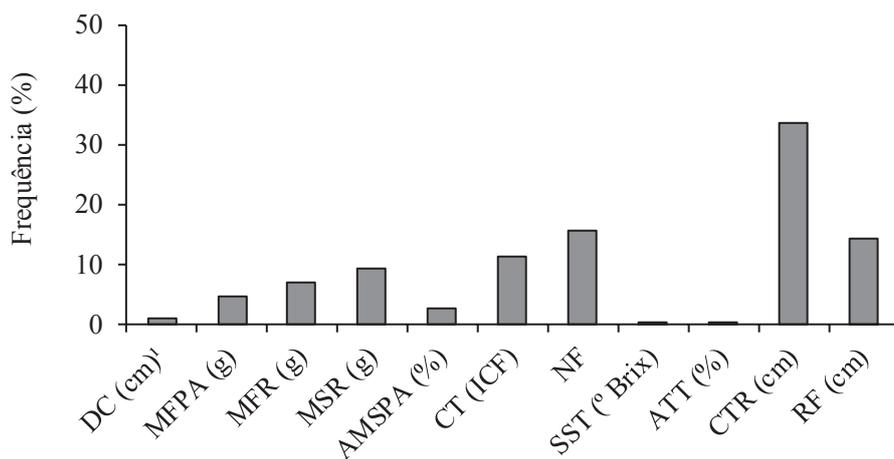
Nota: Letras distintas sobre as colunas indicam diferença pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ).

<sup>1</sup>BP: Bom Princípio; FC: Flores da Cunha; IP: Ipê; SH: São José do Hortêncio; SC: solo cultivado; MN: solo de mata nativa; TEST: testemunha.

### 5.4.3 Dissimilaridade morfoagronômica do morangueiro

Por meio da análise multivariada, observou-se que houve dissimilaridade entre as plantas de morangueiro. Pela distância de Mahalanobis ( $D^2$ ), os tratamentos mais dissimilares foram IP MN e TEST ( $D^2 = 129.321.259,46$ ) e os tratamentos mais similares foram BP SC e FC SC ( $D^2 = 3.142.134,08$ ). Os atributos que mais contribuíram para divergência, em ordem decrescente de importância, foram o comprimento total radicial, o número de frutos e as raízes finas, que juntos explicaram 63% da variabilidade entre os tratamentos (Figura 8).

Figura 8 - Contribuição relativa dos atributos morfofisiológicos, produtivos e qualitativos para dissimilaridade entre plantas de morangueiro, cultivar Albion. Passo Fundo - 2017



<sup>1</sup>DC: diâmetro da coroa; MFPA: massa fresca da parte aérea; MFR: massa fresca da raiz; MSR: massa seca da raiz; AMSPA: acúmulo de massa seca da parte aérea; CT: clorofila total; NF: número de frutos; SST: sólidos solúveis totais; ATT: acidez total titulável; CTR: comprimento total radicial; RF: raízes finas.

Considerando os tratamentos, dois grupos foram gerados pelo método de UPGMA, com base na matriz de distância de Mahalanobis e pelo método de otimização de Tocher. Com base na matriz da distância de Mahalanobis, a dissimilaridade foi ilustrada por dendrograma gerado pelo método de UPGMA (Figura 9), cujo ajuste, calculado pelo coeficiente de correlação cofenética, foi de 86%, indicando adequação do



cascata de sinalizações é iniciada, incluindo um fator difusível dos FMA chamado de “fator Myc”, que estimula a formação de raízes mais finas (OLÁH et al., 2005), alterando a morfologia do sistema radicial das plantas. Além disso, as modificações radiciais sob a micorrização podem estar relacionadas à alocação de açúcares às raízes (WU; LI; ZOU, 2011) e à regulação hormonal (ZOU et al., 2017), independente da sinalização simbiótica (GUTJAHR; CASIERI; PASZKOWSKI, 2009). Outras pesquisas também evidenciaram que o uso de FMA no morangueiro beneficiou o sistema radicial da cultura (FAN et al., 2011; SINCLAIR et al., 2014).

Como a interface hospedeiro-fungo é um processo dinâmico, quanto mais raízes finas houver nas plantas micorrizadas maiores serão as chances de colonização por FMA (ZOU et al., 2017), fato que pode indicar melhorias na aquisição de água e nutrientes pela planta (SINCLAIR et al., 2014), pois essas raízes estão associadas à formação de FMA (MARSCHNER, 2012, p. 369-388) e são as que mais adquirem e usam os recursos disponíveis no solo e/ou substrato (MCCORMACK et al., 2015). Mesmo os resultados mostrando que as plantas inoculadas com as comunidades micorrízicas IP SC e SH SC apresentaram maior comprimento de raízes finas e muito finas (Figura 3), não foram essas as que tiveram maior colonização micorrízica (Figura 5). Estudos evidenciaram que a capacidade infectiva de uma raiz não é por si só um indicador do benefício micorrízico (HART et al., 2013; ROBINSON-BOYER et al., 2016). Para a detecção de FMA utiliza-se o método da coloração de raízes (PHILLIPS; HAYMAN, 1970) e esta metodologia não demonstra o potencial da colonização micorrízica presente em todo o sistema radicial.

A ausência de efeito significativo no desempenho produtivo do morangueiro em relação à micorrização (Figura 6) sugeriu que se o cultivo das plantas micorrizadas fosse mantido por um período mais prolongado (2 anos) poderia haver incremento significativo na produção de frutos em relação às plantas não micorrizadas, o que já foi confirmado em outro estudo (ROBINSON-BOYER et al., 2016), pois a inoculação com FMA no morangueiro produz respostas diferentes em termos de rendimento (KORON; SONJAK; REGVAR, 2014). Cabe ressaltar que os nutrientes ministrados durante o cultivo não estavam em níveis limitantes para o morangueiro (Tabela 3), assim o efeito da inoculação pode não ter sido potencializado quanto ao rendimento de frutos. Porém, o incremento na

produção obtido quando as plantas foram inoculadas com a comunidade IP MN, em relação às plantas não micorrizadas, representa um acréscimo de 0,53 kg/m<sup>2</sup>, ou seja, 5,3 t/ha, o que se torna bastante rentável do ponto de vista dos produtores de morango.

Por outro lado, comprovou-se o benefício da micorrização na qualidade dos frutos por meio do teor de antocianinas (Figura 7), confirmando o obtido em outros estudos (CASTELLANOS-MORALES et al., 2010; CECATTO et al., 2016; LINGUA et al., 2013). É conhecido o efeito da micorriza arbuscular no metabolismo secundário das plantas, resultando na biossíntese reforçada de fitoquímicos com propriedades benéficas à saúde (BASU; RABARA; NEGI, 2018; SBRANA; AVIO; GIOVANETTI, 2014), a exemplo das antocianinas. Assim, essa maior concentração de antocianinas nos frutos pode ser atribuída à ativação de uma resposta de defesa do hospedeiro, mediante à colonização micorrízica (LINGUA et al., 2013; ROUPHAEL et al., 2015), pelo aumento da atividade de seu metabolismo secundário. O aumento no teor dessas biomoléculas também pode ser causado pela maior concentração de precursores desses compostos, que pode ter sido otimizada por meio da inoculação micorrízica no morangueiro. Além disso, a atividade de enzimas-chave que beneficia a formação de flavonoides pode ser aumentada com a inoculação micorrízica (ZHANG et al., 2013).

O metabolismo das plantas é dividido em metabolismo primário, referente a processos fotossintéticos e biossintéticos, e em metabolismo secundário ou especializado, expresso a partir de estímulos bióticos e/ou abióticos e de mecanismos de defesa dos vegetais (DEBORDE et al., 2017; KIM; BUELL, 2015). Como os metabólitos secundários derivam do metabolismo primário (DEBORDE et al., 2017), não há equilíbrio contínuo na atividade de ambos os metabolismos na planta (GOBBO-NETO; LOPES, 2007). Assim, presumiu-se que em um (1) ano de cultivo do morangueiro, cultivar Albion, o efeito da micorrização foi verificado na substância antocianina (metabolismo secundário), não ocorrendo simultaneamente uma resposta significativa no desempenho produtivo (metabolismo primário). Durante a associação entre hospedeiro-fungo, em situações de estresse, as plantas micorrizadas ativaram seu metabolismo secundário, como forma de defesa, e produziram mais antocianinas (Figura 7). Nesse momento, o metabolismo secundário das plantas foi intensificado e, com isso, o

metabolismo primário teve sua atividade reduzida, pois seus produtos foram precursores dos metabólitos secundários. Portanto, acredita-se que se as plantas micorrizadas permanecessem por mais tempo sob cultivo, após uma equiparação entre metabolismos, poderia haver maior efeito quanto à produção de frutos.

No entanto, em pelo menos um (1) ano de cultivo houve indicação de alguns fungos presentes nas comunidades micorrízicas que podem ter proporcionado maiores benefícios às plantas. Assim, sugere-se que as espécies *C. claroideum*, *C. etunicatum*, *F. mosseae* e *Glomus* sp2 favoreçam o crescimento e desenvolvimento das plantas de morangueiro, pois foram as quatro espécies coincidentes nas comunidades que mostraram efeitos quanto ao desempenho morfoagronômico dessa hortícola. Entretanto, considerando apenas a qualidade dos frutos, as cinco espécies em maior igualdade nas comunidades que potencializaram o teor antociânico de morangos foram *C. claroideum*, *C. etunicatum*, *F. mosseae*, *Funneliformis* aff. *geosporum* e *Glomus* sp. (*caesaris* like). Por fim, as espécies *C. etunicatum* e *F. mosseae* foram aquelas mais coincidentes nas comunidades que beneficiaram, ao mesmo tempo, a produção e qualidade de frutos. Essas informações não são atribuídas à especificidade dessas espécies com o morangueiro, pois não avaliou-se a diversidade radicial de FMA e assim não foi possível saber quais espécies que colonizaram as raízes. No entanto, a metodologia não invalidou os resultados, pois sinalizou espécies simbiotes com o morangueiro. Além disso, os resultados desse estudo são inéditos ao determinar a influência da biotecnologia micorrízica por meio de comunidades obtidas de locais-referência no cultivo do morangueiro.

Portanto, os resultados da pesquisa confirmaram o potencial de aplicar a biotecnologia micorrízica no morangueiro, pois o trabalho demonstrou que os FMA podem ser uma ferramenta valiosa para o cultivo dessa importante cultura hortícola. As funções complexas dos FMA em agroecossistemas estão apenas começando a ser entendidas (GARLAND; SCHROEDER-MORENO, 2011). Dessa forma, uma maior compreensão da aplicação e dos benefícios dos FMA pode viabilizar seu uso na produção sustentável de hortaliças (ROBINSON-BOYER et al., 2016). Assim, esse estudo foi o primeiro a avaliar os efeitos dos FMA, oriundos de locais com aptidão agrícola para o

cultivo de morangueiro na paisagem rio-grandense, quanto ao desempenho morfoagronômico dessa cultura.

## **5.6 Conclusões**

Em conclusão, os dados mostram efeito positivo no desempenho morfoagronômico das plantas de morangueiro quando estas são inoculadas com comunidades de FMA oriundas de locais-referência no cultivo do morangueiro na paisagem rio-grandense. Em adição, constata-se que plantas micorrizadas apresentam sistema radicial mais profuso e potencializam a qualidade dos frutos pelo aumento do teor antociânico. Com apenas um (1) ano de produção de morangueiro, cultivar Albion, o efeito das comunidades micorrízicas é distinto para produção e teor antociânico. Para que ocorra o benefício desses microrganismos sobre os metabolismos primário e secundário das plantas, sugere-se aos produtores de morangueiro e aos pesquisadores da área que conduzam as plantas por no mínimo dois ciclos de cultivo, monitorando o desempenho agrônômico em cada safra. Assim, como os metabolismos primário e secundário das plantas não agem em equilíbrio de forma contínua, este manejo no sistema de cultivo do morangueiro permitirá a indicação de uma comunidade de FMA que atenda aos dois propósitos.

## 6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Como a caracterização das comunidades micorrízicas em alguns ecossistemas ainda é fragmentária, este estudo de levantamento representa a primeira tentativa de compreender a estruturação (capítulo I) e a diversidade (capítulo II) de comunidades de FMA na micorrizosfera de solos em locais-referência no cultivo de morangueiro na paisagem rio-grandense. A heterogeneidade espacial de FMA nos ecossistemas estudados no subtropico brasileiro indica que os solos amostrados são importantes para a manutenção da diversidade desses microrganismos.

Devido à esporulação de FMA ser influenciada pela sazonalidade ambiental, sugere-se pesquisas em que as coletas de solos ocorram nas diferentes estações do anos, permitindo que seja verificada a heterogeneidade temporal de FMA. Além disso, em continuidade ao trabalho, propõem-se estudos para investigar a ocorrência de FMA em solos sob cultivo do morangueiro em outros municípios rio-grandenses, de modo que sejam obtidos dados para melhorar a compreensão sobre a estruturação e a diversidade desses microrganismos nos agroecossistemas.

O trabalho confirma que a diversidade de FMA é maior nos solos naturais, com pluralidade de hospedeiros (espécies vegetais pertencentes às Florestas Estacional Decidual e Ombrófila Mista) e em solos pouco antropizados. Esta afirmação permite atrelar a maior dinâmica populacional de FMA à inexistência de manejo dos solos e de práticas agrícolas em ecossistemas naturais.

Considerando as 42 espécies de FMA identificadas nos solos estudados, dentre as duas espécies micorrízicas dominantes a ocorrência de *C. etunicatum* parece ser afetada negativamente pelo excesso de Mn no solo. Porém, para confirmar essa hipótese, sugere-se a execução de estudos que permitam explicar a real influência do Mn sobre *C.*

*etunicatum*. Em adição, este levantamento micorrízico pode servir de suporte às pesquisas que visam o desenvolvimento de inoculantes comerciais ou sua produção *on-farm*, de modo que os produtores de morangueiro sejam beneficiados quanto ao desenvolvimento de ferramentas biotecnológicas.

Supondo que as espécies micorrízicas dominantes possam ter maiores possibilidades de colonizar o morangueiro, sua aplicação nessa cultura pode ser uma alternativa para potencializar o rendimento e/ou a qualidade dos frutos. Porém, sugere-se que estudos adicionais sejam realizados para investigar aspectos de especificidade entre os FMA e cultivares de morangueiro.

Os resultados deste trabalho também confirmam que há efeito positivo dos FMA no crescimento, desenvolvimento e qualidade do morangueiro cultivado em ambiente protegido (capítulo III), sinalizando que esses microrganismos podem ser uma ferramenta biotecnológica importante para o cultivo sustentável dessa hortícola. Contudo, para possibilitar efeito significativo no desempenho produtivo das plantas, sugere-se aos produtores de morangueiro e pesquisadores da área que conduzam o cultivo do morangueiro por, no mínimo, dois ciclos de produção. No entanto, considerando que o custo para produzir uma planta de morangueiro, no cultivo em substrato, corresponde a R\$ 6,00/planta e que em estufa de 500 m<sup>2</sup> são cultivadas 2.520 plantas, o incremento de 267,5 kg nessa área representa uma redução em 18% no custo de produção.

Em consonância à sustentabilidade, este estudo mostra uma redução em 50% quanto aos tratamentos fitossanitários aplicados no morangueiro (Tabela 3, capítulo III, p. 69), considerando que durante o ciclo da cultura, de modo geral, são feitas oito aplicações de biocidas. Este benefício ambiental é possível graças à micorriza arbuscular proporcionar proteção às plantas contra estresses bióticos.

A essência da associação micorrízica é o benefício na produção e qualidade de culturas hortícolas de forma ambientalmente sustentável. Entretanto, neste trabalho e em outros estudos desenvolvidos pela equipe do Laboratório de Ecofisiologia Vegetal da UPF (CECATTO et al., 2016; PEDERSEN, 2016, p. 68-95) não foi possível encontrar o

benefício da micorrização, de forma conjunta, no rendimento e na qualidade de morangos. Contudo, sabe-se que os efeitos lucrativos máximos aos vegetais só serão alcançados mediante à seleção e otimização de inoculantes micorrízicos. Assim, as espécies *C. etunicatum* e *F. mosseae* necessitam ser mais estudadas, pois beneficiam, ao mesmo tempo, a produção e a qualidade de frutos. Dessa forma, a inoculação micorrízica poderá tornar-se uma ferramenta biotecnológica efetiva e sustentável para potencializar a cadeia produtiva do morangueiro.

## 7 CONCLUSÃO GERAL

Em conclusão, este estudo é o primeiro a fornecer informações sobre a estruturação, diversidade e uso de comunidades de FMA, presentes na microbiota de solos agrícolas e naturais, em locais-referência para o cultivo do morangueiro no sul do Brasil. A micorrizosfera desses solos é constituída por 42 espécies desses microrganismos, das quais *C. claroideum* e *C. etunicatum* são generalistas, independente do ecossistema. Hipotetiza-se que os solos com elevados teores de Mn afetam negativamente a ocorrência da espécie *C. etunicatum*. Em adição, confirma-se que há maior diversidade de FMA em solos naturais devido à inexistência de antropização dos ecossistemas e que a aplicação das comunidades micorrízicas identificadas tem efeito positivo no desempenho morfoagronômico das plantas de morangueiro, com destaque ao sistema radicial das plantas e ao teor antociânico dos frutos.

## REFERÊNCIAS

- ABD-ALLAH, E. F.; HASHEM, A.; ALQARAWI, A. A.; BAHKALI, A. H.; ALWHIBI, M. S. Enhancing growth performance and systemic acquired resistance of medicinal plant *Sesbania sesban* (L.) Merr using arbuscular mycorrhizal fungi under salt stress. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 22, p. 274-283, 2015.
- AHANGER, M. A.; ABEER, H.; ABD-ALLAH, E. F.; AHMAD, P. Arbuscular mycorrhiza in crop improvement under environmental stress. In: AHMAD, P.; RASOOL, S. (Ed). **Emerging technologies and management of crop stress tolerance**, vol. 2: a sustainable approach. USA: Academic Press, 2014. p. 69-95.
- AKHATOU, I.; GONZÁLEZ-DOMÍNGUEZA, R.; FERNÁNDEZ-RECAMALESA, A. Investigation of the effect of genotype and agronomic conditions on metabolomics profiles of selected strawberry cultivars with different sensitivity to environmental stress. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 101, p. 14-22, 2016.
- ALGUACIL, M. M.; TORRECILLAS, E.; LOZANO, Z.; ROLDÁN, A. Arbuscular mycorrhizal fungi communities in a coral cay system (Morrocoy, Venezuela) and their relationships with environmental variables. **Science of The Total Environment**, v. 505, p. 805-813, 2015.
- ALGUACIL, M. M.; TORRES, M. P.; MONTESINOS-NAVARRO, A.; ROLDÁNA, A. Soil characteristics driving arbuscular mycorrhizal fungal communities in Semiarid Mediterranean soils. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 82, n. 11, p. 3348-3356, 2016.
- ALLEN, M. F. Linking water and nutrients through the vadose zone: a fungal interface between the soil and plant systems. **Journal of Arid Land**, v. 3, n. 3, p. 155-163, 2011.
- AL-QARAWI, A. A.; MRIDHA, M. A. U.; DHAR, P. P. Report of *Funneliformis mosseae* (Nicol. & Gerd.) Gerd. and Trappe from rangeland soil of Saudi Arabia. **Research Journal of Biotechnology**, v. 8, n. 2, p. 96-99, 2013.
- AL-YAHYA'EI, M. N.; OEHL, F.; VALLINO, M.; LUMINI, E.; REDECKER, D.; WIEMKEN, A.; BONFANTE, P. Unique arbuscular mycorrhizal fungal communities uncovered in date palm plantations and surrounding desert habitats of Southern Arabia. **Mycorrhiza**, v. 21, n. 3, p. 195-209, 2011.

- ANDRADE, C. A. W.; MIGUEL, A. C. A.; SPRICIGO, P. C.; DIAS, C. T. S.; JACOMI, A. P. Comparison of quality between organic and conventional strawberries from multiple farms. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 39, n. 2, e-045, 2017.
- ANDRANGO, C.; CUEVA, C.; VIERA, W.; DUCHICELA, J. Evaluation of methods to estimate mycorrhizal inoculum potential in field soils. **Revista Ciencia**, v. 18, n. 3, p. 329-352, 2016.
- ANTUNES, L. E. C.; PERES, N. Strawberry production in Brazil and South America. **International Journal of Fruit Science**, v. 13, p. 156-161, 2013.
- ATIF, M. J.; JELLANI, G.; MALIK, M. H. A.; SALEEM, N.; ULLAH, H.; KHAN, M. Z.; IKRAM, S. Different growth media effect the germination and growth of tomato seedlings. **Science, Technology and Development**, v. 35, n. 3, p. 123-127, 2016.
- AVIO, L.; SBRANA, C.; GIOVANNETTI, M.; FRASSINETTI, S. Arbuscular mycorrhizal fungi affect total phenolics content and antioxidante activity in leaves of oak leaf lettuce varieties. **Scientia Horticulturae**, v. 224, p. 265-271, 2017.
- BABU, A. G.; REDDY, M. S. Diversity of arbuscular mycorrhizal fungi associated with plants growing in fly ash pond and their potential role in ecological restoration. **Current Microbiology**, v. 63, p. 273-280, 2011.
- BAINARD, L. D.; BAINARD, J. D.; HAMEL, C.; GAN, Y. Spatial and temporal structuring of arbuscular mycorrhizal communities is differentially influenced by abiotic factors and host crop in a semi-arid prairie agroecosystem. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 88, n. 2, p. 333-344, 2014.
- BAINARD, L. D.; DAI, M.; FURRAZOLA-GÓMEZ, E.; TORRES-ARIAS, Y.; BAINARD, J. D.; SHENG, M.; EILERS, W.; HAMEL, C. Arbuscular mycorrhizal fungal communities are influenced by agricultural land use and not soil type among the Chernozem great groups of the Canadian Prairies. **Plant and Soil**, v. 387, p. 351-362, 2015.
- BALOTA, E. L.; MACHINESKI, O.; STENZEL, N. M. C. Resposta da acerola à inoculação de fungos micorrízicos arbusculares em solo com diferentes níveis de fósforo. **Bragantia**, v. 70, n. 1, p.166-175, 2011.
- BALZERGUE, C.; PUECH-PAGÈS, V.; BÈCARD, G.; ROCHANGE, S. F. The regulation of arbuscular mycorrhizal symbiosis by phosphate in pea involves early and systemic signalling events. **Journal of Experimental Botany**, v. 62, n. 3, p. 1049-1069, 2011.
- BARBIERI JUNIOR, E.; ROSSIELLO, R. O. P.; SILVA, R. V. M. M.; RIBEIRO, R. C.; MORENZ, M. J. F. Um novo clorofilômetro para estimar os teores de clorofila em folhas do capim Tifton 85. **Ciência Rural**, v. 42, n. 12, p. 2242-2245, 2012.

- BARDGETT, R. D.; VAN DER PUTTEN, W. H. Belowground biodiversity and ecosystem functioning. **Nature**, v. 515, p. 505-511, 2014.
- BASLAM, M.; GARMENDIA, I.; GOICOECHEA, N. Arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) improved growth and nutritional quality of greenhouse-grown lettuce. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 59, p. 5504-5515, 2011.
- BASU, S.; RABARA, R. C.; NEGI, S. AMF: the future prospect for sustainable agriculture. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v. 102, p. 36-45, 2018.
- BENDER, S. F.; WAGG, C.; VAN DER HEIJDEN, M. G. A. An underground revolution: biodiversity and soil ecological engineering for agricultural sustainability. **Trends in Ecology & Evolution**, v. 31, n. 6, p.440-452, 2016.
- BERRUTI, A.; BORRIELLO, R.; ORGIAZZI, A.; BARBERA, A. C.; LUMINI, E.; BIANCIOTTO, V. Arbuscular mycorrhizal fungi and their value for ecosystem management. In: GRILLO, O. (Ed.). **Biodiversity: the dynamic balance of the planet**. Croacia: Intec, 2014. p. 159-191.
- BERRUTI, A.; LUMINI, E.; BALESTRINI, R.; BIANCIOTTO, V. Arbuscular mycorrhizal fungi as natural biofertilizers: let's benefit from past successes. **Frontiers in Microbiology**, v. 6, n. 1559, p. 1-13, 2016.
- BLASZKOWSKI, J. **Glomeromycota**. Kraków: W. Szafer Institute of Botany, Polish Academy of Sciences, 2012. 303 p.
- BLASZKOWSKI, J.; CHWAT, G.; GOTO, B. T. *Rhizophagus natalensis*, a new species in the Glomeromycota. **Mycotaxon**, v. 129, p. 97-108, 2014.
- BÖHM, W. **Methods of studying root systems**. Berlin: Springer-Verlag, 1979. 188 p.
- BONA, E.; LINGUA, G.; MANASSERO, P.; CANTAMESSA, S.; MARSANO, F.; TODESCHINI, V.; COPETTA, A.; D'AGOSTINO, G.; MASSA, N.; AVIDANO, L.; GAMALERO, E.; BERTA, G. AM fungi and PGP pseudomonads increase flowering, fruit production, and vitamin content in strawberry grown at low nitrogen and phosphorus levels. **Mycorrhiza**, v. 25, p. 181-193, 2015.
- BORKOWSKA, B. Growth and photosynthetic activity of micropropagated strawberry plants inoculated with endomycorrhizal fungi (AMF) and growing under drought stress. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 24, n. 4, p. 365-370, 2002.
- BORRIELLO, R.; BERRUTI, A.; LUMINI, E.; DELLA BEFFA, M. T.; SCARIOT, V.; BIANCIOTTO, V. Edaphic factors trigger diverse AM fungal communities associated to exotic camellias in closely located Lake Maggiore (Italy) sites. **Mycorrhiza**, v. 25, p. 253-265, 2015.

BROWER, J. E.; ZAR, J. H. **Field and laboratory methods for general ecology**. 2. ed. Dubuque: Wm. C. Brown Company Publishers, 1984. 226 p.

CASAZZA, G.; LUMINI, E.; ERCOLE, E.; DOVANA, F.; GUERRINA, M.; ARNULFO, A.; MINUTO, L.; FUSCONI, A.; MUCCIARELLI, M. The abundance and diversity of arbuscular mycorrhizal fungi are linked to the soil chemistry of screes and to slope in the Alpic paleo-endemic *Berardia subacaulis*. **Plos One**, v. 12, n. 2, e-0171866, 2017.

CASTELLANOS-MORALES, V.; VILLEGAS, J.; WENDELIN, S.; VIERHEILIG, H.; EDER, R.; CARDENAS-NAVARRO, R. Root colonization by the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* alters the quality of strawberry fruits (*Fragaria x ananassa* Duch.) at different nitrogen levels. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 90, p. 1774-1782, 2010.

CASTILLO, C. G.; BORIE, F.; OEHL, F.; SIEVERDING, E. Arbuscular mycorrhizal fungi biodiversity: prospecting in Southern-Central zone of Chile. A review. **Journal of Soil Science and Plant Nutrition**, v. 16, n. 2, p. 400-422, 2016.

CECATTO, A. P.; RUIZ, F. M.; CALVETE, E. O.; MARTÍNEZ, J.; PALENCIA, P. Mycorrhizal inoculation affects the phytochemical content in strawberry fruits. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 38, n. 2, p. 227-237, 2016.

CHABAUD, M.; GENRE, A.; SIEBERER, B. J.; FACCIO, A.; FOURNIER, J.; NOVERO, M.; BARKER, D. G.; BONFANTE, P. Arbuscular mycorrhizal hyphopodia and germinated spore exudates trigger Ca<sup>2+</sup> spiking in the legume and nonlegume root epidermis. **New Phytologist**, v. 189, n. 1, p. 347-355, 2011.

CHAUDHARY, V. B.; O'DELL, T. E.; RILLIG, M. C.; JOHNSON, N. C. Multiscale patterns of arbuscular mycorrhizal fungal abundance and diversity in semiarid shrublands. **Fungal Ecology**, v. 12, p. 32-43, 2014.

CICCOLINI, V.; BONARI, E.; PELLEGRINO, E. Land-use intensity and soil properties shape the composition of fungal communities in Mediterranean peaty soils drained for agricultural purposes. **Biology and Fertility of Soils**, v. 51, p. 719-731, 2015.

CORRADI, N.; BONFANTE, P. The arbuscular mycorrhizal symbiosis: origin and evolution of a beneficial plant infection. **Plos Pathogens**, v. 8, n. 4, e-1002600, 2012.

COSTA, H. A. O.; STÜRMER, S. L.; RAGONEZI, C.; GRAZZIOTTI, P. H.; GRAZZIOTTI, D. C. F. S.; SILVA, E. B. Species richness and root colonization of arbuscular mycorrhizal fungi in *Syngonanthus elegans*, an endemic and threatened species from the Cerrado domain in Brazil. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 40, n. 3, p. 326-336, 2016.

- COSTA, R. C.; CALVETE, E. O.; MENDONÇA, H. F. C.; CAMPAGNOLO, A.; CHIOMENTO, J. L. T. Performance of day-neutral strawberry cultivars in soilless culture. **Australian Journal of Crop Science**, v. 10, n. 1, p. 94-100, 2016.
- COSTA, R. C.; CALVETE, E. O.; MENDONÇA, H. F. C.; CECATTO, A. P. Phenology, phyllochron, and gas exchanges in frigo and fresh strawberry (*Fragaria x ananassa* Duch.) plants of cv. Albion. **Australian Journal of Crop Science**, v. 8, n. 6, p. 901-908, 2014.
- COUTINHO, E. S.; FERNANDES, G. W.; BERBARA, R. L. L.; VALÉRIO, H. M.; GOTO, B. T. Variation of arbuscular mycorrhizal fungal communities along an altitudinal gradient in rupestrian grasslands in Brazil. **Mycorrhiza**, v. 25, n. 8, p. 627-638, 2015.
- CRUZ, C. D. Genes software - extended and integrated with the R, Matlab and Selegen. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 38, n. 4, p. 547-552, 2016.
- DA SILVA, I. R.; DE MELLO, C. M. A.; FERREIRA NETO, R. A.; DA SILVA, D. K. A.; DE MELO, A. L.; OEHL, F.; MAIA, L. C. Diversity of arbuscular mycorrhizal fungi along an environmental gradient in the Brazilian semiarid. **Applied Soil Ecology**, v. 84, p. 166-175, 2014.
- DAI, M.; BAINARD, L. D.; HAMEL, C.; GAN, Y.; LYNCH, D. Impact of land use on arbuscular mycorrhizal fungal communities in rural Canada. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 79, n. 21, p. 6719-6729, 2013.
- DANIELI-SILVA, A.; UHLMANN, A.; VICENTE-SILVA, J.; STÜMER, S. L. How mycorrhizal associations and plant density influence intra- and inter-specific competition in two tropical tree species: *Cabralea canjerana* (Vell.) Mart. and *Lafloensia pacari* A.St.-Hil. **Plant Soil**, v. 330, p. 185-193, 2010.
- DAVISON, J.; MOORA, M.; ÖPIK, M.; ADHOLEYA, A.; AINSAAR, L.; BÂ, A.; BURLA, S.; DIEDHIU, A. G.; HIIESALU, I.; JAIRUS, T.; JOHNSON, N. C.; KANE, A.; KOOREM, K.; KOCHAR, M.; NDIAYE, C.; PÄRTEL, M.; REIER, Ü.; SAKS, Ü.; SINGH, R.; VASAR, M.; ZOBEL, M. Global assessment of arbuscular mycorrhizal fungus diversity reveals very low endemism. **Science**, v. 349, n. 6251, p. 970-973, 2015.
- DAVISON, J.; ÖPIK, M.; ZOBEL, M.; VASAR, M.; METSIS, M.; MOORA, M. Communities of arbuscular mycorrhizal fungi detected in forest soil are spatially heterogeneous but do not vary throughout the growing season. **Plos One**, v. 7, n. 8, e-41938, 2012.
- DEBORDE, C.; MOING, A.; ROCH, L.; JACOB, D.; ROLIN, D.; GIRAUDEAU, P. Plant metabolism as studied by NMR spectroscopy. **Progress in Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy**, v. 102-103, p. 61-97, 2017.

- DENISON, R. F.; KIERS, E. T. Life histories of symbiotic rhizobia and review mycorrhizal fungi. **Current Biology**, v. 21, n. 18, p. 775-785, 2011.
- DICKSON, A.; LEAF, A. L.; HOSNER, J. F. Quality appraisal of white spruce and white pine seedling stock in nurseries. **The Forestry Chronicle**, v. 36, n. 1, p. 10-13, 1960.
- DUHAMEL, M.; PEAY, K. G. Does microbial diversity confound general predictions? **Trends in Plant Science**, v. 20, n. 11, p. 695-697, 2015.
- DUHAMEL, M.; VANDENKOORNHUYSE, P. Sustainable agriculture: possible trajectories from mutualistic symbiosis and plant neodomestication. **Trends in Plant Science**, v. 18, p. 597-600, 2013.
- ESTRADA, B.; BELTRÁN-HERMOSO, M.; PALENZUELA, J.; IWASE, K.; RUIZ-LOZANO, J. M.; BAREA, J. M.; OEHL, F. Diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in the rhizosphere of *Asteriscus maritimus* (L.) Less., a representative plant species in arid and saline Mediterranean ecosystems. **Journal of Arid Environments**, v. 97, p. 170-175, 2013.
- FAGHERAZZI, A. F.; COCCO, C.; ANTUNES, L. E. C.; SOUZA, J. A.; RUFATO, L. La fragolicoltura brasileira guarda avanti. **Rivista di Frutticoltura e Ortofloricoltura**, v. 75, p. 20-24, 2014.
- FAGHERAZZI, A. F.; GRIMALDI, F.; KRETZSCHMAR, A. A.; MOLINA, A. R.; GONÇALVES, M. A.; ANTUNES, L. E. C.; BARUZZI, G.; RUFATO, L. Strawberry production progress in Brazil. **Acta Horticulturae**, v. 1156, p. 937-940, 2017.
- FAN, L.; DALPÉ, Y.; FANG, C.; DUBÉ, C.; KHANIZADEH, S. Influence of arbuscular mycorrhizae on biomass and root morphology of selected strawberry cultivars under salt stress. **Botany**, v. 89, p. 1-7, 2011.
- FELLBAUM, C. R.; MENSAH, J. A.; CLOOS, A. J.; STRAHAN, G. E.; PFEFFER, P. E.; KIERS, E. T.; BÜCKING, H. Fungal nutrient allocation in common mycorrhizal networks is regulated by the carbon source strength of individual host plants. **New Phytologist**, v. 203, p. 646-656, 2014.
- FERREIRA, D. A.; CARNEIRO, M. A. C.; SAGGIN JUNIOR, O. J. Fungos micorrízicos arbusculares em um Latossolo Vermelho sob manejos e usos no cerrado. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 36, n. 1, p. 51-61, 2012.
- FESTER, T.; SAWERS, R. Progress and challenges in agricultural applications of arbuscular mycorrhizal fungi. **Critical Reviews in Plant Sciences**, v. 30, p.459-470, 2011.

FILE, A. L.; KLIRONOMOS, J. N.; MAHERALI, H.; DUDLEY, S. A. Plant kin recognition enhances abundance of symbiotic microbial partner. **Plos One**, v. 7, n. 9, e-45648, 2012.

FURLANI, P. R.; FERNANDEZ JÚNIOR, F. Cultivo hidropônico de morango em ambiente protegido. In: SIMPÓSIO NACIONAL DO MORANGO & ENCONTRO DE PEQUENAS FRUTAS E FRUTAS NATIVAS DO MERCOSUL, 2., 2004, Pelotas. **Anais...** Curitiba: Embrapa Clima Temperado, 2004. p. 102-115.

GARLAND, B. C.; SCHROEDER-MORENO, M. S. Influence of summer cover crops and mycorrhizal fungi on strawberry production in the Southeastern United States. **HortScience**, v. 46, n. 7, p. 985-992, 2011.

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

GIANINAZZI, S.; GOLLOTTE, A.; BINET, M. N.; VAN TUINEN, D.; REDECKER, D.; WIPF, D. Agroecology: the key role of arbuscular mycorrhizas in ecosystem services. **Mycorrhiza**, v. 20, n. 8, p. 519-530, 2010.

GIOVANNETTI, M.; AVIO, L.; BARALE, R.; CECCARELLI, N.; CRISTOFANI, R.; LEZZI, A.; MIGNOLLI, F.; PICCIARELLI, P.; PINTO, B.; REALI, D.; SBRANA, C.; SCARPATO, R. Nutraceutical value and safety of tomato fruits produced by mycorrhizal plants. **British Journal of Nutrition**, v. 107, p. 242-251, 2012.

GIUSTI, M. M.; WROLSTAD, R. E. Anthocyanins. Characterization and measurement with UV-visible spectroscopy. In: WROLSTAD, R. E. (Ed.). **Current protocols in food analytical chemistry**. New York: John Wiley & Sons, 2001. p. 1-13.

GOBBO-NETO, L.; LOPES, N. P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Química Nova**, v. 30, n. 2, p. 374-381, 2007.

GOETTEN, L. C.; MORETTO, G.; STÜRMER, S. L. Influence of arbuscular mycorrhizal fungi inoculum produced on-farm and phosphorus on growth and nutrition of native woody plant species from Brazil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 30, n. 1, p. 9-16, 2016.

GÓMEZ-BELLOT, M. J.; NORTES, P. A.; ORTUÑO, M. F.; ROMERO, C.; FERNÁNDEZ-GARCÍA, N.; SÁNCHEZ-BLANCOA, M. J. Influence of arbuscular mycorrhizal fungi and treated wastewater on water relations and leaf structure alterations of *Viburnum tinus* L. plants during both saline and recovery periods. **Journal of Plant Physiology**, v. 188, p. 96-105, 2015.

GOMIDE, P. H. O.; SILVA, M. L. N.; SOARES, C. R. F. S.; CARDOSO, E. L.; CARVALHO, F.; LEAL, P. L.; MARQUES, R. M.; STÜRMER, S. L. Fungos

micorrízicos arbusculares em fitofisionomias do Pantanal da Nhecolândia, Mato Grosso do Sul. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 38, n. 4, p. 1114-1127, 2014.

GONÇALVES, M. A.; COCCO, C.; PICOLOTTO, L.; VIGNOLO, G. K.; ANTUNES, L. E. C. **Cultivares de morangueiro de dias curtos para a Região de Pelotas-RS**. Pelotas: Embrapa, 2015. p. 1-8. (Comunicado Técnico, 322).

GOSLING, P.; HODGE, A.; GOODLASS, G.; BENDING, G. D. Arbuscular mycorrhizal fungi and organic farming. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, v. 113, p. 17-35, 2006.

GOSLING, P.; MEAD, A.; PROCTOR, M.; HAMMOND, J. P.; BENDING, G. D. Contrasting arbuscular mycorrhizal communities colonizing different host plants show a similar response to a soil phosphorus concentration gradient. **New Phytologist**, v. 198, p. 546-556, 2013.

GOTO, B. T.; SILVA, G. A.; ASSIS, D. M. A.; SILVA, D. K. A.; SOUZA, R. G.; FERREIRA, A. C. A.; JOBIM, K.; MELLO, C. M. A.; VIEIRA, H. E. E.; MAIA, L. C.; OEHL, F. Intraornatosporaceae (Gigasporales), a new family with two new genera and two new species. **Mycotaxon**, v. 119, p. 117-132, 2012.

GU, M.; CHEN, A.; DAI, X.; LIU, W.; XU, G. How does phosphate status influence the development of the arbuscular mycorrhizal symbiosis? **Plant Signaling & Behavior**, v. 6, n. 9, p. 1300-1304, 2011.

GUTJAHR, C. Phytohormone signaling in arbuscular mycorrhiza development. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 20, p. 26-34, 2014.

GUTJAHR, C.; CASIERI, L.; PASZKOWSKI, U. *Glomus intraradices* induces changes in root system architecture of rice independently of common symbiosis signaling. **New Phytologist**, v. 182, p. 829-837, 2009.

HART, M.; FORSYTHE, J.; OSHOWSKI, B.; BÜCKING, H.; JANSA, J.; KIERS, E. T. Hiding in a crowd – does diversity facilitate persistence of a low-quality fungal partner in the mycorrhizal symbiosis? **Symbiosis**, v. 59, p. 47-56, 2013.

HASHEM, A.; ABD-ALLAH, E. F.; ALQARAWI, A. A.; EGAMBERDIEVA, D. Induction of salt stress tolerance in cowpea [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.] by arbuscular mycorrhizal fungi. **Legume Research**, v. 38, n. 5, p. 579-588, 2015.

HAWKES, C. V.; KIVLIN, S. N.; ROCCA, J. D.; HUGUET, V.; THOMSEN, M. A.; SUTTLE, K. B. Fungal community responses to precipitation. **Global Change Biology**, v. 17, n. 4, p. 1637-1645, 2011.

HAZARD, C.; GOSLING, P.; VAN DER GAST, C. J.; MITCHELL, D. T.; DOOHAN, F. M.; BENDING, G. D. The role of local environment and geographical distance in

determining community composition of arbuscular mycorrhizal fungi at the landscape scale. **The ISME Journal**, v. 7, p. 498-508, 2013.

HERRMANN, L.; LESUEUR, D.; BRÄU, L.; DAVISON, J.; JAIRUS, T.; ROBAIN, H.; ROBIN, A.; VASAR, M.; WIRIYAKITNATEEKUL, W.; ÖPIK, M. Diversity of root-associated arbuscular mycorrhizal fungal communities in a rubber tree plantation chronosequence in Northeast Thailand. **Mycorrhiza**, v. 26, n. 8, p. 863-877, 2016.

HIIESALU, I.; PÄRTEL, M.; DAVISON, J.; GERHOLD, P.; METSIS, M.; MOORA, M.; ÖPIK, M.; VASAR, M.; ZOBEL, M.; WILSON, S. D. Species richness of arbuscular mycorrhizal fungi: associations with grassland plant richness and biomass. **New Phytologist**, v. 203, p. 233-244, 2014.

HODGE, A.; BERTA, G.; DOUSSAN, C.; MERCHAN, F.; CRESPI, M. Plant root growth, architecture and function. **Plant and Soil**, v. 321, p. 153-187, 2009.

IAL. Instituto Adolfo Lutz. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. ZENEBO, O.; PASCUET, N. S.; TIGLEA, P. (Org.). 4. ed. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008. 1020 p. Primeira edição digital.

INVAM – **International Culture Collection of (Vesicular) Arbuscular Mycorrhizal Fungi**. Disponível em: <<http://invam.wvu.edu/>>. Acesso em: 14 out. 2017.

JANSA, J.; ERB, A.; OBERHOLZER, H. R.; SMILAUER, P.; EGLI, S. Soil and geography are more important determinants of indigenous arbuscular mycorrhizal communities than management practices in Swiss agricultural soils. **Molecular Ecology**, v. 23, p. 2118-2135, 2014.

JENKINS, W. R. A rapid centrifugal-flotation technique for separating nematodes from soil. **Plant Disease**, v. 48, n. 9, p. 692-695, 1964.

JIAO, H.; CHEN, Y.; LIN, X.; LIU, R. Diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in greenhouse soils continuously planted to watermelon in North China. **Mycorrhiza**, v. 21, p. 681-688, 2011.

JUNG, S. C.; MARTINEZ-MEDINA, A.; LOPEZ-RAEZ, J. A.; POZO, M. J. Mycorrhiza-induced resistance and priming of plant defenses. **Journal of Chemical Ecology**, v. 38, p. 651-664, 2012.

KEYMER, A.; PIMPRIKAR, P.; WEWER, V.; HUBER, C.; BRANDS, M.; BUCERIUS, S. L.; DELAUX, P. M.; KLINGL, V.; PENACK-LAHAYE, E. V. R.; WANG, T. L.; EISENREICH, W.; DÖRMANN, P.; PARNISKE, M.; GUTJAHR, C. Lipid transfer from plants to arbuscular mycorrhiza fungi. **eLife**, v. 6, e-29107, 2017.

KIM, J.; BUELL, C. R. A revolution in plant metabolism: genome-enabled pathway discovery. **Plant Physiology**, v. 169, p. 1532-1539, 2015.

KIVLIN, S. N.; HAWKES, C. V.; TRESEDER, K. K. Global diversity and distribution of arbuscular mycorrhizal fungi. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 43, p. 2294-2303, 2011.

KLEIN, V. A. **Física do solo**. 3. ed. Passo Fundo: Ed. Universidade de Passo Fundo, 2014. 263 p.

KORON, D.; SONJAK, S.; REGVAR, M. Effects of non-chemical soil fumigant treatments on root colonisation with arbuscular mycorrhizal fungi and strawberry fruit production. **Crop Protection**, v. 55, p. 35-41, 2014.

LEE, J.; DURST, R. W.; WROLSTAD, R. E. Determination of total monomeric anthocyanin pigment content of fruit juices, beverages, natural colorants, and wines by the pH differential method: collaborative study. **Journal AOAC International**, v. 88, n. 5, p. 1269-1278, 2005.

LENOIR, I.; FONTAINE, J.; SAHRAOUI, A. L. Arbuscular mycorrhizal fungal responses to abiotic stresses: a review. **Phytochemistry**, v. 123, p. 4-15, 2016.

LINGUA, G.; BONA, E.; MANASSERO, P.; MARSANO, F.; TODESCHINI, V.; CANTAMESSA, S.; COPETTA, A.; D'AGOSTINO, G.; GAMALERO, E.; BERTA, G. Arbuscular mycorrhizal fungi and plant growth-promoting pseudomonads increases anthocyanin concentration in strawberry fruits (*Fragaria x ananassa* var. Selva) in conditions of reduced fertilization. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 14, p. 16207-16225, 2013.

MAHECHA-VÁSQUEZ, G.; SIERRA, S.; POSADA, R. Diversity indices using arbuscular mycorrhizal fungito evaluate the soil state in banana crops in Colombia. **Applied Soil Ecology**, v. 109, p. 32-39, 2017.

MANAUT, N.; SANGUIN, H.; OUAHMANE, L.; BRESSAN, M.; THIOULOUSE, J.; BAUDOIN, E.; GALIANA, A.; HAFIDI, M.; PRIN, Y.; DUPONNOIS, R. Potentialities of ecological engineering strategy based on native arbuscular mycorrhizal community for improving afforestation programs with carob trees in degraded environments. **Ecological Engineering**, v. 79, p. 113-119, 2015.

MARINS, J. F. de; CARRENHO, R. Arbuscular mycorrhizal fungi and dark septate fungi in plants associated with aquatic environments. **Acta Botanica Brasilica**, v. 31, n. 2, p. 295-308, 2017.

MARSCHNER, P. **Marschner's mineral nutrition of higher plants**. 3. ed. London: Academic Press, 2012. 651 p.

MARTIN, B. D.; SCHWAB, E. Current usage of symbiosis and associated terminology. **International Journal of Biology**, v. 5, p. 32-45, 2013.

MARTIN, F.; KOHLER, A.; MURAT, C.; VENEALUT-FOURREY, C.; HIBBETT, D. S. Unearthing the roots of ectomycorrhizal symbioses. **Nature Reviews Microbiology**, v. 14, p. 760-773, 2016.

MARTINEZ, F.; WEILAND, C.; PALENCIA, P. The influence of arbuscular mycorrhizal fungi inoculation method on growth of strawberry plants in a soilless growing system. **Acta Horticulturae**, v. 1013, p. 487-492, 2013.

MCCORMACK, M. L.; DICKI, I. A.; EISSENSTAT, D. M.; FAHEY, T. J.; FERNANDEZ, C. W.; DALI, G.; HELMISAARI, H. S.; HOBBIE, E. A.; IVERSEN, C. N.; JACKSON, R. B.; LEPPÉALAMMI-KUJANSUU, J.; NORBY, R. J.; PHILLIPS, R. P.; KURT, S.; PREGITZE, K. S.; PRITCHARD, S. G.; REWALD, B.; ZADWORNÝ, M. Redefining fine roots improves understanding of below-ground contributions to terrestrial biosphere processes. **New Phytologist**, v. 207, p. 505-518, 2015.

MENSAH, J. A.; KOCH, A. M.; ANTUNES, P. M.; KIERS, E. T.; HART, M.; BÜCKING, H. High functional diversity within species of arbuscular mycorrhizal fungi is associated with differences in phosphate and nitrogen uptake and fungal phosphate metabolism. **Mycorrhiza**, v. 25, n. 7, p. 533-546, 2015.

MOLLAVALI, M.; BOLANDNAZAR, S.; NAZEMIEH, H.; ZARE, F.; ALIASGHARZAD, N. The effect of mycorrhizal fungi on antioxidant activity of various cultivars of onion (*Allium cepa* L). **International Journal of Biosciences**, v. 6, n. 1, p. 66-79, 2015.

MOORA, M.; DAVISON, J.; ÖPIK, M.; METSIS, M.; SAKS, Ü.; JAIRUS, T.; VASAR, M.; ZOBEL, M. Anthropogenic land use shapes the composition and phylogenetic structure of soil arbuscular mycorrhizal fungal communities. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 90, p. 609-621, 2014.

MOORMAN, T.; REEVES, F. B. The role of endomycorrhizae in revegetation practices in the semi-arid west. II. A bioassay to determine the effect of land disturbance on endomycorrhizal populations. **American Journal of Botany**, v. 66, n. 1, p. 14-18, 1979.

MORCILLO, R. J. L.; NAVARRETEA, M. I. T.; BOTEÁ, J. A. O.; MONGUIOB, S. P.; GARCÍA-GARRIDO, J. M. Suppression of allene oxide synthase 3 in potato increases degree of arbuscular mycorrhizal fungal colonization. **Journal of Plant Physiology**, v. 190, p. 15-25, 2016.

MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. Micorrizas. In: MOREIRA, F. M. S. **Microbiologia e bioquímica do solo**. 2. ed. Lavras: UFLA, 2006. p. 543-661.

MORTON, J. B. Taxonomy of VA mycorrhizal fungi: classification, nomenclature, and identification. **Mycotaxon**, v. 32, p. 267-324, 1988.

MORTON, J. B.; BENTIVENGA, S. P.; BEVER, J. D. Discovery, measurement, and interpretation of diversity in symbiotic endomycorrhizal fungi. **Canadian Journal of Botany**, v. 73, p. 25-32, 1995.

NAVARRO, J. M.; PEREZ-TORNERO, O.; MORTE, A. Alleviation of salt stress in citrus seedlings inoculated with arbuscular mycorrhizal fungi depends on the rootstock salt tolerance. **Journal of Plant Physiology**, v. 171, n. 1, p. 76-85, 2014.

NIEMI, M.; VESTBERG, M. Inoculation of commercially grown strawberry with VA mycorrhizal fungi. **Plant and Soil**, v. 144, p. 133-142, 1992.

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

OEHL, F.; SÁNCHEZ-CASTRO, I.; PALENZUELA, J.; SILVA, G. A. *Palaeospora spainii*, a new arbuscular mycorrhizal fungus from Swiss agricultural soils. **Nova Hedwigia**, v. 101, n. 1-2, p. 89-102, 2014.

OLÁH, B.; BRIÈRE, C.; BÉCARD, G.; DÉNARIÉ, J.; GOUGH, C. Nod factors and a diffusible factor from arbuscular mycorrhizal fungi stimulate lateral root formation in *Medicago truncatula* via the DMI1/DMI2 signalling pathway. **The Plant Journal**, v. 44, p. 195-207, 2005.

ÖPIK, M.; DAVISON, J. Uniting species- and community-oriented approaches to understand arbuscular mycorrhizal fungal diversity. **Fungal Ecology**, v. 24, p. 106-113, 2016.

ÖPIK, M.; ZOBEL, M.; CANTERO, J. J.; DAVISON, J.; FACELLI, J. M.; HIIESALU, I.; JAIRUS, T.; KALWIJ, J. M.; KOOREM, K.; LEAL, M. E.; LIIRA, J.; METSIS, M.; NESHATAEVA, V.; PAAL, J.; PHOSRI, C.; PÖLME, S.; REIER, Ü.; SAKS, Ü.; SCHIMANN, H.; THIÉRY, O.; VASAR, M.; MOORA, M. Global sampling of plant roots expands the described molecular diversity of arbuscular mycorrhizal fungi. **Mycorrhiza**, v. 23, p. 411-430, 2013.

OVERBY, S. T.; OWEN, S. M.; HART, S. C.; NEARY, D. G.; JOHNSON, N. C. Soil microbial community resilience with tree thinning in a 40-year-old experimental ponderosa pine forest. **Applied Soil Ecology**, v. 93, p. 1-10, 2015.

OWEN, D.; WILLIAMS, A. P.; GRIFFITH, G. W.; WITHERS, P. J. A. Use of commercial bio-inoculants to increase agricultural production through improved phosphorus acquisition. **Applied Soil Ecology**, v. 86, p. 41-54, 2015.

PAGANO, M. C.; OEHL, F.; SILVA, G. A.; MAIA, L. C.; SILVA, D. K.; CABELLO, M. N. Advances in arbuscular mycorrhizal taxonomy. In: PAGANO, M. C. (Ed.). **Recent advances on mycorrhizal fungi**. Springer: Switzerland, 2016. p. 15-21.

PÄRTEL, M.; BENNETT, J. A.; ZOBEL, M. Macroecology of biodiversity: disentangling local and regional effects. **New Phytologist**, v. 211, p. 404-410, 2016.

PASZT, L. S.; MALUSÁ, E.; SUMOROK, B.; CANFORA, L.; DERKOWSKA, E.; GLUSZEK, S. The influence of bioproducts on mycorrhizal occurrence and diversity in the rhizosphere of strawberry plants under controlled conditions. **Advances in Microbiology**, v. 5, p. 40-53, 2015.

PEDERSEN, A. C. **Occurrence and applicability of arbuscular mycorrhizal fungi in strawberry**. 2016. 187 f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo, 2016.

PEDERSEN, A. C.; COSTA, R. C.; DE NARDI, F. S.; RIZZO, L. H.; CALVETE, E. O. Potencial inóculo de fungos micorrízicos arbusculares em solos do cultivo do morangueiro. In: JORNADA BINACIONAL DE JOVENS CIENTISTAS – BRASIL E ARGENTINA, 1., MOSTRA DE TRABALHOS DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA, 1., 2014, Passo Fundo. **Anais...** Passo Fundo: UPF, 2015. p. 11-13. CD-ROM.

PEDERSEN, A. C.; DE NARDI, F. S.; COSTA, R. C.; ANTONIOLLI, R.; STÜRMER, S. L.; CALVETE, E. O. Diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in strawberry crop systems detected in trap cultures. **Acta Horticulturae**, v. 1170, p. 1085-1092, 2017.

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

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

REVILLA, E.; RYAN, J. M.; MARTIN-ORTEGA, G. Comparison of several procedures used for the extraction of anthocyanins from red grapes. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 46, n. 11, p. 4592-4597, 1998.

ROBINSON-BOYER, L.; FENG, W.; GULBIS, N.; HAJDU, K.; HARRISON, R. J.; JEFFRIES, P.; XU, X. The use of arbuscular mycorrhizal fungi to improve strawberry production in coir substrate. **Frontiers in Plant Science**, v. 7, e-1237, 2016.

ROUPHAEL, Y.; FRANKEN, P.; SCHNEIDER, C.; SCHWARZ, D.; GIOVANNETTI, M.; AGNOLUCCI, M.; DE PASCALE, S.; BONINI, P.; COLLA, G. Arbuscular

mycorrhizal fungi act as biostimulants in horticultural crops. **Scientia Horticulturae**, v. 196, p. 91-108, 2015.

ROUPHAEL, Y.; SCHWARZ, D.; KRUMBEIN, A.; COLLA, G. Impact of grafting on product quality of fruit vegetables. **Scientia Horticulturae**, v. 127, p. 172-179, 2010.

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

SÄLE, V.; AGUILERA, P.; LACZKO, E.; MÄDER, P.; BERNER, A.; ZIHLMANN, U.; VAN DER HEIJDEN, M. G. A.; OEHL, F. Impact of conservation tillage and organic farming on the diversity of arbuscular mycorrhizal fungi. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 84, p. 38-52, 2015.

SANTOS, F. E. F.; CARRENHO, R. Diversidade de fungos micorrízicos arbusculares em remanescente florestal impactado (Parque Cinquentenário - Maringá, Paraná, Brasil). **Acta Botanica Brasilica**, v. 25, n. 2, p. 508-516, 2011.

SANTOS, H. G.; ALMEIDA, J. A.; OLIVEIRA, J. B.; LUMBRERAS, J. F.; ANJOS, L. H. C.; COELHO, M. R.; JACOMINE, P. K. T.; CUNHA, T. J. F.; OLIVEIRA, V. A. (Ed). **Sistema brasileiro de classificação de solos**. 3. ed. rev. ampl. Brasília: Embrapa, 2013. 353 p.

SBRANA, C.; AVIO, L.; GIOVANETTI, M. Beneficial mycorrhizal symbionts affecting the production of health-promoting phytochemicals. **Electrophoresis**, v. 35, p. 1535-1546, 2014.

SCHENCK, N. C.; PÉREZ, Y. **Manual for the identification of VA mycorrhizal fungi**. 3. ed. Gainesville: Synergistic Publications, 1990. 249 p.

SELVAKUMAR, G.; KRISHNAMOORTHY, R.; KIM, K.; SA, T. M. Genetic diversity and association characters of bacteria isolated from arbuscular mycorrhizal fungal spore walls. **Plos One**, v. 11, n. 8, e- 0160356, 2016.

SENÉS-GUERRERO, C.; SCHÜBLER, A. A conserved arbuscular mycorrhizal fungal core-species community colonizes potato roots in the Andes. **Fungal Diversity**, v. 77, p. 317-333, 2016.

SHARMA, M. P.; ADHOLEYA, A. Effect of arbuscular mycorrhizal fungi and phosphorus fertilization on the post vitro growth and yield of micropropagated strawberry grown in a sandy loam soil. **Canadian Journal of Botany**, v. 82, p. 322-328, 2004.

SHENG, M.; LALANDE, R.; HAMEL, C.; ZIADI, N. Effect of long-term tillage and mineral phosphorus fertilization on arbuscular mycorrhizal fungi in a humid continental zone of Eastern Canada. **Plant and Soil**, v. 369, p. 599-613, 2013.

SINCLAIR, G.; CHAREST, C.; DALPÉ, Y.; KHANIZADEH, S. Influence of colonization by arbuscular mycorrhizal fungi on three strawberry cultivars under salty conditions. **Agricultural and Food Science**, v. 23, p. 146-158, 2014.

SINGH, D. The relative importance of characters affecting genetic divergence. **Indian Journal of Genetic and Plant Breeding**, v. 41, n. 2, p. 237-245, 1981.

SOKA, G.; RITCHIE, M. Arbuscular mycorrhizal symbiosis, ecosystem processes and environmental changes in tropical soils. **Applied Ecology and Environmental Research**, v. 13, p. 229-245, 2015.

SONGACHAN, L. S.; KAYANG, H. Diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in pine forest of Meghalaya, North East India. **Mycosphere**, v. 2, n. 4, p. 497-505, 2011.

SOUZA, F. A.; STÜRMER, S. L.; CARRENHO, R.; TRUFEM, S. F. B. Classificação e taxonomia de fungos micorrízicos arbusculares e sua diversidade e ocorrência no Brasil. In: SIQUEIRA, J. O.; SOUZA, F. A.; CARDOSO, E. J. B. N.; TSAI, S. M. (Org.). **Micorrizas: 30 anos de pesquisas no Brasil**. Lavras: Editora UFLA, 2010. p. 15-73.

SPECHT, S.; BLUME, R. A competitividade da cadeia do morango no Rio Grande do Sul. **Revista de Administração e Negócios da Amazônia**, v. 3, n. 1, p. 35-59, 2011.

STÜRMER, S. L.; SIQUEIRA, J. O. Diversidade de fungos micorrízicos arbusculares em ecossistemas brasileiros. In: MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O.; BRUSSAARD, L. (Org.). **Biodiversidade do solo em ecossistemas brasileiros**. Lavras: Editora UFLA, 2008. p. 537-583.

STUTZ, J. C.; MORTON, J. B. Successive pot culture reveal high species richness of arbuscular endomycorrhizal fungi in arid ecosystems. **Canadian Journal of Botany**, v. 74, n. 12, p. 1883-1889, 1996.

TEDESCO, M. J.; GIANELLO, C.; BISSANI, C. A.; BOHNEN, H.; VOLKWEISS, S. J. **Análise de solo, plantas e outros minerais**. 2. ed. rev. e amp. Porto Alegre: UFRGS, Departamento de Solos, 1995. 174 p. (UFRGS. Boletim técnico, 5).

TEIXEIRA-RIOS, T.; SOUZA, R. G.; MAIA, L. C.; OEHL, F.; LIMA, C. E. P. Arbuscular mycorrhizal fungi in a semi-arid, limestone mining-impacted area of Brazil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 27, n. 4, p. 688-693, 2013.

TOJU, H.; GUIMARÃES JUNIOR, P. R.; OLESEN, J. O.; THOMPSON, J. N. Below-ground plant-fungus network topology is not congruent with above-ground plant-animal network topology. **Science Advances**, v. 1, n. 9, e-1500291, 2015.

TORRECILLAS, E.; ALGUACIL, M. M.; ROLDÁN, A.; DÍAZ, G.; MONTESINOS-NAVARRO, A.; TORRES, P. Modularity reveals the tendency of arbuscular mycorrhizal fungi to interact differently with generalist and specialist plant species in gypsum soils. **Applied Environmental Microbiology**, v. 80, p. 5457-5760, 2014.

TROUVELOT, A.; KOUCH, J.; GIANINAZZI-PEARSON, V. Mesure du taux de mycorrhization VA d'un système racinaire: recherche of method d'estimation ayant une signification fonctionnelle. In: SEMINAIRE DIJON, 1. 1986, Paris. **Anais...** Les Mycorrhizes: Physiologie and Genetique. Paris: Inra ed., 1986. p. 217-221.

TURRINI, A.; GIOVANNETTI, M. Arbuscular mycorrhizal fungi in national parks, nature reserves and protected areas worldwide: a strategic perspective for their *in situ* conservation. **Mycorrhiza**, v. 22, n. 2, p. 81-97, 2012.

VÁLYI, K.; MARDHIAH, U.; RILLIG, M. C.; HEMPEL, S. Community assembly and coexistence in communities of arbuscular mycorrhizal fungi. **The ISME Journal**, p. 1-11, 2016.

VERBRUGGEN, E.; VAN DER HEIJDEN, M. G. A.; WEEDON, J. T.; KOWALCHUK, G. A.; RÖ-LING, W. F. M. Community assembly, species richness and nestedness of arbuscular mycorrhizal fungi in agricultural soils. **Molecular Ecology**, v. 21, p. 2341-2353, 2012.

VETTORI, L. **Métodos de análise de solo**. Rio de Janeiro: Ministério da Agricultura – EPFS, 1969. 24 p. (Brasil. Ministério da Agricultura – EPFS. Boletim técnico, 7).

WAGG, C.; JANSA, J.; SCHMID, B.; VAN DER HEIJDEN, M. G. A. Belowground biodiversity effects of plant symbionts support aboveground productivity. **Ecology Letters**, v. 14, p. 1001-1009, 2011.

WEHNER, J.; ANTUNES, P. M.; POWELL, J. R.; CARUSO, T.; RILLIG, M. C. Indigenous arbuscular mycorrhizal fungal assemblages protect grassland host plants from pathogens. **Plos One**, v. 6, n. 11, e-27381, 2011.

WEI, Y.; HOU, H.; LI, J.; SHANGGUAN, Y.; XU, Y.; ZHANG, J.; ZHAO, L.; WANG, W. Molecular diversity of arbuscular mycorrhizal fungi associated with an Mn hyperaccumulator - *Phytolacca americana*, in Mn mining area. **Applied Soil Ecology**, v. 82, p. 11-17, 2014.

WHITE, P. R. Mycorrhiza as a possible determining factor in the distribution of the strawberry. **Annals of Botany**, v. 43, n. 171, p. 535-544, 1929.

WU, Q. S.; LI, G. H.; ZOU, Y. N. Improvement of root system architecture in peach (*Prunus persica*) seedlings by arbuscular mycorrhizal fungi, related to allocation of glucose/sucrose to root. **Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca**, v. 39, p. 232-236, 2011.

XU, X.; CHEN, C.; ZHANG, Z.; SUN, Z.; CHEN, Y.; JIANG, J.; SHEN, Z. The influence of environmental factors on communities of arbuscular mycorrhizal fungi associated with *Chenopodium ambrosioides* revealed by MiSeq sequencing investigation. **Scientific Reports**, v. 7, n. 45134, p. 1-11, 2017.

YANG, Y.; LIANG, Y.; HAN, X.; CHIU, T. Y.; GHOSH, A.; CHEN, H.; TANG, M. The roles of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) in phytoremediation and tree-herb interactions in Pb contaminated soil. **Scientific Reports**, v. 6, n. 20469, p. 1-14, 2016.

ZANGARO, W.; MOREIRA, M. Micorrizas arbusculares nos biomas Floresta Atlântica e Floresta de Araucária. In: SIQUEIRA, J. O.; SOUZA, F. A.; CARDOSO, E. J. B. N.; TSAI, S. M. (Ed.). **Micorrizas: 30 anos de pesquisa no Brasil**. Lavras: Editora UFLA, 2010. p. 279-310.

ZHANG, R. Q.; ZHU, H. H.; ZHAO, H. Q.; YAO, Q. Arbuscular mycorrhizal fungal inoculation increases phenolic synthesis in clover roots via hydrogen peroxide, salicylic acid and nitric oxide signaling pathways. **Journal of Plant Physiology**, v. 170, n. 1, p. 74-79, 2013.

ZHONGQUN, H.; ZHI, H. Expression analysis of LeNHX1 gene in mycorrhizal tomato under salt stress. **The Journal of Microbiology**, v. 51, p. 100-104, 2013.

ZOU, Y. N.; WANG, P.; LIU, C. Y.; NI, Q. D.; ZHANG, D. J.; WU, Q. S. Mycorrhizal trifoliolate orange has greater root adaptation of morphology and phytohormones in response to drought stress. **Scientific Reports**, v. 7, e-41134, 2017.



**PPGAgro**

Programa de Pós-Graduação em Agronomia

**Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária - FAMV**