

RODRIGO DE CASTRO TAVARES

**FUNCIONALIDADE DAS MICORRIZAS ARBUSCULARES EM CAFEZAIS  
AGROECOLÓGICOS**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Solos e Nutrição de Plantas, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

VIÇOSA  
MINAS GERAIS – BRASIL  
2011

**Ficha catalográfica preparada pela Seção de Catalogação e  
Classificação da Biblioteca Central da UFV**

T

T231f  
2011

Tavares, Rodrigo de Castro, 1978-

Funcionalidade das micorrizas arbusculares em cafezais agroecológicos / Rodrigo de Castro Tavares. – Viçosa, MG, 2011.

xx, 144f. : il. (algumas col.) ; 29cm.

Orientador: Irene Maria Cardoso.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Viçosa.

Inclui bibliografia.

1. Fungos micorrízicos. 2. Micorriza. 3. Sistemas agroflorestais. 4. Fertilidade do solo. 5. Estrutura do solo. 6. Café - Nutrição. 7. Agricultura familiar. 8. Controle biológico. I. Universidade Federal de Viçosa. II. Título.

CDD 22. ed. 631.46

RODRIGO DE CASTRO TAVARES

**FUNCIONALIDADE DAS MICORRIZAS ARBUSCULARES EM CAFEZAIS  
AGROECOLÓGICOS**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Solos e Nutrição de Plantas, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

APROVADA em 29 de setembro de 2011.

---

Maurício Dutra Costa  
(Coorientador)

---

Felipe Vaz Andrade

---

Eduardo de Sá Mendonça  
(Coorientador)

---

Olinto Liparini Pereira

---

Irene Maria Cardoso  
(Orientador)

Dedico o meu trabalho às pessoas que sempre acreditaram em mim:  
meu pai, minha mãe, minha esposa (Joedna), meus irmãos (Leandro e Celina), meus  
tios (Joaquim Augusto, Bete, Antonio, Jolinda, José Filho, Vilma, Neto, Vaninha,  
Terezinha, Rosinha, Valmir, Chico e meus filhos  
(Camila, Maria Eduarda e Rodrigo Júnior).  
Dedico em especial ao meu filho “Júnior”, que deleita o ventre de sua mãe.

*Viva uma vida boa e honrada. Assim, quando  
você ficar mais velho e pensar no passado,  
poderá obter prazer uma segunda vez.*

***Dalai Lama***

## AGRADECIMENTOS

A **Deus**, pela vida, saúde, força, coragem e por mais uma etapa de minha vida vencida;

À **Universidade Federal de Viçosa**, em especial, ao Departamento de Ciência do Solo, por tornar possível a nossa qualificação profissional;

À **University of Wageningen**, em especial, ao Department of Soil Quality, por ceder o espaço físico e possibilitar o meu crescimento intelectual;

À **University of Amsterdam**, em especial, Institute for Biodiversity and Ecosystem Dynamics (IBED), sem o qual não seria possível realizar o ensaio experimental do vaso duplo conectado;

Ao **Centro de Tecnologias Alternativas da Zona da Mata de Minas Gerais (CTA-ZM)** pelo auxílio durante a execução do estudo;

Aos **Agricultores Familiares de Araponga-MG**, em especial a família do Romualdo, Ângelo e Fernando por disponibilizarem suas áreas sem as quais não seria possível a realização dessa tese;

A **Conselho Nacional de Pesquisa e Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq)**, pela concessão da bolsa de estudo;

A **Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES)**, pela concessão da bolsa sandwich na Holanda.

A **Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG)**, pelo financiamento do projeto de pesquisa que possibilitou a realização desse estudo.

A professora **Irene Maria Cardoso**, pela orientação, compreensão amizade construída e por me ensinar o real sentido da Agroecologia;

Ao professor **Arne Janssen**, pela orientação em Amterdam, conselhos, amizade e por ser o modelo de cientista e pessoa que pretendo espelhar-me durante a minha vida profissional;

Ao professor **Thomas Kuyper**, pela orientação na Universidade de Wargenigen;

Ao professor **Ivo Jucksch (Juca)**, pela força e incentivo durante o curso e pela sincera amizade construída;

Ao professor **Eduardo de Sá Medonça**, pela amizade e por aceitar está na minha banca examinadora, dando sugestões para melhorar a Tese;

Ao professor **Maurício Costa Dutra**, pela co-orientação, compreensão e amizade;

Aos professores **João Ker, Cristine Mulger, Lani** pelos ensinamentos preciosos na Ciência do Solo e além de tudo pela sincera amizade;

Aos **servidores técnico-administrativos do Departamento de Ciência do Solo/UFV**, pela amizade e ajuda no laboratório, **Bráz, Lula, Alisson, Renatinho, Luciana, Claudinha e Sônia**;

A minha mãe, **Mary de Castro Tavares**, a minha **madrinha Maria de Fátima Maia e Almeida** e ao meu pai, **José Tavares da Silva**, por depositarem seus sonhos em mim e o melhor de tudo, estarem comigo nesse momento com saúde, compartilhando a alegria de vê concretizado um esforço mútuo;

Aos amigos do Curso de Pós-Graduação em Ciência do Solo, pela convivência e respeito que nos tornou mais que meros colegas: **Jandeilson, Jailson, Chapolin, Kleber, Henrique, Jaime, Edivânia, André e Nicinha**. Fica a torcida para que todos nós possamos mostrar os esforços intelectuais buscados durante o mestrado. Desejo a todos uma vida cheia de grandes realizações;

Às turmas do curso turma de Pós-Graduação em Ciência do Solo (2007 e 2011)/UFV, pela amizade e convivência;

A **todos** que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho.

## **BIOGRAFIA**

RODRIGO DE CASTRO TAVARES, filho de José Tavares da Silva e Mary de Castro Tavares, nasceu em 06 de novembro de 1978, em Montes Claros, Minas Gerais.

Cursou o ensino básico na Escola Estadual Vidinha Pires, o ensino fundamental no Colégio Estadual Dulce Sarmiento e o médio no Colégio Agrícola da Universidade Federal de Minas Gerais em Montes Claros cidade onde nasceu.

Graduou-se em Agronomia pela Universidade Federal de Viçosa, Campus de Viçosa, em 2004. Obteve o título de Mestre em Solos e Nutrição de Plantas pela Universidade Federal do Ceará, Campus do Pici, em 2007.

No período de outubro de 2010 a fevereiro de 2011, realizou doutorado sandwich na Universidade de Wageningen, Holanda.



## SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS.....	xi
LISTA DE FIGURAS.....	xiii
RESUMO.....	xv
ABSTRACT.....	xviii
CAPITULO 1.....	1
1.1 Introdução geral.....	1
1.2 Hipóteses e objetivos gerais.....	7
1.3 Estrutura geral da tese.....	8
CAPÍTULO 2.....	15
Mycorrhizal associations in agroforestry systems.....	15
2.1 Introduction.....	15
2.2 The multi-functionality of AMF in agro-ecosystems.....	19
2.2.1 Implications of the AMF mycelium network.....	21
2.2.2 Ecological implications for plants.....	23
2.2.3 AMF and the physical quality of the soil.....	25
2.2.4 AMF and the chemical quality of the soil.....	27
2.2.4.1 AMF and acquisition of soil P.....	27
2.2.4.2 AMF and protection against heavy metals and Al.....	31
2.2.5 AMF and the biological quality of the soil.....	31
2.3 AMF and agroforestry systems: beyond compatibility.....	34
2.4 Conclusions.....	36
CAPÍTULO 3.....	46
Glomalina em cafezais agroecológicos.....	46
3.1 Introdução.....	47
3.1 Material e Métodos.....	49
3.2.1 Área de estudo.....	49
3.2.3 Carbono e Nitrogênio orgânico total do solo.....	53
3.2.4 Carbono e nitrogênio da glomalina.....	53
3.2.5 Análise estatística.....	53

3.3 Resultados .....	54
3.3.1 Glomalina total e glomalina facilmente extraível .....	54
3.3.2 Carbono orgânico total e a glomalina .....	57
3.3.3 Nitrogênio orgânico total e a glomalina.....	58
3.4 Discussão .....	60
3.4.1 Sazonalidade da glomalina.....	60
3.4.2 Distribuição da glomalina em profundidade .....	61
3.4.3 Efeito do uso do solo sob a glomalina .....	61
3.4.4 Contribuição da glomalina nos estoques de C e N orgânico do solo .....	62
3.5 Conclusões .....	63
3.6 Referências.....	64
CAPÍTULO 4.....	69
Glomalina e a estabilidade de agregados em cafezais agroecológicos .....	69
4.1 Introdução .....	70
4.2 Material e Métodos .....	71
4.2.1 Área de estudo.....	71
4.2.2 Estabilidade de agregados do solo .....	75
4.2.3 Glomalina no solo e nas classes de agregados .....	75
4.2.4 Carbono orgânico no solo e nas classes de agregados .....	76
4.2.5 Carbono orgânico sob diferentes graus de oxidação.....	76
4.2.6 Análise estatística.....	76
4.3 Resultados.....	77
4.3.1 Estabilidade de agregados do solo .....	77
4.3.2 Glomalina nas classes de agregados .....	78
4.3.3 Carbono orgânico nas classes de agregados.....	81
4.3.4 Carbono orgânico sob diferentes graus de oxidação.....	84
4.3.5 Correlação .....	85
4.4 Discussão .....	86
4.4.1 Estabilidade de agregados do solo .....	86
4.4.2 Glomalina nas classes de agregados .....	87

4.4.3 Carbono orgânico nas classes de agregados.....	87
4.4.4 Carbono orgânico sob diferentes graus de oxidação.....	88
4.4.5 Correlação.....	88
4.5 Conclusão.....	89
4.6 Referências.....	90
CAPÍTULO 5.....	95
Atributos físicos, químicos e biológicos do solo e micorrizas em cafezais agroecológicos..	95
5.1 Introdução.....	96
5.2 Material e Métodos.....	97
5.2.1 Descrição da área de estudo.....	97
5.2.2 Atributos do solo.....	100
5.2.2.1 Físicos.....	100
5.2.2.2 Químicos.....	101
5.2.2.3 Biológicos.....	101
5.2.3 Análise estatística.....	103
5.3 Resultados.....	103
5.3.1 Atributos químicos do solo.....	103
5.3.2 Atributos físicos.....	105
5.3.3 Atributos biológicos.....	107
5.3.4 Atributos do solo e os estoques de glomalina.....	110
5.4 Discussão.....	111
5.4.1 Atributos químicos.....	111
5.4.2 Atributos físicos.....	112
5.4.3 Atributos biológicos.....	113
5.4.4 Atributos do solo e os estoques de glomalina.....	114
5.5 Conclusões.....	117
5.6 Referências.....	117
CAPÍTULO 6.....	124
Rede micelial de micorrizas e a troca de sinais que induzem a defesa entre plantas: Um ensaio metodológico.....	124
6.1 Introdução.....	125

6.2 Material e Métodos .....	126
6.2.1 Vasos duplos conectados .....	126
6.2.1.1 Parte superior do vaso duplo conectado.....	129
6.2.1.2 Parte inferior do vaso duplo conectado.....	129
6.2.2 Solução nutritiva .....	129
6.2.3 Experimento preliminar .....	129
6.2.4 Transferência de sinais.....	130
6.2.5 Inoculação micorrízica.....	130
6.2.6 Teste do olfatômetro .....	131
6.2.7 Análise estatística.....	133
6.3 Resultados .....	133
6.3.1 Experimento preliminar .....	133
6.3.2 Experimento principal.....	134
6.4 Discussão .....	135
6.4.1 Experimento preliminar .....	135
6.4.2 Experimento principal.....	135
6.5 Conclusão.....	137
6.6 Referências.....	137
CAPÍTULO 7.....	141
Considerações finais .....	141
7.1 Perspectivas de futuros estudos.....	143
7.2 Referências.....	143

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela</b>		<b>Página</b>
<b>Capítulo 2</b>		
1	Mycorrhizal tree and shrub species used by smallholder farmers in agroforestry coffee systems, Zona da Mata of Minas Gerais, Atlantic Coastal Rainforest, Brazil	18
<b>Capítulo 3</b>		
1	Histórico das propriedades cafeicultoras do município de Araponga – MG	51
2	Propriedades físico-químicas do solo	52
3	Teores de glomalina total (GT) nos sistemas do Ro em diferentes profundidades	55
4	Teores de glomalina total (GT) nos sistemas do An em diferentes profundidades	55
5	Teores de glomalina total (GT) nos sistemas do Fe em diferentes profundidades	56
6	Teores de glomalina facilmente extraível (GFE) nos sistemas do Fe em diferentes profundidades	56
7	Teores de glomalina facilmente extraível (GFE) nos sistemas do An em diferentes profundidades	56
8	Teores de glomalina facilmente extraível (GFE) nos sistemas do Fe em diferentes profundidades	56
9	Carbono orgânico total do solo (COT), glomalina total (GT), quantidade de carbono na glomalina total (CGT) e contribuição da glomalina no COT (COTGT) nos diferentes sistemas	57
10	Nitrogênio total (NT), glomalina (GT), proporção de nitrogênio na glomalina total (NGT) e percentagem da glomalina no NT (NTGT) nos diferentes sistemas	59
<b>Capítulo 4</b>		
1	Histórico das propriedades cafeicultoras do município de Araponga – MG	73
2	Propriedades físicas do solo sob café manejado a pleno sol (PS) e sistema agroflorestal (SAF) em propriedades agroecológicas (Ro, An e Fe) no município de Araponga, MG	74

3	Índices de agregação do solo em sistema agroflorestal (SAF), Pleno sol (PS) e Mata nativa (MN)	77
4	Frações do carbono oxidável do solo em sistema agroflorestal (SAF), Pleno sol (PS) e Mata nativa (MN)	84
5	Matriz de correlação das variáveis, diâmetro médio ponderado (DMP), diâmetro médio geométrico (DMG), índice de estabilidade de agregados (IEA), glomalina total (GT), carbono orgânico total (COT), carbono lábil ( $C_L$ ) e carbono não lábil ( $C_{NL}$ )	85

## Capítulo 5

1	Histórico das propriedades cafeicultoras do município de Araponga – MG	99
2	Teores de glomalina total (GT) e facilmente extraível (GFE) nos diferentes sistemas	100
3	Atributos químicos do solo em cafezais em sistemas agroflorestais (SAFs) e a Pleno Sol (PS) nas propriedades familiares agroecológicas indentificadas como Ro, An e Fe, Araponga, MG	104
4	Atributos físicos do solo em cafezais em sistemas agroflorestais (SAFs) e a Pleno Sol (PS) nas propriedades familiares agroecológicas indentificadas como Ro, An e Fe, Araponga, MG	106
5	Atributos biológicos do solo em cafezais em sistemas agroflorestais (SAFs) e a Pleno Sol (PS) nas propriedades familiares agroecológicas indentificadas como Ro, An e Fe, Araponga, MG	108

## LISTA DE FIGURAS

Figura		Página
	<b>Capítulo 2</b>	
1	Average (and standard error; n=3) numbers (#) of arbuscular mycorrhizal fungi spores at different soil depths (1= 0-1, 2 = 2-3, 3 = 5-7.5, 4 = 10-15.5, 5 = 20-30 and 6 = 40-60 cm depths) under monocultural coffee (MC) and agroforestry (AF) systems in the Atlantic Coastal Rainforest (Brazil). The agricultural systems were 5 years old (Young), 15-20 years old (Medium) and 20-24 years old (Old). Adapted from Cardoso et al. (2003a).	35
	<b>Capítulo 4</b>	
1	Percentagem de glomalina total (GT), na camada de 0-20 cm de profundidade, nas classes agregado de 4-2 (a), 2-1 (b) e 1-0,5 mm (c), em café agroecológico a pleno sol (PS) e sistema agroflorestal (SAF) em três propriedades diferentes identificadas pelas iniciais de seus proprietários (Ângelo - An, Romualdo - Ro, Fernando - Fe) e Mata nativa (MN), Araponga, MG. As médias seguidas pela mesma letra dentro de cada propriedade não difere entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.	79
2	Percentagem de glomalina total (GT) nas classes de 4-2 (a), 2-1 (b) e 1-0,5 mm (c) na camada de 20-40 cm de profundidade, em café agroecológico a pleno sol (PS) e sistema agroflorestal (SAF) em três propriedades diferentes identificadas pelas iniciais de seus proprietários (Ângelo - An, Romualdo - Ro, Fernando - Fe) e Mata nativa (MN), Araponga, MG. As médias seguidas pela mesma letra dentro de cada propriedade não difere entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.	80
3	Percentagem de carbono orgânico total (COT) nas classes de 4-2 (a), 2-1 (b) e 1-0,5 mm (c) na camada de 0-20 cm de profundidade, em café agroecológico a pleno sol (PS) e sistema agroflorestal (SAF) em três propriedades diferentes identificadas pelas iniciais de seus proprietários (Ângelo - An, Romualdo - Ro, Fernando - Fe) e Mata nativa (MN), Araponga, MG. As médias seguidas pela mesma letra dentro de cada propriedade não difere entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.	82
4	Percentagem de carbono orgânico total (COT), na camada de 20-40 cm de profundidade, nas classes de agregados de 4-2 (a), 2-1 (b) e 1-0,5 mm (c), em café agroecológico a pleno sol (PS) e sistema agroflorestal (SAF) em três propriedades diferentes identificadas pelas iniciais de seus proprietários	83

(Ângelo - An, Romualdo - Ro, Fernando - Fe) e Mata nativa (MN), Araponga, MG. As médias seguidas pela mesma letra dentro de cada propriedade não difere entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

### Capítulo 5

1	Percentual de colonização micorrízica das diferentes espécies vegetais nos sistemas Mata nativa (MN), Agroflorestal (SAF) e Pleno sol (PS) nas propriedades do Ro (a) An (b) e Fe (c). Médias seguidas pela mesma letra dentro e entre sistemas não difere entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.	109
---	--	-----

### Capítulo 6

1	Ilustração geral do sistema de vaso duplo conectado.	127
2	Ilustração detalhada do sistema de vaso duplo conectado.	128
3	Componentes do olfatômetro (A) e calibração do fluxo de ar no sistema (B).	132
4	Percentagem de colonização micorrízica após a germinação da semente de <i>phaseolus vulgaris</i> em experimento conduzido em condições controladas.	133
5	Escolha de fêmeas <i>Phytoseiulus persimilis</i> quando oferecidos voláteis de plantas de feijão micorrizadas (M <sup>+</sup> ) e não micorrizadas (M <sup>-</sup> ), sem ácaros (A <sup>-</sup> ) ou infestadas com <i>Tetranychus urticae</i> (A <sup>+</sup> ). As barras seguidas por “ <sup>o</sup> ” são significativas a 10%, “e” por “ns” não significativa pelo teste Binomial; aquelas seguidas por “*” são significativas a 5% e “***” a 1% pelo teste Chi <sup>2</sup> . Frações referem-se a relação da quantidade de ácaro que escolheu um ou outra planta em relação ao total de ácaros testados (=20).	134



## RESUMO

TAVARES, Rodrigo de Castro, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, setembro de 2011. **Funcionalidade das micorrizas arbusculares em cafezais agroecológicos.** Orientadora: Irene Maria Cardoso. Coorientadores: Eduardo de Sá Mendonça, Ivo Jucksch e Maurício Dutra Costa.

A Zona da Mata de Minas Gerais é uma região que historicamente tem sofrido intensa degradação de solos e perda da floresta nativa. Nesse ambiente, os solos tendem a ser distróficos e álicos, ocorrendo solos eutróficos apenas nas partes mais baixas do relevo. O profundo manto de intemperismo que associado ao relevo acidentado, favorece a perda de nutrientes. Nessa região, a fragmentação das propriedades é acompanhada de uma distribuição bastante desigual de recursos, onde os pequenos agricultores não têm terra suficiente para a reprodução da unidade familiar. A cultura do café (*Coffea arabica* L.) é uma das principais atividades produtivas da região, praticada em solos de encosta, principalmente por pequenos agricultores. Nesse contexto, a implantação de sistemas baseados nos princípios agroecológicos é uma alternativa que permite a conservação do solo e a manutenção da biodiversidade local. Em 1994, os agricultores familiares do município de Araponga, Zona da Mata Mineira, optaram por conciliar a produção de café com a sustentabilidade ambiental, surgindo a idéia da produção de café agroecológico, agroflorestal ou a pleno sol. Os sistemas agroecológicos são manejados com o baixo uso de adubos químicos, a não utilização de agrotóxico e o não revolvimento dos solos, tendo como ênfase a ciclagem de nutrientes. Nos sistemas agroflorestais (SAF), ao contrário do sistema a Pleno Sol (PS) houve a incorporação do componente arboreo, priorizando a utilização de espécies nativas da Mata Atlântica e ou frutíferas. Após a consolidação desses agroecossistemas (18 anos) e diversos estudos (estoques de carbono orgânico e fósforo no solo; indicadores físicos, químicos e biológicos; fluxo hídrico; ciclagem de nutrientes e diversidade de espécies vegetais) surge a necessidade de avaliar a funcionalidade de organismos chave desses sistemas, como os fungos micorrízicos arbusculares (FMAs). Esses microssimbiontes desempenham diversas funções que são fundamentais para perpetuação desses agroecossistemas. A ação dos FMAs é atribuída, frequentemente, ao aumento no volume de solo explorado pela planta hospedeira, ocasionando uma

maior absorção de água e nutrientes. Entretanto, outros benefícios são conferidos as plantas micorrizadas, como a proteção do sistema radicular contra patógenos; tolerância ao ataque de herbívoros; salinidade e elementos fitotóxicos, como o Alumínio (Al) ou metais pesados. Além disso, a rede micéial desses fungos é importante na estruturação e no aporte de Carbono (C) do solo (hifas e glomalina). A glomalina é uma glicoproteína hidrofóbica produzida pelos FMAs e que se acumula no solo em concentrações de mg por g<sup>-1</sup>. Essa glicoproteína permanece por anos ou décadas nos solos, com períodos de residência de 6 a 42 anos. A dinâmica da glomalina no solo ainda é pouco compreendida, entretanto, fatores como o manejo agrícola das áreas, a disponibilidade de espécies hospedeiras, balanço nutricional das plantas, disponibilidade de nutrientes, teores de CO<sub>2</sub> na atmosfera do solo e os atributos físico-químicos do solo podem afetar os estoques dessa proteína, principalmente aqueles que alteram a abundância e a diversidade dos FMAs. O objetivo do presente estudo foi avaliar a dinâmica da glomalina em áreas da Zona da Mata de Minas Gerais. E, ainda, a transferência de sinais químicos entre plantas conectadas via hifa dos FMAs. Para avaliação da dinâmica da glomalina no solo, foram selecionadas três propriedades de agricultores familiares (An, Ro e Fe) que cultivam café (*Coffea arabica* L.), na região de Araponga-MG. Em cada propriedade, foi amostrado o solo de um sistema a PS e um SAF. Como referência, amostrou-se o solo de uma mata nativa secundária (MN) representativa da região e dentro dos domínios da Floresta Atlântica. Foram retiradas quatro amostras compostas de solo na entrelinha de plantio e próximo ao terço basal do dossel do cafeeiro, em diferentes profundidades. Analisou-se: os teores glomalina total (GT) e facilmente extraível (GFE); carbono orgânico total (COT); nitrogênio total; carbono da glomalina (CG); nitrogênio da glomalina (NG); teores de glomalina nas classes de agregados (4-2, 2-1 e 1-0,5 mm de diâmetro); diâmetro médio geométrico (DMG); diâmetro médio ponderado (DMP); índice de estabilidade de agregados (IEA); Carbono lábil (C<sub>L</sub>); Carbono não lábil (C<sub>NL</sub>); densidade do solo; teor de argila; argila dispersa em água (ADA); colonização micorrízica do cafeeiro; espécies espontâneas; espécies arbóreas dos agroecossistemas e raízes extraídas do solo; número de esporos dos FMAs; peso de raízes; pH; P disponível; soma de bases (SB); capacidade de troca catiônica total (CTC<sub>total</sub>) e efetiva (CTC<sub>efetiva</sub>); alumínio trocável (Al<sup>3+</sup>) e acidez potencial (H+Al). Por fim, para demonstrar a conexão entre plantas por hifas de MAs e a transferência de sinal entre plantas, foi construído um sistema de vasos duplos conectados. Os

resultados indicaram que os agroecossistemas com cafezais da Zona de Mata de Minas Gerais apresentam elevados estoques de glomalina. Os FMAs aportam quantidades significativas de C e N orgânico no solo, na forma de glomalina. Os agregados de maior diâmetro apresentam maiores teores de glomalina. Alguns atributos físicos, químicos e biológicos do solo interferem nos teores de glomalina. Os sistemas agroflorestais podem contribuir para o aumento da restauração dos teores de glomalina, mas isso dependerá de características dos sistemas, como idade, espécie e quantidade de indivíduos arbóreos. Em um dos cafezais estudados, a introdução do componente arbóreo em área adjacente a um cafezal agroecológico a pleno sol, com o mesmo histórico de degradação, resultou em maiores estoques de glomalina no solo. Na transferência de sinais, verificou-se que a técnica do vaso duplo conectado é adequada para observar a indução de defesa indireta em plantas conectadas, via rede micelial, dos FMAs.

## ABSTRACT

TAVARES, Rodrigo de Castro, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, september 2011. **Functionality of mycorrhizal fungi in coffee agroecosystems.** Advisor: Irene Maria Cardoso. Co-advisor: Eduardo de Sá Mendonça, Ivo Jucksch e Maurício Dutra Costa.

The Zona da Mata of Minas Gerais is a region that historically has suffered severe soil degradation and loss of native forest. In this environment, the soils tend to be undernourished and acidic, eutrophic soils occurring only in the lower parts of the relief. The deep weathering mantle and associated to topography favors the loss of nutrients. In this region, the fragmentation of the properties is accompanied by a very unequal distribution of resources, where small farmers do not have enough land for reproduction of the family unit. The culture of coffee (*Coffea arabica* L.) is one of the main productive activities in the region, practiced on hillside soils, mainly by small farmers. In this context, the deployment of the systems based on agroecological principles in an alternative that allows for soil conservation and maintenance of local biodiversity. In 1994 farmers in the municipality of Araponga Forest zone mining chose to combine the production of the coffee with environmental sustainability, giving rise to the idea of coffee production in agroecological, agroforestry or the sun coffee. The agroecological systems are management with low use of chemical fertilizers, no use pesticides, the untilled soil and with an emphasis on nutrient cycling. In agroforestry systems (SAF), unlike the system to sun coffee (PS) the inclusion of the tree component, prioritizing the use of native Atlantic Forest and or fruit. After the consolidation of these agroecosystems (18 years) and several studies have as its theme: carbon stocks organic phosphorus in the soil, indicators of physical, chemical and biological water flow, nutrient cycling and plant species diversity, there is the need to assess the functionality of key organizations such systems, such as mycorrhizal fungi (AMF). These microsymbionts perform several functions that are critical to the perpetuation of these ecosystems. The action of AMF is attributed often to the increase in the volume of soil explored by the host plant, increases the absorption of water and nutrients. However, other benefits are conferred on the mycorrhizal plants, such as protection against root pathogens, tolerance to attack by herbivores, salinity, phytotoxic elements such as aluminium (Al) or heavy metals. Furthermore, the network mycelial fungi is important in the structure and carbon (C) input of the soil (hyphae and

glomalin). Glomalin is a hydrophobic glycoprotein produced by the AMF and accumulates in the soil concentrations in mg per g<sup>-1</sup>. This glycoprotein remains for years or decades in the soil, with stays of 6-42 years. The dynamics of glomalin in the soil is still unclear, however, factors such as management of agricultural areas, the availability of host species, nutrient balance of plants, nutrient availability, levels of CO<sub>2</sub> in the atmosphere and the soil physical and chemical attributes of the soil can affect the stocks of this protein, especially those that alter the abundance and diversity of AMF. The aim of this study was to evaluate the dynamics of glomalin in areas of Zona da Mata of Minas Gerais. And yet, the transfer of chemical signals between plants connected by hyphae of AMF. To assess the dynamics of glomalin in the soil were selected three family farms (An, Ro e Fe), which grow coffee (*Coffea arabica* L.) in the region of Araçuaia-MG. In each farm was sampled the soil from one an agroforestry system (SAF) and sun coffee system (PS). As a reference, sampled the soil is of a secondary native forest (MN) representative of the region and within the areas of Atlantic Forest. Were taken from four composite samples of soil between the rows of planting and near the basal third of the canopy of coffee at different depths. We analyzed the levels total glomalin (GT) and easily extractable glomalina (GFE), total organic carbon (COT), total nitrogen (NT), carbon glomalin (CG), the nitrogen of glomalin (NG), the levels of glomalin on aggregate classes (4-2, 2-1 and 1 to 0.5 mm in diameter), geometric mean diameter (DMG), mean weight diameter (DMP) of aggregates stability index (ASI), labile carbon (C<sub>L</sub>) and carbon not labile (C<sub>NL</sub>), bulk density (Ds), clay content, water-dispersible clay (ADA), mycorrhizal colonization of coffee, pontaneous species, tree species of agroecosystems, and roots extracted from s the ground, number of spores of AMF, weight of roots, pH, available P, sum of bases (SB), total cation exchange capacity (CTC<sub>total</sub>) and effective (CTC<sub>efetiva</sub>), exchangeable aluminum (Al<sup>3+</sup>) and potential acidity (H + Al). Finally, to demonstrate the connection between plants of hyphae of an AM signal and the transfer plants built between a double system of vessels connected. The results indicated that agroecosystems with coffee Zona Mata de Minas Gerais have high stocks of glomalin. The AMF they contribute significant amounts of organic C and N in the soil as glomalin. Aggregates of larger diameter have higher levels of glomalin. Some physical, chemical and biological soil affect the levels of glomalin. The agroforestry systems can contribute to increase the restoration of the levels of glomalina, but this will depend on system characteristics,

such as age, type and quality of individual trees. In a study of coffee, the introduction of tree component in an area adjacent to an agroecological sun coffee, with the same history of degradation, resulted in higher stocks of glomalin in the soil. In signal transduction, it was found that the technique of double pot proper is connected to note the induction of plant defense indirectly connected via the network mycelial AMF.

## CAPITULO 1

### 1.1 Introdução geral

A qualidade ambiental nos ecossistemas depende diretamente da manutenção e preservação da qualidade do solo que pode ser definida como a capacidade do mesmo funcionar dentro dos limites do ecossistema, sustentar a produtividade biológica, manter a qualidade ambiental e promover a saúde vegetal e animal (Doran et al., 1996). Os impactos negativos sobre os atributos físicos, químicos e biológicos do solo podem promover danos a sua qualidade, devido à perda de biodiversidade, redução da cobertura do solo, alteração nos ciclos dos elementos químicos, modificações no balanço hídrico do ecossistema, degradação da estrutura do solo, erosão, contaminação do lençol freático, além de outras consequências adversas ao sistema como um todo (Tilman et al., 2001; Foley et al., 2005). Esses impactos podem ser causados pela adoção de sistemas agrícolas simplificados, já que esses tipos de sistemas não reconhecem a dinâmica ecológica como parte fundamental do processo. Os problemas ocasionados por esses modelos simplificados de agricultura têm despertado para a necessidade do uso mais eficiente do recurso solo, o que pressupõe o uso mais eficaz do seu recurso biológico. Os organismos do solo são responsáveis por melhorias nos aspectos químicos (nutrientes, por exemplo) e físicos (estrutura, porosidade, retenção de umidade, etc), e para que esses organismos possam atuar de forma mais eficaz é fundamental a adoção de práticas de manejo que promovam a manutenção dos organismos do solo, como os sistemas agroflorestais (SAFs).

Os SAFs combinam espécies arbóreas e/ou animais simultaneamente ou sequencialmente na mesma área e objetivam otimizar os benefícios proporcionados pelas diversas interações que ocorrem entre os componentes do ecossistema (Farrell & Altieri, 2002). Em uma iniciativa de conciliar a produção de café (*Coffea arabica* L.) com os princípios ecológicos, os agricultores da Zona da Mata, apoiados pelo Centro de Tecnologias Alternativas da Zona da Mata (CTA-ZM), em 1994, iniciaram uma experimentação participativa, com a finalidade de adotar os sistemas agroflorestais com o café. A sistematização dessa experimentação (Souza, 2006) mostrou que os SAFs contribuíram: com a redução da erosão dos solos; com o

aumento da qualidade do solo, da ciclagem de nutrientes, e com a diversificação da produção, conciliando, assim, sustentabilidade ecológica com produção de alimentos (Young, 1997).

Nas regiões tropicais, os SAFs são planejados com o objetivo de imitar a dinâmica das florestas tropicais. Portanto, esses sistemas têm como ênfase, principalmente a diversidade biológica e a ciclagem de nutrientes, baseando-se nos princípios ecológicos. Isso proporciona aos SAFs uma elevada resiliência, resistência ao ataque de pragas e doenças, preservação dos estoques de matéria orgânica e manutenção da fertilidade do solo, além de promover condições satisfatórias para uma melhor atividade biológica (Ewel, 1999; Souza, 2006; Van Noordwijk & Ong, 1999).

Dentre as interações que ocorrem no solo, podem-se destacar as interações entre a planta e a microbiota, em especial os microrganismos habitantes da rizosfera das plantas, como as bactérias fixadoras de nitrogênio e os fungos micorrízicos.

As micorrizas são associações mutualistas entre as raízes das plantas e um grupo específico de fungos do solo, que podem ser agrupados em quatro tipos principais: ectomicorrizas, micorriza orquidoide, micorriza ericoide e micorriza arbuscular (Smith & Read, 2008). Nos ecossistemas tropicais, as micorrizas arbusculares (MAs) são o grupo mais importante, que engloba os fungos pertencentes ao filo Glomeromycota, com cerca de 160-200 espécies descritas (Invam, 2011; Souza et al., 2008). Nos ecossistemas brasileiros foram encontradas 100 espécies (Sturmer & Siqueira, 2008). A denominação arbuscular decorre da formação de estruturas fúngicas chamadas de arbúsculos, que se formam no interior do córtex radicular. Essas estruturas dicotômicas constituem o sítio de troca entre o fungo e a planta (Smith & Read, 2008).

Os efeitos benéficos desses microssimbiontes são frequentemente atribuídos ao aumento no volume de solo explorado pela planta hospedeira, ocasionando um aumento na absorção de água e nutrientes (Bolan, 1991; Garg et al., 2006; Smyth & Read, 2008). Além deste, outros benefícios são conferidos as plantas associadas aos fungos micorrízicos arbusculares (FMAs), como: a proteção do sistema radicular contra patógenos (Elsen et al., 2008; Pozo & Azcón-Aguilar, 2007); tolerância ao ataque de herbívoros (Hoffmann et al., 2011; Nishida et al., 2010); salinidade (Al-Karaki, 2000; Tavares, 2007) e elementos fitotóxicos, como o Al (Rufyikiri et al., 2000) ou metais pesados (Andrade et al., 2003). As hifas dos FMAs são importantes



na estruturação do solo, principalmente na formação e estabilização dos agregados (Rillig & Mummey, 2006), e no aporte de C no solo (Rillig et al., 2001a; Zhu & Miller, 2003), contribuindo para redução da erosão. Os FMAs podem atuar, ainda, no aumento na diversidade das espécies vegetais (Van der Heijden et al., 1998). Portanto, os FMAs são multifuncionais nos agroecossistemas (Newsham et al., 1995).

Outra característica dos FMAs é a formação de uma rede micelial que pode interligar os sistemas biótico e abiótico dos agroecossistemas (Rillig, 2004), ou, ainda, as diversas espécies vegetais. Essas redes entre hospedeiros servem de elo bidirecional de nutrientes, açúcares e sinais químicos (Rillig & Allen, 1999; Song et al., 2010). Portanto, o estudo desses fungos nos agroecossistemas pode ser um passo em direção à sustentabilidade.

Recentemente, alguns pesquisadores identificaram uma glicoproteína associada à atividade dos FMAs. A descoberta da glomalina teve início em meados da década de 90, com o grupo de pesquisadores norte americanos liderados pela pesquisadora Sara F. Wright. Ao produzir e testar um anticorpo do tipo monoclonal (MAb), que supostamente era específico para o *Glomus intraradices* Schenck & Smith (Wright, 2000), identificaram reação positiva do MAb com uma molécula desconhecida. Para a produção de linhagens celulares do anticorpo MAb, 0,5 mL de solução fisiológica com esporos esmagados de FMAs foi injetada (intraperitoneal) em ratos albinos. Assim, produziu-se a hibridoma 32B11 que foi selecionada devido a sua reação positiva pelo ensaio de enzyme-linked immunosorbent (ELISA), a molécula alvo (Wright, 2000). O anticorpo MAb32B11 sensível à presença dessa nova molécula foi produzido. A reatividade do MAb32B11 foi detectada indiretamente por um ensaio de imunofluorescência de esporos jovens e hifas de *G. intraradices*, além de isolados de diferentes gêneros dos FMAs (Wright et al., 1996). A baixa reatividade do MAb32B11 ao fungo patogênico *Leptosphaeria korrea* J. C. Walker não foi considerada um impedimento para utilização do mesmo na quantificação da molécula alvo presente nas hifas e esporos dos FMAs (Driver et al., 2005; Wright, 2000; Wright & Upadhyaya, 1996). A análise de eletroforese capilar demonstrou que a molécula reativa ao anticorpo era uma glicoproteína (Wright et al., 1998) e, por ser produzida em abundância por fungos micorrízicos membros da ordem glomales, foi denominada de glomalina (Wright & Upadhyaya, 1996). Portanto, o MAb32B11 foi produzido e testado para a reatividade contra quantidades

conhecidas de glomalina no extrato do solo (Wright et al., 1996). A produção desta glicoproteína pelas hifas dos FMAs também foi comprovada, pois se observou sua síntese em zonas livres das raízes das plantas (Wright & Upadhyaya, 1999). Wright & Upadhyaya, (1996) destacaram que o aumento da idade das hifas tornou a glomalina não imunorreativa ao anticorpo e que, provavelmente, apenas hifas jovens e/ou depósitos recentes são imunorreativos. Estudos analisando a glomalina extraída do solo por SDS-PAGE (Rillig et al., 2001b; Wright et al., 1996; Wright & Upadhyaya, 1996), NMR (Rillig et al., 2001b), eletroforese capilar (EC) (Wright et al., 1998) e C, H, N análise por combustão (Rillig et al., 2001b) demonstraram sua semelhança com a glomalina extraída em meio artificial (Nichols, 2003).

O protocolo utilizado para extração da glomalina do solo inicialmente foi estabelecido por Wright & Upadhyaya (1996), que, em função do procedimento de extração Wright & Upadhyaya (1996), definiram essa glicoproteína em duas frações: a facilmente extraível (GFE) e a glomalina Total (GT). Para a GFE foi determinada a extração (0,25 g de solo) em solução de citrato de sódio a 20 mM a pH 7,0 (2 mL), aquecida na autoclave (121°C) de 30 a 90 minutos. Já para a GT foi determinada a extração (0,25 g de solo) em solução de citrato de sódio a 50 mM a pH 8,0 (2 mL), aquecida na autoclave por 90 minutos (121°C), com imediata centrifugação após o ciclo de autoclavagem em ambas as frações. Porém, em seguida, a metodologia foi modificada: mantiveram-se as concentrações da solução de citrato de sódio e a centrifugação (após cada ciclo de autoclavagem), alterando o tempo de aquecimento na autoclave para 30 minutos na GFE (única extração) e 60 minutos na GT (Wright & Upadhyaya, 1998). Ainda na GT, definiu-se que o solo deveria sofrer ciclos sucessivos de aquecimento na autoclave com renovação do citrato de sódio, até que o sobrenadante não apresentasse uma coloração marrom escura, típica da glomalina (Wright & Upadhyaya, 1998). De acordo com Rillig et al. (2001a), em alguns casos, para extração total da glomalina, os ciclos de aquecimento de 60 minutos podem chegar a 23 minutos.

A quantificação da concentração de glomalina após a sua extração do solo é normalmente determinada pelo ensaio de proteínas totais de Bradford (GT ou GFE) e pelo teste de imunorreatividade ao anticorpo MAb32B11 (IRTG e IREEG) (Wright et al., 1996), que apresentam alta correlação positiva entre si (Wright & Upadhyaya, 1996, 1999; Wright et al., 1996). Ambos os métodos tem sido utilizados na quantificação dos teores de glomalina no solo (Wright et al., 1996). O ensaio de

Bradford detecta todos os peptídeos com tamanho de 3000 Da (Rosier et al., 2006) e usa a soro albumina bovina como proteína padrão, pois seu peso molecular é similar ao da glomalina (Gadkar & Rillig, 2006; Rosier et al., 2006). Além disso, esse ensaio é simples, rápido e apresenta repetibilidade (Halvorson & Gonzalez, 2006). Wright & Upadhyaya (1998) pressupõem a total desnaturação das outras proteínas e outras moléculas do solo, com exceção da glomalina. Fato este que tem sido questionado (Rosier et al., 2006), pois polifenóis, ácidos húmicos e materiais proteináceos (Bolliger et al., 2008; Whiffen et al., 2007) podem ser extraídos e quantificados como glomalina (Schindler et al., 2007). O ensaio de Bradford não é específico para glomalina, e algumas substâncias co-extraídas podem interferir no método (Rosier et al., 2006).

Por outro lado, o ensaio de proteína imunorreativo ou de ELISA é relativamente específico (alta especificidade, afinidade e homogeneidade) (Goding, 1986), pois utiliza um anticorpo monoclonal (MAb32B11) na quantificação da glomalina (Wright, 2000). Entretanto, esse método pode subestimar a glomalina do solo, pois durante o processo de extração pode ocorrer redução na imunoreatividade, devido a condições que alteram o site de ligação do anticorpo (Nichols, 2003; Wright & Upadhyaya, 1999). Os valores observados de glomalina, extraída do solo e de meio artificial (potes com areia), evidenciam que nem todo material extraído do solo é imunorreativo, uma vez que o anticorpo monoclonal sensível a glomalina foi produzido de esporos de FMAs, oriundos de meio artificial e não contra a glomalina extraída do solo (Nichols, 2003). Além disso, a reatividade do anticorpo pode ser reduzida, devido a alterações conformacionais no site de ligação desse anticorpo, proporcionada pela elevação da temperatura (121°C) e pelo período prolongado de aquecimento (30 a 60 minutos) (Nichols, 2003). No solo, a matéria orgânica, os metais (tais como Fe), os minerais da fração argila e outras substâncias podem estar associados à glomalina, além das interações hidrofóbicas estabelecidas entre a glomalina e a fase líquida do solo (Nichols, 2003).

Essa proteína é produzida em grandes quantidades no solo, principalmente nos ecossistemas tropicais, podendo contribuir com percentuais iguais ou superiores a 5% do C orgânico (Rillig et al., 2003, 2001) e do N orgânico (Lovelock et al., 2004). Desse modo, os FMAs podem aportar ao solo na forma de glomalina, 1,45 t/ha de C em áreas sob floresta tropical, apenas nos 10 cm da camada superficial do solo, tornando-se um compartimento estratégico de carbono orgânico do solo

(Lovelock et al., 2004; Rillig et al., 2001a). Isso é especialmente interessante para conservação do C no solo, pois o período de residência da glomalina no solo gira em torno de 6 a 42 anos (Rillig et al., 2004; Rillig et al., 2001a).

A dinâmica dos estoques de glomalina pode ser regulada por fatores relacionados aos atributos físicos, químicos e biológicos, principalmente aqueles que interferem na abundância e composição dos FMAs (Nichols & Wright, 2005; Oehl et al., 2009; Treseder & Cross, 2006; Treseder & Turner, 2007). Portanto, fatores como a fertilidade do solo, pH, concentração de  $Al^{3+}$ , densidade do solo, densidade de raízes e disponibilidade de espécies hospedeiras podem afetar positiva ou negativamente os estoques dessa proteína no solo (Bai et al., 2009; Halvorson & Gonzalez, 2006; Kohler et al., 2010; Lutgen et al., 2003; Nichols & Wright, 2005; Purin et al., 2006; Treseder & Turner, 2007).

Além disso, o tipo de manejo nas áreas agrícolas pode ocasionar efeitos negativos sob os estoques de glomalina no solo, especialmente aqueles sistemas agrícolas que têm como práticas comuns o revolvimento do solo, o uso de agrotóxicos e de fertilizantes (Jarecki & Lal, 2005; Oehl et al., 2004; 2010). Portanto, Wright et al. (1999) observaram que apenas a conversão de um sistema intensivo de produção (cultivo convencional) para um menos intensivo (cultivo sem revolvimento), em três anos, aumentou o teor de glomalina em  $0,4 \text{ g kg}^{-1}$  de solo. Entretanto, a ausência de espécies vegetais e o pousio prolongado da área reduzem a glomalina no solo (Wright & Anderson, 2000). Morales et al. (2005) observaram grandes diferenças na quantidade de glomalina no solo, verificando que os agroecossistemas anuais com rotação de cultura, apresentaram o conteúdo de glomalina em torno de  $6,37$  a  $10,04 \text{ mg g}^{-1}$  (7,2-8,5% do total do C solo), enquanto que nos SAFs os valores variaram de  $41$  a  $114 \text{ mg g}^{-1}$  (18,5-26,1% do total do C solo). E, ainda, que os teores de glomalina no solo diminuem com a profundidade, sendo sempre superiores nos SAFs. Assim, a adoção de agroecossistemas diversificados, como o SAF, além de potencializar a síntese dessa proteína, aumentam os estoques de carbono no solo, a ciclagem e a biodiversidade na área, tornando o agroecossistema mais sustentável (Fernandes, 2007; Morales et al., 2005; Baez-Perez et al., 2010).

O maior conhecimento da diversidade e complexidade das interações biológicas presentes nos sistemas agroflorestais pode contribuir para a otimização e maior utilização desses sistemas, promissores na conservação dos recursos

ambientais (solo e água) e produção de alimentos (Rao et al., 1998). Os SAFs da Zona da Mata, passados 18 anos de sua implantação, já foram alvo de diversos estudos, como: a perda de solo e água (Franco, 2000), a distribuição de esporos dos FMAs e raízes (Cardoso et al., 2003), a diversidade de espécies vegetais (Fernandes, 2007; Siqueira, 2008), a ciclagem de nutrientes (Duarte, 2007), a qualidade física do solo (Aguiar, 2008), a dinâmica da matéria orgânica e do P (Xavier, 2010), o fluxo hídrico do solo (Carvalho, 2011), entre outros. Apesar dos resultados desses estudos terem confirmado a resiliência, a viabilidade e a sustentabilidade dos SAFs, estudos que visem avaliar a multifuncionalidade dos FMAs, principalmente no que diz respeito da glomalina, ainda são escassos.

## **1.2 Hipóteses e Objetivos gerais**

As hipóteses gerais deste estudo foram: (i) o manejo das áreas sob SAF ou a Pleno Sol proporciona diferenças nos estoques de glomalina no solo; (ii) os agroecossistemas com cafezais da Zona de Mata de Minas Gerais apresentam elevados estoques de glomalina; (iii) os teores de glomalina reduzem com a profundidade e a fração facilmente extraível da glomalina apresenta variação temporal em curto prazo; (iv) os FMAs aportam quantidades significativas de C e N orgânico no solo na forma de glomalina; (v) os agregados de maior diâmetro apresentam maiores teores de glomalina; (vi) alguns atributos físicos, químicos e biológicos do solo interferem nos teores de glomalina; (vii) as espécies vegetais, conectadas via hifa, dos FMAs trocam sinais químicos que induzem a defesa indireta da planta.

O objetivo geral do estudo foi avaliar a funcionalidade dos fungos micorrízicos arbusculares em cafezais agroecológicos e os objetivos específicos foram: (i) determinar os teores de glomalina nos diferentes sistemas de manejo e em profundidade; (ii) avaliar a contribuição da glomalina nos estoques de C e N orgânico do solo; (iii) determinar os teores de glomalina nas diferentes classes de agregados e correlacionar esses teores com alguns atributos físicos, químicos e biológicos do solo; (iv) demonstrar a transferência de sinais químicos entre plantas conectadas via rede micelial.

### 1.3 Estrutura geral da tese

O capítulo 2 “**Mycorrhizal associations in agroforestry systems**” visou discutir a multifuncionalidade das micorrizas arbusculares nos sistemas agroflorestais da região tropical; o capítulo 3 “**Glomalina em cafezais agroecológicos**” avaliou os estoques de glomalina nos agroecossistemas, considerando os efeitos do manejo (SAFs e Pleno Sol -PSs), da profundidade (0-10, 10-20 e 20-40 cm) e a contribuição da glomalina no C e N orgânico do solo; o capítulo 4 “**Glomalina e a estabilidade de agregados em cafezais agroecológicos**” descreveu sobre os teores da glomalina nas diferentes classes de agregados e sistemas de manejo, e, ainda, a sua correlação com alguns índices de estabilidade de agregados; o capítulo 5 “**Atributos físicos, químicos e biológicos do solo e as micorrizas em cafezais agroecológicos**” tratou da influência dos atributos do solo sob os estoques de glomalina; e o capítulo 6 “**Rede micelial de micorrizas troca sinais que induzem a defesa entre plantas: um ensaio metodológico**” abordou a transferência de sinais através de plantas conectadas por redes miceliais. Por fim, o capítulo 7 “**Considerações finais**” apresentou-se um sumário da tese, destacando os pontos principais e a necessidade de futuros estudos nas áreas de cafezais agroecológicos do município de Araponga, Zona da Mata de Minas Gerais.

## 1.4 Referências

- AGUIAR, M.I. Qualidade física do solo em sistemas agroflorestais. Universidade Federal de Viçosa, 2008. Dissertação (Mestrado em Solos e Nutrição de Plantas), Viçosa: UFV, 2008,79p.
- AL-KARAKI, G.N. Growth of mycorrhizal tomato and mineral acquisition under salt stress. *Mycorrhiza*, 10: 51–54, 2000.
- ANDRADE, S.A.L.; ABREU, C.A.; ABREU, M.F.; SILVEIRA, A.P.D. Interação de chumbo, da saturação por bases do solo e de micorriza arbuscular no crescimento e nutrição mineral da soja. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 27: 945–954, 2003.
- BAEZ-PEREZ, A.; GONZALES-CHAVEZ, A.; ETCHEVERS-BARRA, J.D.; PRAT, C.; HIDALGO-MORENO, C. Glomalina y secuestro de carbono en tepetates cultivados. *Agrociencia*, 44: 517-529, 2010.
- BAI, C.; HE, X.; TANG, H.; SHAN, B.; ZHAO, L. Spatial distribution of arbuscular mycorrhizal fungi, glomalin and soil enzymes under the canopy of *Astragalus adsurgens* Pall. in the Mu Us sandland, China. *Soil Biology & Biochemistry*, 41: 941–947, 2009.
- BOLAN, N.S. A critical review on the role of mycorrhizal fungi in the uptake of phosphorus by plants. *Plant Soil*, 134: 189–207, 1991.
- BOLLIGER, A.; NALLA, A.; JAKOB MAGID, J.; NEERGAARD, A.; ANITA DOLE NALLA, A.D.; BOG-HANSEN, T.C. Re-examining the glomalin-purity of glomalin-related soil protein fractions through immunochemical, lectin-affinity and soil labelling experiments. *Soil Biology & Biochemistry*, 40: 887–893, 2008.
- CARDOSO, I.M.; BODDINGTON, C.L.; JANSSEN, B.H.; OENEMA, O.; KUYPER, T.W. Distribution of mycorrhizal fungal spores in soils under agroforestry and monocultural coffee systems in Brazil. *Agroforestry Systems*, 58: 33–43, 2003.
- CARVALHO, A.F. Água e radiação em sistemas agroflorestais com café no Território da Serra do Brigadeiro – MG. Universidade Federal de Viçosa, 2011. Tese (Doutorado em Solos e Nutrição de Plantas) Viçosa: UFV, 2011.
- DORAN, J.W.; SARRANTONIO, M.; LIEBERG, M.A. Soil health and sustainability. *Advances Agronomy*, 56: 1-54, 1996.
- DRIVER, J.D.; HOLBEN, W.E.; RILLIG, M.C. Characterization of glomalin as a hyphal wall component of arbuscular mycorrhizal fungi. *Soil Biology & Biochemistry*, 37: 101–106, 2005.
- DUARTE, E.M.G. Ciclagem de nutrientes por árvores em sistema agroflorestal na Floresta Atlântica. Universidade Federal de Viçosa, 2007. Dissertação (Mestrado em Solos e Nutrição de Plantas) Viçosa: UFV, 2007, 115p.
- ELSEN, A.; GERVACIO, D.; SWENNEN, R.; DE WAELE, D. AMF-induced biocontrol against plant parasitic nematodes in *Musa* sp.: a systemic effect. *Mycorrhiza*, 18: 251–256, 2008.

- EWEL, J.J. Natural systems as a model for the design of sustainable systems of land use. *Agroforest Systems*, 45: 1–21, 1999.
- FERNANDES, J.M. Taxonomia e etnobotânica de Leguminosae Adans. em fragmentos florestais e sistemas agroflorestais na Zona da Mata Mineira. Universidade Federal de Viçosa, 2007. Dissertação (Mestrado em Botânica) Viçosa: UFV, 2007, 223p.
- FARRELL, J.G.; ALTIERI, M.A. Sistemas agroflorestais. In: ALTIERI, M.A. (ed) *Agroecologia: bases científicas para uma agricultura sustentável*. Agropecuária, Guaíba, 2002, 413–440p.
- FOLEY, J.A.; DEFRIES, R.; ASNER, G.P.; BARFORD, C.; GORDON BONAN, G.; CARPENTER, S.R.; CHAPIN, F.S.; COE, M.T.; DAILY, G.C.; GIBBS, H.K.; HELKOWSKI, J.H.; HOLLOWAY, T.; HOWARD, E.A.; KUCCHARIK, C.J.; MONFREDA, C.; PATZ, J.A.; PRENTICE, I. RAMANKUTTY, N.; SNYDER, P. K. Global consequences of land use. *Science*, 309: 570–574, 2005.
- FRANCO, F.S. sistemas Agroflorestais: uma contribuição para a conservação dos recursos naturais da Zona da Mata de Minas Gerais. Universidade Federal de Viçosa, 2000. Tese (Doutorado em Ciência Florestal) Viçosa: UFV, 2000, 147p.
- GADKAR, V.; DRIVER, J.D.; RILLIG, M.C. A novel in vitro cultivation system to produce and isolate soluble factors released from hyphae of arbuscular mycorrhizal fungi. *Biotechnology Letters*, 28: 1071-1076, 2006.
- GARG, N.; GEETANJALI, K.; AMANDEEP, K. Arbuscular mycorrhiza: nutritional aspects. *Archives Agronomy and Soil Science*, 52: 593–606, 2006.
- GODING, J.W. *Monoclonal Antibodies: Principles and Practice*. Academic Press, Inc. New York, USA, 1986, 485p.
- HOFFMANN, D.; VIERHEILIG, H.; SCHAUSBERGER, P. Mycorrhiza-induced trophic cascade enhances fitness and population growth of an acarine predator. *Oecologia*, 166: 141–149, 2011.
- HALVORSON, J.J.; GONZALEZ, J.M. Bradford reactive soil protein in Appalachian soils: distribution and response to incubation, extraction reagent and tannins. *Plant Soil*, 286: 339–356, 2006.
- INVAM, 2011. International culture collection of vesicular arbuscular mycorrhizal fungi. <http://invam.caf.wvu.edu>
- JARECKI, M.K.; LAL, R. Soil organic carbon sequestration rates in two long-term no-till experiments in Ohio. *Soil Science*, 170: 280–291, 2005.
- KOHLER, F.; CARAVACA, F.; ROLDÁN, A. An AM fungus and a PGPR intensify the adverse effects of salinity on the stability of rhizosphere soil aggregates of *Lactuca sativa*. *Soil Biology & Biochemistry*, 42: 429-434, 2010.
- LOVELOCK, C.E.; WRIGHT, S.F.; CLARK, D.A.; RUESS, R.W. Soil stocks of glomalin produced by arbuscular mycorrhizal fungi across a tropical rain forest landscape. *Journal Ecology*, 92: 278–287, 2004.



- LUTGEN, E.R.; MUIR-CLAIRMONT, D.; GRAHAM, J.; RILLIG, M.C. Seasonality of arbuscular mycorrhizal hyphae and glomalin in western Montana grassland. *Plant and Soil*, 257: 71–83, 2003.
- MORALES, A.L.; CASTILLO, C.R.; RUBIO, R.H.; GODOY, R.B.; ROUANET, J.L.M.; BORIE, F.B. Niveles de glomalina en suelos de dos ecosistemas del sur de Chile. *Revista de la Ciencia del Suelo y Nutrición Vegetal*, 5: 37-45, 2005.
- NEWSHAM, K.K.; FITTER, A.H.; WATKINSON, A.R. Multifunctionality and biodiversity in arbuscular mycorrhizas. *Trends in Ecology & Evolution*, 10: 407–411, 1995.
- NICHOLS, K.A.; WRIGHT, S.F. Comparison of glomalin and humic acid in eight native US soils. *Soil Science*, 170: 985–997, 2005.
- NICHOLS, K.A. Characterization of glomalina glycoprotein produced by arbuscular mycorrhizal fungi. University of Maryland, 2003. Thesis (Doctor Philosophy.) Maryland: MD, 2003, 285p.
- NISHIDA, T.; KATAYAMA, N.; IZUMI, N.; OHGUSHI, T. Arbuscular mycorrhizal fungi species-specifically affect induced plant responses to a spider mite. *Population Ecology*, 52: 507– 515, 2010.
- 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 & Biochemistry*, 42: 724-738, 2010.
- OEHL, F.; SIEVERDING, E.; INEICHEN, K.; MADER, P.; WIEMKEN, A.; BOLLER, T. Distinct sporulation dynamics of arbuscular mycorrhizal fungal communities from different agroecosystems in long-term microcosms. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 134: 257–268, 2009.
- OEHL, F.; SIEVERDING, E. Pacispora, a new vesicular arbuscular mycorrhizal fungal genus in the Glomeromycetes. *Journal of Applied Botany and Food Quality*, 78: 72- 82, 2004.
- POZO, M.J.; AZCÓN-AGUILAR, C. Unraveling mycorrhiza-induced resistance. *Current Opinion in Plant Biology*, 10: 393–398, 2007.
- PURIN, S.; KLAUBERG FILHO, O.; STURMER, S.L. Mycorrhizae activity and diversity in conventional and organic apple orchards from Brazil. *Soil Biology & Biochemistry*, 38: 1831–1839, 2006.
- RAO, M.R.; NAIR, P.K.R.; ONG, C.K. Biophysical interactions in tropical agroforestry systems. *Agroforestry Systems*, Holland, 38: 3-50, 1998.
- RILLIG, M.C.; MUMMEY, D.L. Mycorrhizas and soil structure. *New Phytology*, 171: 41–53, 2006.
- RILLIG, M.C. Arbuscular mycorrhizae and terrestrial ecosystem processes. *Ecology Letters*, 7: 740–754, 2004.
- RILLIG, M.C.; RAMSEY, P.W.; MORRIS, S.; PAUL, E.A. Glomalin, an arbuscular-mycorrhizal fungal soil protein, responds to land-use change. *Plant Soil*, 253: 293–299, 2003.

- RILLIG, M.C.; WRIGHT, S.F.; KIMBALL, B.A.; PINTER, P.J.; WALL, G.W.; OTTMAN, M.J.; LEAVITT, S.W. Elevated carbon dioxide and irrigation effects on water stable aggregates in a Sorghum field: a possible role for arbuscular mycorrhizal fungi. *Global Change Biology*, 7: 333-337, 2001a.
- RILLIG, M.C.; WRIGHT, S.F.; NICHOLS, K.A.; SCHMIDT, W.F.; TORN, M.S. Large contribution of arbuscular mycorrhizal fungi to soil carbon pools in tropical forest soils. *Plant Soil*, 233: 167-177, 2001b.
- RILLIG, M.C.; ALLEN, M.F. What is the role of arbuscular mycorrhizal fungi in plant to ecosystem responses to elevated atmospheric CO<sub>2</sub>? *Mycorrhiza*, 9: 1-8, 1999.
- RILLIG, M.C.; WRIGHT, S.F.; ALLEN, M.F.; FIELD, C.B. Rise in carbon dioxide changes soil structure. *Nature*, 400: 628, 1999.
- ROSIER, C.L.; HOYE, A.T.; RILLIG, M.C. Glomalin-related soil protein: Assessment of current detection and quantification tools. *Soil Biology & Biochemistry*, 38: 2205–2211, 2006.
- RUFYIKIRI, G.S.; DECLERCK, S.; DUFEY, J.E.; DELVAUX, B. Arbuscular mycorrhizal fungi might alleviate aluminium toxicity in banana plants. *New Phytology*, 148: 343–352, 2000.
- SCHINDLER, F.V.; MERCER, E.J.; RICE, J.A. Chemical characteristics of glomalin-related soil protein (GRSP) extracted from soils of varying organic matter content. *Soil Biology & Biochemistry*, 39: 320–329, 2007.
- SIQUEIRA, L.C. Levantamento florístico e etnobotânico do estrato arbóreo em sistemas naturais e agroflorestais, Araponga, Minas Gerais. Universidade Federal de Viçosa, 2008. Dissertação (Mestrado em Botânica) Viçosa: UFV, 2008, 118p.
- SMITH, S.E.; READ, D.J. *Mycorrhizal symbiosis*. 3. ed. New York: Academic Press. 2008, 769p.
- SONG, Y.Y.; ZENG, R.S.; XU, J.F.; LI, J.; SHEN, X.; YIHDEGO, W.G. Interplant Communication of tomato plants through underground common mycorrhizal networks. *Plos one*, 5:e13324, 2010.
- SOUZA, F.A.; SILVA, I.C.L.; BERBARA, R.L.L. Fungos micorrízicos arbusculares: Muito mais diversos do que se imaginava. In: MOREIRA, F.M.S.; SIQUEIRA, J. O.; BRUSSAARD, L (eds.). *Biodiversidade do solo em ecossistemas brasileiros*. Editora UFLA, Lavras, 2008, 483–536p.
- SOUZA, H.N. *Sistematização da experiência participativa com sistemas agroflorestais: rumo à sustentabilidade da agricultura familiar na Zona da Mata mineira*. Universidade Federal de Viçosa, 2006. Dissertação (Mestre em solos) Viçosa: UFV, 2006 127p.
- STURMER, S.L.; SIQUEIRA, J.O. Diversidade de fungos micorrízicos arbusculares em ecossistemas brasileiros. In: MOREIRA, F.M.S.; SIQUEIRA, J.O.; BRUSSAARD, L. (eds.). *Biodiversidade do solo em ecossistemas brasileiros*. Editora UFLA, Lavras, 2008, 537–583p.

- TAVARES, R.C. Efeito da inoculação com fungo micorrízico arbuscular e da adubação orgânica no desenvolvimento de mudas de sabiá (*Mimosa caesalpiniaefolia* Benth.), sob estresse salino. Universidade Federal do Ceará, 2007. Dissertação (Mestrado em Solos e Nutrição de Plantas) Fortaleza: UFC, 2007, 87p.
- TILMAN, D.; FARGIONE, J.; WOLFF, B.; D'ANTONIO, C.; DOBSON, A.; HOWARTH, R.; SCHINDLER, D.; SCHLESINGER, W.H.; SIMBERLOFF, D.; SWACKHAMER, D. Forecasting agriculturally driven global environmental change. *Science*, 292: 281–284, 2001.
- TRESEDER, K.K.; TURNER, K.M. Glomalin in Ecosystems. *Science Society American Journal*, 71: 1257–1266, 2007.
- TRESEDER, K.K.; CROSS, A. Global Distributions of Arbuscular Mycorrhizal Fungi. *Ecosystems*, 9: 305–316, 2006.
- VAN DER HEIJDEN, M.G.A.; KLIRONOMOS J.N.; URSIC, M.; MOUTOGLIS, P.; STREITWOLF-ENGEL, R.; BOLLER, T.; WEIMKEN, A.; SANDERS, I.R. Mycorrhizal fungal diversity determines plant biodiversity, ecosystem variability and productivity. *Nature*, 396: 69–72, 1998.
- VAN NOORDWIJK, M.; ONG, C.K. Can the ecosystem mimic hypotheses be applied to farms in African savannahs? *Agroforest Systems*, 45: 131–158, 1999.
- XAVIER, F.A.S. Soil organic matter stock and quality in agroforestry and full sun coffee systems. Universidade Federal de Viçosa, 2010. Tese (Doutorado em solos) Viçosa: UFV, 2010, 153p.
- WHIFFEN, L.K.; MIDGLEY, D.J.; MCGEE, A.P. Polyphenolic compounds interfere with quantification of protein in soil extracts using the Bradford method. *Soil Biology & Biochemistry*, 39: 691–694, 2007.
- WRIGHT, S.F. A fluorescent antibody assay for hyphae and glomalin from arbuscular mycorrhizal fungi. *Plant Soil*, 226: 171-177, 2000.
- WRIGHT, S.F.; ANDERSON, R.L. Aggregate stability and glomalin in alternative crop rotations for the central Great Plains. *Biology and Fertility of Soils*, 31: 249-253, 2000.
- WRIGHT, S.F.; STARR, J.L.; PALTINEANU, I.C. Changes in aggregate stability and concentration of glomalin during tillage management transition. *Soil Science Society of America Journal*, 63: 1825-1829, 1999.
- WRIGHT, S.F.; UPADHYAYA, A. Quantification of arbuscular mycorrhizal fungi activity by the glomalin concentration on hyphal traps. *Mycorrhiza*, 8: 283–285, 1999.
- WRIGHT, S.F.; UPADHYAYA, A.; BUYER, J.S. Comparison of N-linked oligosaccharides of glomalin from arbuscular mycorrhizal fungi and soils by capillary electrophoresis. *Soil Biology & Biochemistry*, 30: 1853-1857, 1998.
- WRIGHT, S.F.; UPADHYAYA, A. A survey of soils for aggregate stability and glomalin, a glycoproteins produced by hyphae of arbuscular mycorrhizal fungi. *Plant Soil*, 198: 97-107, 1998.

- WRIGHT, S.F.; UPADHYAYA, A. Extraction of an abundant and unusual protein from soil and comparison with hyphal protein of arbuscular mycorrhizal fungi. *Soil Science*, 161: 575–586, 1996.
- WRIGHT, S.F.; FRANKE-SNYDER, M.; MORTON, J.B.; UPADHYAYA, A. Time-course study and partial characterization of a protein on hyphae of arbuscular mycorrhizal fungi during active colonization of roots. *Plant Soil*, 181: 193-203, 1996.
- YOUNG, A. Agroforestry, soil management and sustainability. In: YOUNG, A. *Agroforestry for soil management* (eds.). 2nd ed. CAB international, ICRAF: Nairobi. 1997, 1-22p.
- ZHU, Y. G.; MILLER, R. M. Carbon cycling by arbuscular mycorrhizal fungi in soil-plant systems. *Trends in Plant Science*, 8: 407-409, 2003.

## CAPÍTULO 2

### **Mycorrhizal associations in agroforestry systems<sup>1</sup>**

#### **2.1 Introduction**

Since its first appearance 8,000 years BP, agriculture has caused large impacts on local to global scales (Ruddiman, 2003), and it currently remains a major driver of human-induced environmental change. Agriculture impacts on biological, chemical, and physical properties of soils, leading to biodiversity losses, decreases in soil coverage, changes in element cycles and water balance of ecosystems, degradation of soil structure, erosion, and contamination of groundwater, amongst other consequences (Tilman et al., 2001; Foley et al., 2005). Many, if not all, of these unwanted side effects are due to the practices of agro-ecosystem simplification, where ecosystem services provided by the soil are increasingly bypassed. The problems that this simplification has generated have highlighted the need to utilize soil resources efficiently — not only water and nutrients, but also the biological resources of the soils. It is expected that increased ecological sustainability through alternative use of soil resources will feed back to increased social sustainability of agricultural systems. The perceived need to seek alternatives to current agricultural practices has resulted in an enhanced interest in agroforestry systems. Under agroforestry, the needs for ecological sustainability can be reconciled with the needs for sustainable food production (Young, 1997). Agroforestry systems are based on a combination of tree with crop and/or animal species simultaneously or sequentially in the same area, and have as their major aim the optimization of beneficial ecological interactions among ecosystem components (Farrell & Altieri, 2002).

Tropical agroforestry systems are planned with the objective of mimicking tropical forests. Agroforestry systems put much emphasis on species diversity, and on the interactions between these different species. It is generally assumed, on the

---

<sup>1</sup>Publicado em 2010; Carvalho, A.M.X.; Tavares, R.C.; Cardoso, I.M.; Kuyper, T.W. P. Dion (ed.), *Soil Biology and Agriculture in the Tropics*, Soil Biology 21, DOI 10.1007/978-3-642-05076-3\_9, © Springer -Verlag Berlin Heidelberg.

basis of ecological principles, that agroforestry systems can be as productive as monocrop systems. Agroforestry systems also show larger resilience and resistance to attacks by pest species and diseases, in addition to maintaining organic matter, soil fertility, and biological activity at satisfactory levels (Souza, 2006; Young, 1997; Ewel, 1999; Van Noordwijk & Ong, 1999). However, we are confronted with a paradox. Whereas the path towards ecosystem simplification can successfully go along the path of methodological reductionism with the study of individual components in isolation, the route to sustainable agroforestry systems needs to take complexity and context-dependency as its point of departure. Therefore, knowledge on how to introduce and manage agroforestry systems is lagging behind, due to the specificity of each ecosystem and the great diversity and complexity of the interactions involved.

Among the interactions that occur in soils of agroforestry systems, we will focus in this chapter on interactions between plants and microbiota, especially those formed by roots and mycorrhizal fungi. However, mycorrhizal interactions cannot be studied in isolation, since further interactions with nitrogen-fixing bacteria and with other rhizosphere micro-organisms are an integral part of belowground complexity. The importance of mycorrhizal fungi and mycorrhizal associations is evidenced by the observation that they are ubiquitous in tropical soils. They have been present since the conquest of the terrestrial environment by higher plants (Brundrett, 2002).

Mycorrhizas are mutualistic associations between the roots of plants and certain soil fungi, which can be grouped into four types: ectomycorrhiza, orchid mycorrhiza, ericoid mycorrhiza, and arbuscular mycorrhiza (Smith & Read 2008). In tropical agroforestry systems, the arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) form the most important group. These fungi belong to the phylum Glomeromycota. At present, around 160–200 species have been described (INVAM, 2008; Souza et al., 2008), and over 100 species of AMF have been recorded from Brazilian agroecosystems (Stürmer & Siqueira, 2008).

A large part of the soil microbial biomass can be constituted of AMF material (Olsson et al., 1999). AMF can colonize virtually all plant types among Angiosperms and Gymnosperms. Some Pteridophytes and Bryophytes can also be colonized by AMF (Smith & Read, 2008). Observations that the overwhelming majority of agroforestry tree species form arbuscular mycorrhiza confirm this overall picture. In

a study of 101 tree species belonging to different families in southeastern Brazil, 93 of the evaluated species were colonized by AMF (Carneiro et al., 1998).

According to Siqueira et al. (2007) studies dealing with mycorrhizal associations in tropical tree species have been conducted in increasing numbers over recent decades, and about 500 noncrop species have been investigated for the occurrence, or the effect of mycorrhizal associations. Among the known mycorrhizal species, many are used by Atlantic Forest family farmers in agroforestry coffee systems (Cardoso et al., 2001; Siqueira, 2008; Table 1). However, studies examining arbuscular mycorrhizal colonization in a complete agroforestry system (and not only with individual tree species) are scarce (Pande & Tarafdar, 2004). A search on the Scopus database with the words “agroforestry” and “mycorrhiza” yielded around 50 articles. However, fewer than 20 articles went beyond the evaluation of mycorrhizal responses of individual tree species. As a consequence of this meager database, many mycorrhizal aspects of agroforestry, related to relations between plant and fungal species diversity, ecological succession, effect of tree management such as pruning or shading, and interactions between plants under agroforestry systems, remain underinvestigated.

Table 1 Mycorrhizal tree and shrub species used by smallholder farmers in agroforestry coffee systems, Zona da Mata of Minas Gerais, Atlantic Coastal Rainforest, Brazil

Family	Species	Reference
Anacardiaceae	<i>Mangifera indica</i>	Silveira and Gomes (2007)
	<i>Miracrodouon urundeuva</i>	Siqueira et al. (2007)
	<i>Schinus terebentifolium</i>	Zangaro et al. (2003)
Annonaceae	<i>Annona muricata</i> <sup>a</sup>	Silveira and Gomes (2007)
Apocynaceae	<i>Aspidosperma polyneurum</i>	Zangaro et al. (2002)
Araucariaceae	<i>Araucaria angustifolia</i>	Siqueira et al. (2007)
Bignoniaceae	<i>Tabebuia impetiginosa</i>	Carneiro et al. (1998)
	<i>T. schysotricha</i>	Zangaro et al. (2003)
	<i>T. serratifolia</i>	Siqueira and Saggin-Júnior (2001)
Bixaceae	<i>Bixa orellana</i> <sup>a</sup>	Carneiro et al. (1998)
Bombacaceae	<i>Chorisia speciosa</i>	Zangaro et al. (2003)
Cannabaceae	<i>Trema micrantha</i>	Carneiro et al. (1996)
Caricaceae	<i>Carica papaya</i> <sup>a</sup>	Silveira and Gomes (2007)
Casuarinaceae	<i>Casuarina equisetifolia</i>	Carneiro et al. (1998)
Cecropiaceae	<i>Cecropia glaziovii</i>	Zangaro et al. (2002)
	<i>C. pachystachya</i>	Zangaro et al. (2003)
Ebenaceae	<i>Diospyrus kaki</i>	Silveira and Gomes (2007)
Euphorbiaceae	<i>Manihot esculenta</i> <sup>a</sup>	Silveira and Gomes (2007)
Lauraceae	<i>Persea americana</i>	Silveira and Gomes (2007)
Leguminosae– Caesalpinioideae	<i>Caesalpinia ferrea</i>	Siqueira et al. (2007)
	<i>C. peltophoroides</i>	Siqueira et al. (2007)
	<i>Copaifera langsdorffii</i>	Carneiro et al. (1998)
	<i>Hymenaea courbaril</i>	Zangaro et al. (2003)
	<i>Pterogyne nitens</i>	Zangaro et al. (2002)
	<i>Schizolobium parahyba</i>	Carneiro et al. (1998)
	<i>Senna macranthera</i>	Carneiro et al. (1998)
	<i>S. multijuga</i>	Carneiro et al. (1998)
Leguminosae–Mimosoideae	<i>Annadenanthera peregrina</i>	Siqueira et al. (2007)
	<i>Enterolobium contortisiliquum</i>	Zangaro et al. (2003)
	<i>Inga sessilis</i>	Zangaro et al. (2003)
	<i>Leucaena leucocephala</i>	Siqueira and Saggin-Júnior (2001)
	<i>Piptadenia gonocantha</i>	Carneiro et al. (1998)
	<i>Mimosa caesalpiniaefolia</i>	Siqueira et al. (2007)
Leguminosae–Papilionoideae	<i>Cajanus cajan</i> <sup>a</sup>	Siqueira et al. (2007)
	<i>Machaerium nictitans</i>	Carneiro et al. (1998)
	<i>M. stipitatum</i>	Zangaro et al. (2003)
Malpighiaceae	<i>Malpighia emarginata</i> <sup>a</sup>	Silveira and Gomes (2007)
Malvaceae	<i>Luehea divaricata</i>	Zangaro et al. (2002)
	<i>L. grandiflora</i>	Siqueira and Saggin-Júnior (2001)
Melastomataceae	<i>Tibouchina granulosa</i>	Siqueira and Saggin-Júnior (2001)
Meliaceae	<i>Azadirachta indica</i>	Siqueira et al. (2007)
	<i>Cedrella fissilis</i>	Carneiro et al. (1998)
	<i>Melia azedarach</i>	Carneiro et al. (1998)
Musaceae	<i>Musa</i> sp. <sup>a</sup>	Silveira and Gomes (2007)
Myrsinaceae	<i>Rapanea ferruginea</i>	Siqueira et al. (2007)

(continued)



Table 1 (continued)

Family	Species	Reference
Myrtaceae	<i>Campomanesia xanthocarpa</i>	Zangaro et al. (2002)
	<i>Eugenia uniflora</i>	Zangaro et al. (2003)
	<i>Psidium guajava</i>	Zangaro et al. (2002)
Palmae	<i>Euterpe edulis</i>	Zangaro et al. (2003)
	<i>Syagrus romanzofianum</i>	Zangaro et al. (2003)
Rhamnaceae	<i>Colubrina glandulosa</i>	Zangaro et al. (2003)
	<i>Hovenia dulcis</i>	Carneiro et al. (1998)
Rutaceae	<i>Citrus</i> sp.	Silveira and Gomes (2007)
Solanaceae	<i>Solanum argenteum</i>	Zangaro et al. (2002)
	<i>S. granulatum</i>	Siqueira and Saggin-Júnior (2001)
Verbenaceae	<i>Aegiphila sellowiana</i>	Zangaro et al. (2003)
	<i>Cytharexylum mirianthum</i>	Zangaro et al. (2002)
	<i>Vitex montevidensis</i>	Zangaro et al. (2003)

<sup>a</sup>Shrub species

## 2.2 The multi-functionality of AMF in agro-ecosystems

The most obvious role of AMF in agro-ecosystems is to increase the soil volume exploited by the host plant. This leads to increased water and nutrient uptake, which in turn may enhance acquisition of other nutrients, for instance through associated N fixation (Bolan, 1991; Garg et al., 2006; Smith & Read, 2008). Other roles of AMF concern protection of the root system against pathogens (Pozo & Azcón-Aguilar, 2007; Elsen et al., 2008), salinity (Al-Karaki, 2000; Tavares, 2007), phytotoxic elements such as Al (Rufyikiri et al., 2000), or heavy metals (Andrade et al., 2003). AMF are also involved in the formation and maintenance of soil structure (Rillig & Mummey, 2006), and increase C input to soils (Rillig et al., 2001; Zhu & Miller 2003), both of these effects contributing to reduce erosion. Finally AMF also play a role in the maintenance of plant biodiversity (Van der Heijden et al., 1998). Mycorrhizal associations, therefore, are multifunctional in agro-ecosystems (Newsham et al., 1995). They have the potential to improve physical, chemical, and biological soil quality, including feedbacks between soil biota and plant communities.

A large body of literature on mycorrhizal associations has centered on a comparison between costs and benefits of the symbiosis, often expressed in the same carbon currency. Such studies have concentrated on conditions where nonmycorrhizal plants outperformed (in terms of biomass) mycorrhizal plants and have given rise to the concept of parasitic behavior of mycorrhizal fungi, or of a

continuum between mutualism and parasitism (Bethlenfalvay et al., 1983; Johnson, 1993; Johnson et al., 1997). Implicit in many of these studies is the argument that, considering the high costs for symbiosis which occur under conditions of nutrient, especially phosphorus, sufficiency, the mycorrhizal association represents a net carbon cost for the plant host in simplified agro-ecosystems, where plant nutrient uptake capacity almost matches plant needs (Bucher, 2007). Bhadalung et al. (2005) observed that in soils where maize was grown for 27 years and with application levels of  $180 \text{ kg ha}^{-1} \text{ year}^{-1}$  of N and  $\text{P}_2\text{O}_5$  (in the form of ammonium sulfate and triple superphosphate) there was a reduction of 70% in density and 40% in the diversity of AMF compared to the same soil without the application of fertilizers. Such conditions are hardly, if ever, found under agroforestry management, and the concept of the mutualism–parasitism continuum might be unimportant in such cases.

However, under conditions of severe nutrient limitation, the ability of the fungal mycelium to immobilize nutrients in its tissues, and hence to reduce the transfer of nutrients to the plant, could also result in lower performance of mycorrhizal plants compared to nonmycorrhizal plants. Such conditions could possibly occur in the most nutrient-depleted sites, hence diminishing the usefulness of agroforestry as a means for ecosystem rehabilitation.

The cost-benefit models of Johnson et al. (1997) and Schnepf & Roose (2006) propose that plants monitor the carbon-to-nutrient exchange rate, and that any deviation from the mean exchange rate is interpreted as a shift along the mutualism–parasitism continuum because of decreased coordination between plant and fungal responses. However, if carbon and nutrient fluxes are quantitatively unlinked, a larger context-dependency of mycorrhizal responses can be observed. The spatial and temporal heterogeneity of nutrient availability could result in larger variations in exchange rates between plants and fungus, without the need to invoke the parasitism terminology (Landis & Fraser, 2008). Especially in pulsed environments, characterized by periods of prolonged drought alternated with periods of higher water and nutrient availability, adjustment of the mutualism–parasitism balance could then be context-dependent. Under such conditions, the dynamics of a mycorrhizal network should differ, depending on whether it is synchronized with perennial agroforestry trees or else with the growth cycle of annual crops.

### **2.2.1 Implications of the AMF mycelium network**

Several functions performed by AMF are linked to the formation and maintenance of the mycelium network. In order for such a network to exist and be ecologically relevant, it is needed that at least some mycorrhizal species show low selectivity, and hence have the capacity to establish mycelial linkages between different plant species. Low fungal selectivity may or may not result in comparable responses of different plants to the same fungal species. The existence of such networks allows, at least from a theoretical perspective, the movement of carbon, water, and nutrients between plants belonging to different species, genera, or even families. The existence of such mycorrhizal networks (the wood-wide web) could therefore bring ecological consequences that seem to fit poorly with conventional theories on plant interactions (Fitter, 2001; Simard & Durall, 2004; Selosse et al., 2006). It has been proposed that such networks may reduce differences in competitive ability between plants. Plants benefiting from the network would include seedlings (Van der Heijden, 2004) or plants whose photosynthetic performance is poorer because of shading. Conceivably, mycorrhizal fungi could enhance plant species richness, in the case where competitively inferior plant species would be most prone to mycorrhizal associations, or decrease it, when the competitively superior plant species would be most responsive (Urcelay & Diaz, 2003).

With their very low levels of soil disturbance, agroforestry systems are particularly conducive to the build up and maintenance of mycorrhizal networks, as compared to the annual cropping systems characterized by regular disturbances and bare fallows. The existence of such networks can result in faster establishment of the mycorrhizal symbiosis in seedlings under agroforestry systems (Kuyper et al., 2004), because plant colonization tends to be faster from the mycelium than through spore germination (Brundrett & Abbott, 1994). However, the possibility of further ecological consequences of such networks remains disputed. With regard to the transfer of carbon in arbuscular mycorrhizal networks, the position now held by almost all mycorrhizal researchers is that such carbon movements remain completely under the control of the fungus and therefore interplant carbon transfer is unimportant (Pfeffer et al., 2004) — except in the case of completely or partly

mycoheterotrophic plants that can completely reverse carbon flow. Transfer of nutrients, especially transfer of nitrogen from an N-fixing plant to a neighboring plant in the same network, remains a more controversial issue (He et al., 2003). A recent study in agroforestry systems is consistent with a potentially large mycorrhizal role in this respect. Sierra & Nygren (2006) estimated N transfer from the N-fixing tree *Gliricidia sepium* to the grass *Dichanthium aristatum*. They claimed that around 25%–35% of the N in the grass adjacent to agroforestry plots was atmospheric in origin. They also observed a positive correlation between *Gliricidia* root density and amount of N in the grass derived from atmospheric sources, but no correlation between the grass N isotopic signature and the soil isotopic signature. Sierra & Nygren (2006) therefore suggested direct N transfer from trees to grass, for instance through root exudates (termed here “direct soil transfer”) or via common mycorrhizal networks (corresponding to “direct transfer through the mycorrhiza”). Unfortunately, the mycorrhizal status of the plants examined in this study was not investigated. Lower N transfer levels were observed from leguminous trees to coffee plants in an agroforestry system, where 5% of fixed N was directly transferred; again, mycorrhizas were not studied (Snoeck et al., 2000). In a simplified experimental design with nonmycorrhizal plants, Rao & Giller (1993) suggested that around 10%–15% of N found in the *Cenchrus ciliaris* grass was derived from N fixation by the legume *Leucaena diversifolia*.

Should urgently needed further research demonstrate the reality of direct N-transfer through the mycorrhizal network, then this recognition might lead to a re-evaluation of N-fixation studies based on  $^{15}\text{N}$  natural abundance. Basically, such studies compare the differences in  $^{15}\text{N}$  signal of legumes and reference plants, and make the implicit assumption that no N is directly transferred from legume to reference plants. Field data often show substantial variation in  $^{15}\text{N}$  values of different reference plants, resulting in different estimates of the amounts of N fixed by the legume. Such variation in  $^{15}\text{N}$  values of reference plants is poorly understood, and a re evaluation of its possible mycorrhizal origin is a research priority.

Selosse et al., (2006) reported that phosphorus can be moved between plants (with unilateral transfer being more frequent than bidirectional transfer) and can end up in shoots of receiver plants. Because P is less mobile and required in lower amounts than N, the transfer of P is less than that of N (Johansen & Jensen, 1996). Furthermore, the magnitude of P transfer is too small to significantly affect the

nutrition of the recipient plant. However, more intense P transfer (and also N transfer) occurs from dying roots – with root death occurring, for instance, as a consequence of shoot pruning or root pruning, both regular processes in agroforestry management. How pruning would affect the carbon contribution of individual plants to the common mycorrhizal network, and how individual plants subsequently benefit from that network, remain to be determined.

The importance of common mycorrhizal networks for water transfer and redistribution has received remarkably little attention. However, the role of the mycorrhizal network in hydraulic redistribution could be of particular importance in agroforestry systems. After deeply-rooted plants have taken up water from profound soil layers, the activity of neighboring shallow-rooted plants could be sustained by nocturnal water efflux coupled to water uptake and transfer by mycorrhizal fungi in superficial soil layers. This process of mycorrhiza-mediated hydraulic redistribution has been demonstrated for ectomycorrhizal and arbuscular mycorrhizal systems (Allen, 2007; Egerton-Warburton et al., 2007), but its importance for agroforestry still needs experimental proof.

### **2.2.2 Ecological implications for plants**

Agroforestry systems are hypothesized to harbor a high AMF species richness and a large AMF biomass, due to increased productivity and species richness of host plants, whether cultivated or spontaneous, and to a greater extension of the fungal network. However, the relationship between plant species richness and AMF species richness remains to a large extent unexplained. Methodologically, addressing these questions is not easy. First, AMF species can be both drivers and passengers, determining or following changes in plant species richness (Hart et al., 2001). Second, with increasing numbers of plant species, the likelihood of including highly mycotrophic plants increases, resulting in a positive relation between plant and fungal species richness due to a sampling effect. However, from a management point of view, increasing AMF species richness in agroforestry systems is only relevant if the fungal species that associate with trees also associate with the agricultural crops in a common network. Ingleby et al. (2007) did in fact demonstrate the sharing of the mycorrhizal network between the agroforestry tree *Calliandra calothyrsus* and the crops maize and bean.

Methods for assessing AMF species richness may yield different outcomes. If a persistent fungal network, rather than an annual and labile mycorrhizal mycelium, characterizes agroforestry systems, then one would expect that the fungal population be preferentially comprised of K-selected rather than of r-selected species.

However, the more prolific spore formers may belong to the latter group, and in this case a diversity estimate based on spore data only would yield biased data. Molecular methods may yield better data, but application of such methods often lags behind in developing countries, due to the absence of well-equipped laboratories. Jefwa et al. (2006) observed lower species diversity in agroforestry systems with *Sesbania macrantha* and *S. sesban* than in maize monocrops, and suggested that the higher species diversity in the maize fields was due to the short maize cropping season, inducing rapid root dynamics and turnover, as compared to the much longer growth cycles of the agroforestry plots. Other studies yielded opposite data. In Ethiopia, Muleta et al. (2008) found higher abundance of AMF spores in agroforestry systems (especially when legumes served as shade crops) than in monocultural systems. Similar observations of higher spore abundance in agroforestry coffee systems than in monocultural systems were made in Brazil by Colozzi & Cardoso (2000) and Cardoso et al. (2003a).

Different plants show differential mycorrhizal dependence and responsiveness. This relation was first hypothesized by Baylis (1975) who argued that plants with a root system comprised of unbranched, relatively thick roots, with very few and short root hairs, will be more responsive to AMF than plant species with a finely branched root system, consisting of thin fine roots with numerous long root hairs. Janos (1980, 1996) further argued that mycorrhizal dependency increases during natural succession. In bare sites, colonizing plants tend to have a fine root system, allowing them to acquire nutrients even in the absence of AMF. Such plants are therefore often nonmycorrhizal or facultatively mycorrhizal. During succession, such plants are gradually replaced by plants that are obligatorily mycorrhizal. However, despite the conceptual clarity of the scheme, field data from Brazil do not fit with this pattern. Several studies demonstrated that responsiveness and susceptibility to mycorrhizal colonization were inversely related to succession (Siqueira et al., 1998; Siqueira & Saggin-Júnior, 2001; Zangaro et al., 2003). Siqueira et al. (1998), working with a group of 28 native tree species belonging to different successional groups, observed that pioneer species responded relatively

more to mycorrhizal inoculation than to P fertilizer, while climax species showed the opposite pattern. These findings support the hypothesis of a multifunctional nature of mycorrhizal associations. They also demonstrate, as already hypothesized by Newsham et al. (1995), that benefits of mycorrhiza other than P facilitation are important, particularly in plants with more effective root systems. However, the generality of this phenomenon and the implications for tree species choice in relation to agroforestry management deserve further study, because other plant traits besides root morphology, such as seed size and relative growth rate, are also correlated with susceptibility to mycorrhizal colonization and mycorrhizal responsiveness.

### **2.2.3 AMF and the physical quality of the soil**

AMF contribute in a direct way to the maintenance of soil structure, which is of fundamental importance for the stability of the agro-ecosystems (Rillig & Mummey, 2006). The organization of soil particles determines the flow of water, gas, and nutrients in the soil (Rillig et al., 2002). In this context, the AMF are essential to the recovery of soil structure. Their actions cover a range of spatial scales, and include (1) directing clay particles around the hyphae, (2) producing polysaccharide secretions that connect clay particles, (3) performing a “packing” effect of particles by hyphae, leading to a new microstructure (Dorioz et al., 1993), and (4) directly transferring the carbon from plants to soil, which promotes aggregation.

Mycorrhizal effects do not depend only on the live mycelium. AMF produce and subsequently deposit on their hyphal walls a substance known as glomalin. For analytical reasons, this glycoprotein complex may be better referred to as “glomalina related soil protein” (GRSP) rather than simply as “glomalin.” The term GRSP points to the fact that other soil proteins may have similar properties and cannot always be separated from glomalin. Glomalin or GRSP is a very recalcitrant glycoprotein with high cementation capacity, which remains in the soil for longer time periods than the hyphae, thus contributing more persistently to the stabilization of aggregates (Driver et al., 2005). Hyphal residence time varies from days (for the smallest hyphae and the branched absorbing structures) to months (for runner hyphae of larger diameter) (Langley & Hungate, 2003; Staddon et al., 2003) while residence time of GRSP varies from 6 to 42 years (Rillig et al., 2001).

GRSP is present in the soil in large quantities. In tropical forest soils of Costa Rica and Hawaii, GRSP levels reached values up to 12.5 and 60 mg of glomalin cm<sup>-3</sup> respectively (Lovelock et al., 2004; Rillig et al., 2001). Lovelock et al. (2004) estimated that approximately 3.2% of soil total C and 5% of soil N in tropical forests was in the form of glomalin. Treseder & Turner (2007) suggested that as a rule of thumb around 10% of soil organic carbon is constituted by GRSP. These values suggest that the contribution of AMF to soil C sequestration is substantial. AMF also play a major role in the carbon dioxide fluxes through soil.

The mycorrhizal symbiosis implies carbon costs for the plants ranging from 10% to 20% of photoassimilates. If we scale up such levels (assuming that 15% of photosynthate are consumed by fungi) to the global scale, about 10 Pg (10 x 15 g) of C are annually used by fungi and (at equilibrium) returned to the atmosphere (Langley et al., 2006). Thus, estimates by Bago et al. (2000) that the annual C flux through AMF amounts to 10<sup>12</sup> g, most certainly are far too low. Considering that tropical ecosystems are mainly composed of AMF-dominated vegetation, the role of AMF in the regulation of global carbon balance is substantial. By producing recalcitrant compounds such as GRSP, mycorrhizal agroforestry systems make a major contribution to the rehabilitation of degraded land, sequestration of carbon, and possibly reduction of emissions of other greenhouse gases such as N<sub>2</sub>O (Lal, 2005; Mutuo et al., 2005).

AMF do not act alone on soil structure. The interactions between soil fauna (especially soil ecosystem engineers such as earthworms and termites) and AMF in determining the balance between formation, stabilization, and breakdown of macro-aggregates and micro-aggregates could have a major impact. Synergistic effects between AMF and earthworms are probably very important in agroforestry systems, which provide an environment that is beneficial for both groups of organisms. However, such interactions have hardly been investigated.

Detrimental roles of mycorrhizal associations on soil carbon sequestration have also been reported. Chapela et al. (2001) observed that a reduction of soil organic carbon levels occurred over a 20-year period in Ecuador, following the massive introduction of non-native pines (*Pinus radiata*), which had been inoculated with the equally non-native ectomycorrhizal fungus *Suillus luteus*. This ecosystem was very productive in terms of edible fruit body biomass, reaching levels up to 1,000 kg dry weight per hectare per year (Hedger, 1986), thereby providing income



for the rural population. However, this biomass production occurred at the expense of the soil organic carbon stock. While this study may well suggest a fundamental difference between ectomycorrhizal and arbuscular mycorrhizal associations in relation to soil carbon dynamics, it could also represent yet another example of the unexpected consequences of drastic ecosystem simplification, where one nonnative tree and one non-native fungal species come to dominate the landscape. Presumably, most agroforestry systems would avoid this path towards excessive reduction of aboveground and belowground diversity, and the consequent reduction in the quality of ecosystem services.

## **2.2.4 AMF and the chemical quality of the soil**

### **2.2.4.1 AMF and acquisition of soil P**

Agriculture under temperate climate conditions is often characterized by conditions of excess, while in tropical regions the problem is access (Van Noordwijk & Cadish, 2002). This fundamental difference between both types of ecosystems translates into equally fundamental differences as regards the benefits to be expected from AMF, and the response of these fungi to agro-ecosystem management. In temperate agricultural systems, interest in mycorrhizal associations is increasing due to changes in the production system from conventional to organic (Mäder et al., 2002; Ryan & Graham, 2002). It is still commonly held that mycorrhizal associations are unimportant under conventional agriculture, although this view neglects the multifunctionality of the arbuscular mycorrhizal symbiosis and overlooks the major contributions of AMF to soil structure (Ryan & Graham, 2002). The situation in the tropics is very different. Most resource-poor tropical farmers are organic by default and under the force of circumstances, due to high agricultural input costs and low revenues. In agricultural systems under tropical climate, especially in agroforestry systems, AMF are essential for maximizing the utilization of P and other soil nutrients (Cardoso & Kuyper, 2006).

Different nutrient inputs do not represent the only factor modulating the roles of mycorrhiza in temperate and tropical agro-ecosystems. Tropical soils are geologically older (on average) than soils in temperate regions, and this results in much stronger P deficiency in the tropics. This P deficiency is not due to scarcity of phosphorus per se, but to the very low concentrations of P in the soil solution caused

by the strong  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$  adsorption to iron (Fe) and aluminium (Al) oxides (Vance et al., 2003; Ticconi & Abel, 2004). Because of this very strong adsorptive capacity of tropical soils, the greatest part of P occurs in chemical forms that are unavailable to plants (Novais & Smyth, 1999). P fertilizer addition is also very inefficient, as most of the P fertilizer rapidly enters pools that are subsequently unavailable to plants.

In order to increase the efficiency of nutrient uptake and use by plants, enlarging the soil volume exploited by roots is imperative. The volume of exploited soil and the surface over which nutrients are taken up by hyphae of AMF (the total length of which is often in the range of 10–50 m x  $\text{cm}^{-3}$  soil) are generally substantially larger than those of plant root and root hairs (with a root length usually less than 5 cm x  $\text{cm}^{-3}$  soil). These measurements make it easy to grasp the crucial importance of mycorrhizal associations under conditions of low nutrient bioavailability, arising as a consequence of low water content and strong nutrient adsorption to oxides (Leake et al., 2004). Because the nutrient diffusion pathway is strongly dependent on soil water availability (both directly, and indirectly through soil moisture effects on tortuosity), water deficits contribute to limit the continuity of nutrient supply. In a pulsed climate, which is characterized by alternating wet and dry seasons, positive feedbacks between the mycorrhizal effects on water uptake and P uptake therefore occur (Augé, 2001).

While enlarging the exploited soil volume is the most important mechanism for contribution of AMF to nutrient uptake, several other mechanisms have also been proposed, such as: (1) the kinetics of P absorption by hyphae differs from that of the roots, either because AMF have a higher affinity (lower  $K_m$ ) or are less leaky (possess lower  $C_{min}$ ) as compared to roots (Faquin et al., 1990; Silveira & Cardoso, 2004); (2) roots and hyphae explore microsites differently, especially small amounts of organic matter and pores with small pore necks that can only be accessed by hyphae (Joner & Jakobsen, 1995); (3) roots and hyphae of AMF have different means of solubilizing inorganic forms of P in the rhizosphere (Bolan, 1991; Cardoso et al., 2006; Satter et al., 2006); (4) plants and mycorrhizal fungi make a differential contribution to the uptake of organic forms of P, because plants and fungi release to the soil different amounts of phosphatases and other enzymes (Hamel, 2004).

There is disagreement in the literature with respect to possible differences in physiology of P uptake by roots and AMF. It is also unclear how such differences, where existent, would translate into significant differences in nutrient uptake. In a

sensitivity analysis as part of a modeling study on nutrient uptake by plants, Williams & Yanai (1996) stated that changes in physiological parameters ( $K_m$ ,  $C_{min}$ ) of uptake models have little impact on uptake rates under nutrient-poor conditions. However, Schnepf & Roose (2006) reached the opposite conclusion using a mycorrhizal uptake model. Resolving this discrepancy would be a prerequisite for evaluating the potential for “mycorrhizal saturation” (O’Neill, 1994), the condition where the density and spatial distribution of the mycorrhizal fungal mycelium is not optimal from the plant’s perspective but seems to optimize the fungal fitness. Mycorrhizal saturation models, such as the model by Landis & Fraser (2008), do not automatically assume near-perfect coordination between plant and fungus.

Several studies have shown that plants with or without association with AMF use the same sources of P from soil (Bolan, 1991; Hernández et al., 2000). However, other studies claimed that mycorrhizal plants obtained P from sources of inorganic P ( $P_i$ ) (and possibly also from organic P,  $P_o$ ) that are normally unavailable to nonmycorrhizal plants (Jayachandran et al., 1989; Feng et al., 2003; Shibata & Yano, 2003). The latter studies were performed in an artificial medium or in soils enriched with artificial P compounds (such as phytates), raising doubts about the ability of AMF to use sources of P adsorbed or complexed to organic matter under field conditions. It should also be remembered that mycorrhizal symbiosis induces further changes in the rhizosphere, and that the occurrence and activity of phosphate solubilizing bacteria (PSB) may be modified in the mycorrhizosphere. Synergistic and antagonistic interactions between AMF and PSB have been repeatedly described (Muthukumar et al., 2001), although, to our knowledge, studies under natural agroforestry conditions have not yet been published.

In order to examine whether plants associated with AMF gain differential access to  $P_i$  pools as compared to nonmycorrhizal plants, Cardoso et al. (2006) analyzed the different P pools through P fractionation before and after treatment with mycorrhiza in a natural soil. On the one hand, no change was noted in the fractions of  $P_i$  and  $P_o$  in the presence of nonmycorrhizal maize plants, and P balance analysis indicated that growth of the nonmycorrhizal plants was completely determined by seed P reserves. This complete inability of the maize cultivar to capture P in the nonmycorrhizal condition was surprising, because plant-available P ( $9 \text{ mg P kg}^{-1} \text{ soil}$ )

for Resin-Pi and NaHCO<sub>3</sub>-Pi) in the soil exceeded the minimal concentration determined for plant growth (3 mg P kg<sup>-1</sup> soil, according to Hayman (1983)).

On the other hand, the mycorrhizal maize plants completely used the pools of Resin-Pi and NaHCO<sub>3</sub>-Pi (both of which are immediately accessible pools) and around 20% of the pool of NaOH-Pi (which is accessible in the medium term). These results remain to be confirmed under field conditions (Cardoso et al., 2006). The various Po pools remained constant or even increased in magnitude over the course of the above-mentioned experiment. This observation is in keeping with earlier suggestions that AMF have no saprotrophic ability. Under field conditions, the mycorrhiza may intercept and capture the newly mineralized nutrients before their fixation to soil particles. This strategy, amounting to a tightening of the P soil cycle, may be of great practical significance (Joner et al., 2000). Cardoso et al. (2006) were unable to explain the uptake of P from pools (NaOH-Pi) that are considered to be unavailable in the short term. However, they noted that glomalin might have a role in P acquisition. Glomalin seems to interact with metal in the soil, because in analytical GRSP fractions, iron, aluminum and copper can be found in relatively high amounts (Rillig et al., 2001; Lovelock et al., 2004; Gonzales- Chavez et al., 2004). Iron levels varying from 0.8% to 8.8% have been reported in glomalin (Wright & Upadhyaya, 1998). The metallic ions in GRSP seem to have a role in protecting and stabilizing this protein (Nichols & Wright, 2005). Through this interaction, GRSP may affect not only the dynamics of the bound metals, but also that of other ions that bind to Fe or Al, such as P.

In order to explain P uptake by mycorrhizal plants from Fe-P sources, Bolan et al. (1987) suggested that AMF may break Fe-P links, but without proposing a specific mechanism for this. Possibly, one such mechanism may involve GRSP production. Assuming that for every molecule of Fe that ends up in GRSP, one molecule of P could become available for uptake, Cardoso et al. (2006) calculated that a soil with GRSP levels of 0.5 mg g<sup>-1</sup> (with 1% of Fe being bound to GRSP) could deliver enough P to fully explain the changes in the NaOH-Pi pool. Further investigation is required to confirm this putative role of GRSP in P mobilization, and thoroughly understand the interrelated effect of mycorrhizal associations on biological, physical, and chemical properties of the soil.

#### **2.2.4.2 AMF and protection against heavy metals and Al**

Besides their effects on the chemical properties of the soil and the ability to supply nutrients to the plants, AMF may mitigate phytotoxic effects caused by elements such as heavy metals and aluminium. Heavy metal concentrations in host plant tissues may decrease as a result of fungal association, and reductions of Pb concentrations were noted in the aerial parts of soybean (Andrade et al., 2003) and *Brachiaria* (Silva et al., 2006). Hence, mycorrhizal plants gain improved heavy metal tolerance.

Similarly, the concentration of  $Al^{3+}$  is reduced in mycorrhizal banana plants as compared to nonmycorrhizal banana (Rufyikiri et al., 2000). Tolerance to Al may be conferred as a result of increased P acquisition or through other mechanisms. Again, a study of P uptake and Al resistance in relation to the dynamics of GRSP would be helpful. On the other hand, acting through mechanisms similar to those that are involved in enhanced P uptake, the mycorrhizal association can enhance Zn and Cu uptake when concentrations of these metals are limiting.

#### **2.2.5 AMF and the biological quality of the soil**

AMF can reduce damage caused by pathogens such as fungi, bacteria, and nematodes (Azcón-Aguilar & Barea, 1996; Cardoso & Kuyper, 2006). It has been debated whether this is mainly an indirect effect, caused by an improved nutritional status of mycorrhizal plants as compared to nonmycorrhizal plants; or whether there are direct, non-nutritional effects. While improved nutrition is clearly involved in the observed protection, non-nutritional mechanisms are also acting, since mycorrhizal and nonmycorrhizal plants with a similar nutritional status may be affected differently by the same pathogen. Non-nutritional mechanisms include activation of the plant defense system, changes in exudate patterns resulting in concomitant changes in the microbial community of the mycorrhizosphere, increased lignification of the cell walls, and competition for space and infected sites (Elsen et al., 2008; Pozo & Azcón-Aguilar, 2007). The latter mechanism may be of particular significance when AMF colonization takes place prior to pathogen infection, as would be expected to occur in agroforestry and other agro-ecosystems that help

maintain the mycorrhizal network. However, direct evidence for this is currently lacking in the published literature.

Although the nutritional and non-nutritional pathogen control mechanisms almost certainly interact, their conceptual separation remains imperative for the rational application of mycorrhizal technologies. Should nutritional mechanisms prevail, then mineral or organic fertilizer application could, under certain circumstances at least, be cheaper and more effective than mycorrhizal management. However, to benefit from non-nutritional protection mechanisms calls for different management options (Cardoso & Kuyper, 2006).

AMF can also play a role in antagonistic (parasitic) interactions between plants. In greenhouse experiments, mycorrhizal sorghum (*Sorghum bicolor*) plants suffered less damage caused by the root hemiparasite *Striga hermonthica* than nonmycorrhizal sorghum (Lendzemo & Kuyper, 2001; Gworgwor & Weber, 2003). The presence of AMF also suppressed emergence and abundance of *Striga*, both in greenhouse and field conditions (Lendzemo et al., 2005). Root exudates of mycorrhizal sorghum plants strongly inhibited the germination of *Striga* seeds (Lendzemo et al., 2007), most probably through downregulation of strigolactones, and a class of substances that are important both in the AMF–plant molecular dialog and as *Striga* germination stimulants. *Striga* numbers are also reduced under the canopy of certain agroforestry trees (such as *Faidherbia albida*) and on termitaria, which are commonly found under such trees. Crushed material of *Cubitermes* termitaria improved the rate of sorghum mycorrhization, pointing to important synergistic effects between agroforestry trees, soil fauna, and mycorrhizal associations in the control of the world's most devastating parasitic plant (Andrianjaka et al., 2007).

AMF interact, not only with antagonistic organisms, but also with nitrogen fixing bacteria. As a consequence of enhanced P uptake by the plant, AMF promote an increased legume nodulation by rhizobia: indeed, P is often the limiting factor for nodulation and nitrogen fixation. Direct interactions also occur between the two microsymbionts, such as the synthesis by AMF of proteins immunologically related to legume nodulins (Perotto et al., 1994). Several of these interactions reflect the fact that the early molecular dialog between legumes and rhizobia is derived from the molecular dialog between higher plants and AMF.

Field studies on the interactions between rhizobia and AMF in agroforestry systems are scarce. Most publications refer to studies where agroforestry trees were inoculated, individually or jointly, with rhizobia and AMF. Such studies demonstrated that the combination of both symbionts is effective in boosting the growth of tropical tree legumes (Weber et al., 2005; Lesueur & Sarr, 2008). Dual colonization by AMF and rhizobia increased plant dry matter, concentration and content of N and P and nutrient uptake efficiency by *Sesbania virgata*, compared to the uninoculated control (Rodrigues et al., 2003a,b). It has often been mentioned that interactions between AMF and rhizobia lead to synergism. However, synergism has almost never been defined. We propose to call the effects of AMF plus rhizobia additive if an analysis of variance (ANOVA) indicates that the interaction term AMF \* rhizobia is not significant, and synergistic if the interaction term is significant. Synergism includes instances of both negative interactions, as in the case of *Dalbergia nigra* (Santiago et al., 2002), and positive interactions (although we are not aware of publications on agroforestry legumes that show such positive synergism). In most cases the effect of AMF and rhizobia turns out to be additive—which is consistent with the theory that both root symbionts enhance plant availability for different limiting nutrients.

The beneficial effects from dual inoculation might be only temporary. Lesueur & Sarr (2008) showed that the benefit of the joint inoculation of the agroforestry legume *Calliandra calothyrsus* was significant until 12 months after transplanting to the field, but not after 24 months. Such changes, which again stress the need for field experiments with naturally occurring symbionts, is possibly due to the symbiotic capacity of native symbionts naturally present in the field. Inoculum potential, effectiveness, and competitive ability of the symbionts that naturally occur in the field might well differ from those of carefully selected strains used for experimentation under controlled conditions. The fact that many agro-ecosystems, unless very poorly managed, harbor indigenous AMF which might be competitively superior to commercial strains, suggests that for the rational use of the microbial potential, management is preferable to artificial inoculation (Kuyper et al., 2004). It should also be noted that commercial inoculants are often expensive and of variable quality. Recently, commercial formulations of AMF have been made available in the form of powders, pellets, tablets, granules, gel beads, and balls (Adholeya et al., 2005), but we are unaware of published evaluations of their effectiveness.

### **2.3 AMF and agroforestry systems: beyond compatibility**

Plant monocultures, cultivation of nonmycorrhizal plants, prolonged bare fallow, erosion, compaction, use of excessive amounts of fertilizers, and the use of systemic pesticides are among the main factors that contribute to the reduction or elimination of the AMF (Siqueira et al., 2007; Abbott & Robson, 1991). These adverse processes all derive from a shared (and implicit) principle of ecosystem simplification. A reversal of the simplification trend is therefore imperative, and agroforestry is one of the strategies that will allow full advantage to be taken of the ecosystem services provided by the soil biota. Agroforestry is not a standard recipe fit for indiscriminate use under all agroecological conditions. Competition for resources (water, nutrients, and light) between annual crops and tree species has often been mentioned as a factor that constrains the success of agroforestry (Farrell & Altieri, 2002). Because of the major impact that AMF have on uptake of water and nutrients, they could both mitigate and enhance competition. Whether mitigation or enhancement prevails depends on tree management, on properties of both the tree and crop components of the agroforestry system, and on the extent and implications of communication between these two components through a common mycorrhizal network. In such a network, maintenance of a mycorrhizal inoculum would insure a more rapid establishment on host plants and hence a better annual crop seedling performance. If nutrients and water are transferred between plants, and if the dominant flow is towards the competitively inferior plant, AMF have great potential to mitigate restrictions on plant growth (He et al., 2003; Selosse et al., 2006).

In a greenhouse study, Ingleby et al. (2007) observed that trees maintain active AMF propagules, hence increasing the density of AMF populations prone to annual crop colonization. This enhancement effect occurs both with indigenous propagules and after inoculum addition, and is related to the maintenance of spore banks and a stimulation of fungal mycelium spread in the soil. Shoot pruning of trees, which is a common practice in some agroforestry systems, did not restrict the mycorrhizal colonization of, or the spread of the mycelium network to, the annual crops. This effect may be of particular importance given that the mycelium network is responsible for the fast colonization of new roots, and thus for a growth stimulation and improved P absorption in young plants (Brundrett & Abbott, 1994).



However, the rate of spread of the AMF mycelium ( $1\text{--}3\text{ mm day}^{-1}$ ) suggests that benefits from the network will develop slowly.

The common mycorrhizal network may further enhance the benefits of agroforestry through vertical niche expansion of AMF. The presence of perennial mycorrhizal tree species with deep roots increases the volume of soil to be exploited (Fig. 1) and thereby improves the efficiency of P cycling by AMF (Cardoso et al., 2003a; Muleta et al., 2008). The increase in the efficiency of P cycling is also linked to the maintenance of larger pools of Po and the greater abundance of roots, which reduce the possibility of fixation of the newly mineralized phosphate (Cardoso et al., 2003b). Such vertical niche expansion of AMF could also increase water use efficiency of the agroforestry system through mycorrhiza-mediated hydraulic distribution (Allen, 2007; Egerton-Warburton et al., 2007). Therefore, we propose that positive feedbacks exist between agroforestry practices and arbuscular mycorrhizal management. According to this hypothesis, agroforestry systems create conditions more conducive to arbuscular mycorrhizal functioning, while mycorrhizal management mitigates the competition between tree crops and annual crops. This beneficial impact between agroforestry management and mycorrhizal action may be depicted as a particular form of symbiosis. To confirm this hypothesis will require that mycorrhizal functions within agroforestry management be better understood.

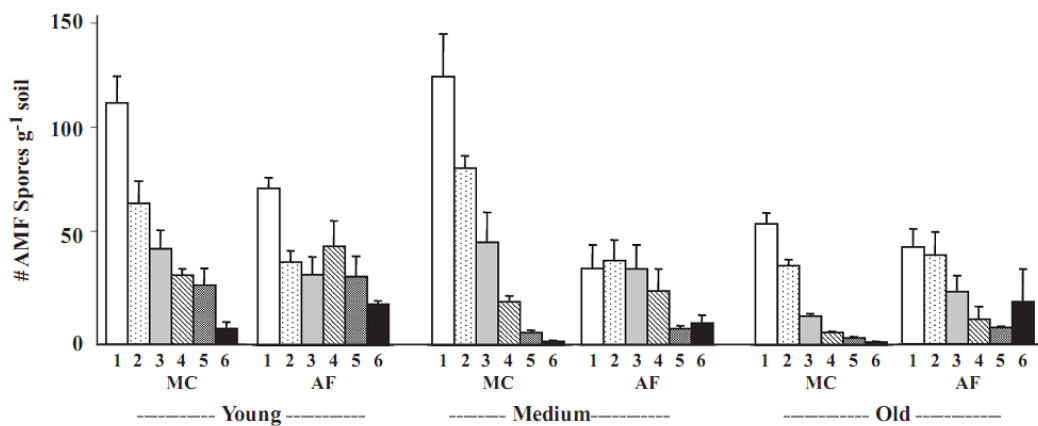


Fig. 1 Average (and standard error;  $n=3$ ) numbers (#) of arbuscular mycorrhizal fungi spores at different soil depths (1 = 0-1, 2 = 2-3, 3 = 5-7.5, 4 = 10-15.5, 5 = 20-30 and 6 = 40-60 cm depths) under monocultural coffee (MC) and agroforestry (AF) systems in the Atlantic Coastal Rainforest (Brazil). The agricultural systems were 5 years old (Young), 15-20 years old (Medium) and 20-24 years old (Old). Adapted from Cardoso et al. (2003a).

## 2.4 Conclusions

Agroforestry systems can be a viable strategy for the preservation of natural resources while ensuring sustainable food production in the tropics. Agroforestry systems are designed with the objective of imitating tropical forests and optimizing beneficial ecological interactions among ecosystem components. In particular, the interactions between plants and soil as mediated by mycorrhizal fungi are of prime importance due to the wide range of functions that these fungi perform. Mycorrhizal fungi potentially improve physical, chemical, and biological soil quality. Several of these functions are linked to the formation of a common mycorrhizal network, which may mediate the transfer of water and nutrients between different plants. However, the ecological implications of these relationships remain poorly studied.

- Agroforestry systems are productive, in addition to containing a greater diversity of species than do simplified monoculture agro-ecosystems. However, the relationship of cause and effect between the diversity of AMF and diversity of plants, and the correlation of both with the productivity of agroforestry systems, remain largely undemonstrated.
- In tropical soils, which are commonly poor in nutrients and especially in available phosphorus, access to soil nutrients and the efficient use of these depend on the optimization of biogeochemical cycling and of the function of mycorrhizal fungi. The capacity and the access mechanisms to different fractions of soil P pools by AMF are not completely elucidated. The role of glomalin or GRSP in affecting P dynamics through GRSP interactions with Fe and Al needs to be further addressed.
- The practice of mycorrhizal inoculation remains very limited due to high inoculum costs, lack of quality standards, lack of technology adapted to resource-poor farmers, and especially the unresolved discrepancy between research results, obtained through short-term trials conducted under controlled conditions, and the phenomena occurring under long-term field conditions. In fact, management of native populations of mycorrhizal fungi might appear preferable to fungal inoculation.

- Agroforestry systems potentially maximize the benefits procured by AMF, which in turn could mitigate negative interactions between trees and annual crops. This positive mycorrhiza-agroforestry feedback, and the common mycorrhizal network which produces it, deserve closer attention.

## Acknowledgments

The authors thank the farmers and the Center of Alternative Technology of the Zona da Mata, Minas Gerais, partners in most of the research in agroforestry systems developed by the Brazilian authors. We also thank the Brazilian sponsors FAPEMIG (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais) for financial support, CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) and CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico) for scholarships to the first and second authors and also for financial support.

## 2.5 References

- ABBOTT, L.K.; ROBSON, A.D. Factors influencing the occurrence of vesicular–arbuscular mycorrhizas. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 35: 121–150, 1991.
- ADHOLEYA, A.; TIWARI, P.; SINGH, R. Large-scale inoculum production of arbuscular mycorrhizal fungi on root organs and inoculation strategies. In: DECLERCK, S.; STRULLU, D.G.; FORTIN, J.A. (eds) *In vitro culture of mycorrhizas*. Springer, Berlin, 2005, 315–338p.
- AL-KARAKI, G.N. Growth of mycorrhizal tomato and mineral acquisition under salt stress. *Mycorrhiza*, 10: 51–54, 2000.
- ALLEN, M.F. Mycorrhizal fungi: highways for water and nutrients in arid soils. *Vadose Zone Journal*, 6: 291–297, 2007.
- ANDRADE, S.A.L.; ABREU, C.A.; ABREU, M.F.; SILVEIRA, A.P.D. Interação de chumbo, da saturação por bases do solo e de micorriza arbuscular no crescimento e nutrição mineral da soja. *Revista Brasileira Ciência do Solo*, 27: 945–954, 2003
- ANDRIANJAKA, Z.; BALLY, R.; LEPAGE, M.; THIOULOUSE, J.; COMTE, G.; KISA, M.; DUPONNOIS, R. Biological control of *Striga hermonthica* by *Cubitermes* termite mound powder amendment in sorghum culture. *Applied Soil Ecology*, 37: 175–183, 2007.
- AUGÉ, R.M. Water relations, drought and vesicular–arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Mycorrhiza*, 11: 3–42, 2001.
- AZCÓN-AGUILAR, C.; BAREA, J.M. Arbuscular mycorrhizas and biological control of soil-borne plant pathogens — an overview of the mechanisms involved. *Mycorrhiza*, 6: 457–464, 1996.

- BAGO, B.; PFEFFER, P.E.; SHACHAR-HILL, Y. Carbon metabolism and transport in arbuscular mycorrhizas. *Plant Physiology*, 124: 949–957, 2000.
- BAYLIS, G.T.S. The magnolioid mycorrhiza and mycotrophy in root systems derived from it. In: Sanders FE, Mosse B, Tinker PB (eds) *Endomycorrhizas*. Academic, London, 1975, 373–389p.
- BETHLENFALVAY, G.J.; BAYNE, H.G.; PACOVSKY, R.S. Parasitic and mutualistic associations between a mycorrhizal fungus and soybean: the effect of phosphorus on host plant–endophyte interactions. *Physiologia Plantarum*, 57: 543–548, 1983.
- BHADALUNG, N.; SUWANARIT, A.; DELL, B.; NOPAMORNBODI, O.; THAMCHAIPENET, A.; RUNGCHUANG, J. Effects of long-term NP-fertilization on abundance and diversity of arbuscular mycorrhizal fungi under a maize cropping system. *Plant Soil*, 270: 371–382, 2005.
- BOLAN, N.S. A critical review on the role of mycorrhizal fungi in the uptake of phosphorus by plants. *Plant Soil*, 134: 189–207, 1991.
- BOLAN, N.S.; ROBSON, A.D.; BARROW, N.J. Effects of vesicular–arbuscular mycorrhiza on the availability of iron phosphates to plants. *Plant Soil*, 99: 401–410, 1987.
- BRUNDRETT, M.C. Coevolution of roots and mycorrhizas of land plants. *New Phytologist*, 154: 275–304, 2002.
- BRUNDRETT, M.C.; ABBOTT, L.K. Mycorrhizal fungus propagules in the jarrah forest. *New Phytologist*, 127: 539–546, 1994.
- BUCHER, M. Functional biology of plant phosphate uptake at root and mycorrhiza interfaces. *New Phytologist*, 173: 11–26, 2007.
- CARDOSO, I.M.; KUYPER, T.W. Mycorrhizas and tropical soil fertility. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 116: 72–84, 2006. CARDOSO, I.M.; GUIJT, I.; FRANCO, F.S.; CARVALHO, A.F.; FERREIRA NETO, P.S. Continual learning for agroforestry system design university, NGO and farmer partnership in Minas Gerais, Brazil. *Agricultural Systems*, 69:235–257, 2001.
- CARDOSO, I.M.; BODDINGTON, C.; JANSSEN, B.H.; OENEMA, O.; KUYPER, T.;W. Distribution of mycorrhizal fungal spores in soils under agroforestry and monocultural coffee systems in Brazil. *Agroforest Systems*, 58: 33–43,2003a.
- CARDOSO I.M.; JANSSEN, B.H.; OENEMA, O.; KUYPER, T.W. Phosphorus pools in Oxisols under shaded and un shaded coffee systems on farmers’ fields in Brazil.- *Agroforestry Systems*, 58: 55–64, 2003b.
- CARDOSO, I.M.; BODDINGTON, C.; JANSSEN, B.H.; OENEMA, O.; KUYPER, T.W. Differential access to phosphorus pools of an Oxisol by mycorrhizal and non-mycorrhizal maize. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 37: 11–12,2006.
- CARNEIRO, M.A.C.; SIQUEIRA, J.O.; DAVIDE, A.C.; GOMES, L.J.; CURI, N.; VALE, F.R. Fungo micorrízico e superfosfato no crescimento de espécies arbóreas tropicais. *Scient Forestalis*, 50: 21–36, 1996.
- CARNEIRO, M.A.C.; SIQUEIRA, J.O.; MOREIRA, F.M.S.; CARVALHO, D.; BOTELHO, A.S.; SAGGIN-JÚNIOR, O.J. Micorriza arbuscular em espécies arbóreas e arbustivas nativas de ocorrência no Sudoeste do Brasil. *Cerne*, 41: 129–145, 1998.

- CHAPELA, I.G.; OSHER, L.J.; HORTON, T.R.; HENN, M.R. Ectomycorrhizal fungi introduced with exotic pine plantations induce soil carbon depletion. *Soil Biology & Biochemistry*, 33: 1733–1740, 2001.
- COLOZZI, A.; CARDOSO, E.J.B.N. Detection of arbuscular mycorrhizal fungi in roots of coffee plants and *Crotalaria* cultivated between rows. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 35: 203–2042, 2000.
- DORIOZ, J.M.; ROBERT, M.; CHEN, U.C. The role of roots, fungi and bacteria on clay particle organization — an experimental approach. *Geoderma*, 56: 179–194, 1993.
- DRIVER, J.D.; HOLBEN, W.E.; RILLIG, M.C. Characterization of glomalin as a hyphal wall component of arbuscular mycorrhizal fungi. *Soil Biology & Biochemistry*, 37: 101–106, 2005.
- EGERTON-WARBURTON, L.M.; QUEREJETA, J.I.; ALLEN, M.F.; Common mycorrhizal networks provide a potential pathway for the transfer of hydraulically lifted water between plants. *Journal of Experimental Botany*, 58: 1473–1483, 2007.
- ELSEN, A.; GERVACIO, D.; SWENNEN, R.; DE WAELE, D. AMF-induced biocontrol against plant parasitic nematodes in *Musa* sp.: a systemic effect. *Mycorrhiza*, 18: 251–256, 2008.
- EWEL, J.J. Natural systems as a model for the design of sustainable systems of land use. *Agroforestry Systems*, 45: 1–21, 1999.
- FAQUIN, V.; MALAVOLTA, E.; MURAOKA, T. Cinética da absorção de fosfato em soja sob influência de micorriza vesículo–arbuscular. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 14: 41–48, 1990.
- FARRELL, J.G.; ALTIERI, M.A. Sistemas agroflorestais. In: Altieri MA (ed) *Agroecologia: bases científicas para uma agricultura sustentável*. Agropecuária, Guaíba, 2002, 413–440p.
- FENG, G.; SONG, Y.C.; LI, X.L.; HRISTIE, P. Contribution of arbuscular mycorrhizal fungi to utilization of organic sources of phosphorus by red clover in a calcareous soil. *Applied Soil Ecology*, 22: 139–148, 2003.
- FITTER, A.H.; Specificity, links and networks in the control of diversity in plant and microbial communities. In: PRESS, MC.; HUNTLY, N.J.; LEVIN, S. (eds) *Ecology: achievement and challenge*. Blackwell, Oxford, 2001, 95–114p.
- FOLEY, J.A. ET. Global consequences of land use. *Science*, 309: 570–574, 2005.
- GARG, N, GEETANJALI, K.; AMANDEEP, K. Arbuscular mycorrhiza: nutritional aspects. *Archives of Agronomy and Soil Science*, 52: 593–606, 2006.
- GONZALES-CHAVEZ, M.C.; CARILLO-GONZALEZ, A.; WRIGHT, A.S.; NICHOLS, K.A. Glomalin: a mechanism for heavy-metal sequestration by arbuscular mycorrhizal fungi. *Environment Pollution*, 130: 317–323, 2004.
- GWORGWOR, N.A.; WEBER, H.C. Arbuscular mycorrhizal fungi–parasite–host interaction for control of *Striga hermonthica* (Del.) Benth. in sorghum [*Sorghum bicolor* (L.) Moench]. *Mycorrhiza*, 13: 27–281, 2003.
- HAMEL, C. Impact of arbuscular mycorrhizal fungi on N and P cycling in the root zone. *Canadian Journal of Soil Science*, 84: 383–395, 2004.
- HART, M.M.; READER, R.J.; KLIRONOMOS, J.N. Life-history strategies of arbuscular mycorrhizal fungi in relation to their successional dynamics. *Mycologia*, 93: 1186–1194, 2001.

- HAYMAN, D.S. The physiology of vesicular–arbuscular endomycorrhizal symbiosis. *Canadian Journal of Botany*, 61: 944–963, 1983.
- HE, X.H.; CRITCHLEY, C.; BLEDSOE, C.; Nitrogen transfer within and between plants through common mycorrhizal networks (CMNs). *Critical Reviews in Plant Sciences*, 22: 531–567, 2003.
- HEDGER, J. *Suillus luteus* on the equator. *Bulletin of the British Mycological Society*, 20: 53–54, 1986.
- HERNÁNDEZ, G.; CUENCA, G.; GARCÍA, A. Behaviour of arbuscular–mycorrhizal fungi on *Vigna luteola* growth and its effect on the exchangeable (32P) phosphorus of soil. *Biology and Fertility of Soils*, 31: 232–236, 2000.
- INGLEBY, K.; WILSON, J.; MUNRO, R.C.; Mycorrhizas in agroforestry: spread and sharing of arbuscular mycorrhizal fungi between trees and crops: complementary use of molecular and microscopic approaches. *Plant Soil* 294: 125–136, 2007.
- INTERNATIONAL CULTURE COLLECTION OF VESICULAR ARBUSCULAR MYCORRHIZAL FUNGI—INVAM (2008) <http://invam.caf.wvu.edu>
- JANOS, D.P. Mycorrhizae influence tropical succession. *Biotropica*, 12 ((Suppl.)): 56–64, 1980.
- JANOS, D.P. Mycorrhizas, succession, and the rehabilitation of deforested lands in the humid tropics. In: FRANKLAND, J.C.; MAGAN, N.; GADD, G.M. (eds) *Fungi and environmental change*. Cambridge University Press, UK, 1996, 129–162p
- JAYACHANDRAN, K.; SCHWAB, A.P.; HETRICK, B.A.D. Mycorrhizal mediation of phosphorus availability: synthetic iron chelate effects on phosphorus solubilization. *Soil Science Society of America Journal*, 1989.
- JEFWA J.M.; SINCLAIR, R.; MAGHEMBE, J.A. Diversity of glomale mycorrhizal fungi in maize/sesbania intercrops and maize monocrop systems in southern Malawi. *Agroforestry Systems*, 67: 107–114, 2006.
- JOHANSEN, A.; JENSEN, E.S. Transfer of N and P from intact or decomposing roots of pea to barley interconnected by an arbuscular mycorrhizal fungus. *Soil Science Society of America Journal*, 28: 73–81, 1996.
- JOHNSON, N.C. Can fertilization of soil select less mutualistic mycorrhizae? *Ecology Applied*, 3: 749–757, 1993.
- JOHNSON, N.C.; GRAHAM, J.H.; SMITH, F.A. Functioning of mycorrhizal associations along the mutualism–parasitism continuum. *New Phytologist*, 135: 575–585, 1997.
- JONER, E.J.; JAKOBSEN, I. Growth and extracellular phosphatase activity of arbuscular mycorrhizal hyphae as influenced by soil organic matter. *oil Biology & Biochemistry*, 27: 1153–1159, 1995.
- JONER, E.J.; VAN AARLE, I.M.; VOSATKA, M. Phosphatase activity of extra-radical arbuscular mycorrhizal hyphae. *Plant Soil*, 226: 199–210, 2000.
- KUYPER, T.W.; CARDOSO, I.M.; ONGUENE, N.A.; VAN NOORDWIJK, M.; VAN NOORDWIJK, M. Managing mycorrhiza in tropical multispecies agroecosystems. In: VAN NOORDWIJK, M.; CADISH, G.; ONG, C.K. (eds) *Below-ground interactions in tropical agroecosystems*. CABI, Wallingford, 2004 243–261p

- LAL, R. Soil carbon sequestration in natural and managed tropical forest ecosystems. *Journal of Sustainable Forestry*, 21: 1–30, 2005.
- LANDIS, F.C.; FRASER, L.H.; A new model of carbon and phosphorus transfers in arbuscular mycorrhizas. *New Phytologist*, 177: 466–479, 2008.
- LANGLEY, J.A.; HUNGATE, B.A. Mycorrhizal controls on belowground litter quality. *Ecology*, 84: 2302–2312, 2003.
- LANGLEY, J.A.; CHAPMAN, S.K.; HUNGATE, B.A.; Ectomycorrhizal colonization slows root decomposition: the *post-mortem* fungal legacy. *Ecology Letters*, 9: 955–959, 2006.
- LEAKE, J.; JOHNSON, D.; DONNELLY, D.; MUCHE, G.; BODDY, L.; READ, D. Networks of power and influence: the role of mycorrhizal mycelium in controlling plant communities and agroecosystem functioning. *Canadian Journal of Botany*, 82: 1016–1045, 2004.
- LENDZEMO, V.W.; KUYPER, T.W. Effects of arbuscular mycorrhizal fungi on damage by *Striga hermonthica* on two contrasting cultivars of sorghum, *Sorghum bicolor*. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 87: 29–35, 2001.
- LENDZEMO, V.W.; KUYPER, T.W.; KROPFF, M.J.; VAN AST, A. Field inoculation with arbuscular mycorrhizal fungi reduces *Striga hermonthica* performance on cereal crops and has the potential to contribute to integrated *Striga* management. *Field Crops Research*, 91: 51–61, 2005.
- LENDZEMO, V.W.; KUYPER, T.W.; MATUSOVA, R.; BOUWMEESTER, H.J.; VAN AST, A. Colonization by arbuscular mycorrhiza fungi of sorghum leads to reduced germination and subsequent attachment and emergence of *Striga hermonthica*. *Plant Signaling & Behavior*, 2: 58–62, 2007.
- LESUEUR, D.; SARR, A.; Effects of single and dual inoculation with selected microsymbionts (rhizobia and arbuscular mycorrhizal fungi) on field growth and nitrogen fixation of *Calliandra calothyrsus* Meissn. *Agroforestry Systems*, 73: 37–45, 2008.
- LOVELOCK, C.E.; WRIGHT, S.F.; CLARK, D.A.; RUESS, R.W. Soil stocks of glomalin produced by arbuscular mycorrhizal fungi across a tropical rain forest landscape. *Journal of Ecology*, 92: 278–287, 2004.
- MADER, P.; FLIESSBACH, A.; DUBOIS, D.; GUNST, L.; FRIED, P.; NIGGLI, U. Soil fertility and biodiversity in organic farming. *Science*, 196: 1694–1697, 2002.
- MULETA, D.; ASSEFA, F.; NEMOMISSA, S.; GRANHALL, U. Distribution of arbuscular mycorrhizal fungi spores in soils of smallholder agroforestry and monocultural coffee systems in south western Ethiopia. *Biology and Fertility of Soils*, 44: 653–659, 2008.
- MUTHUKUMAR, T.; UDAIYAN, K.; RAJESHKANNAN, V. Response of neem (*Azadirachta indica* A. Juss.) to indigenous arbuscular mycorrhizal fungi, phosphate-solubilizing and asymbiotic nitrogen-fixing bacteria under tropical nursery conditions. *Biology and Fertility of Soils*, 34: 417–426, 2001.
- MUTUO, P.K.; CADISCH, G.; ALBRECHT, A.; PALM, C.A.; VERCHOT, L. Potential of agroforestry for carbon sequestration and mitigation of greenhouse gas emissions from soils in the tropics. *Nutrient Cycle in Agroecosystems*, 71: 43–54, 2005.

- NEWSHAM, K.K.; FITTER, A.H.; WATKINSON, A.R. Multifunctionality and biodiversity in arbuscular mycorrhizas. *Trends in Ecology & Evolution*, 10: 407–411, 1995.
- NICHOLS, K.A.; WRIGHT, S.F. Comparison of glomalin and humic acid in eight native US soils. *Soil Science*, 170: 985–997, 2005.
- NOVAIS, R.F.; SMYTH, T.J. Fósforo em solo e planta em condições tropicais. MG, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 1999, 399p
- OLSSON, P.A.; THINGSTRUP, I.; JAKOBSEN, I.; BAATH, F. Estimation of the biomass of arbuscular mycorrhizal fungi in a linseed field. *Soil Biology & Biochemistry*, 31: 1879–1887, 1999.
- O'NEILL, E.G. Responses of soil biota to elevated atmospheric carbon dioxide. *Plant Soil*, 165: 55–65, 1994.
- PANDE, M.; TARAFDAR, J.C. Arbuscular mycorrhizal fungal diversity in neem-based agroforestry systems in Rajasthan. *Applied Soil Ecology*, 26: 233–241, 2004.
- PEROTTO, S.; BREWIN, N.J.; BONFANTE, P. Colonization of pea roots by the mycorrhizal fungus *Glomus versiforme* and by *Rhizobium* bacteria: immunological comparison using monoclonal antibodies as probes for plant cell surface components. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 7: 91–98, 1994.
- PFEFFER, P.E.; DOUDS, D.D. BUCKING, H.; SCHWARTZ, D.P.; SHACHAR-HILL, Y. The fungus does not transfer carbon to or between roots in an arbuscular mycorrhizal symbiosis. *New Phytologist*, 163: 617–627, 2004.
- POZO, M.J.; AZCÓN-AGUILAR, C. Unraveling mycorrhiza-induced resistance. *Current Opinion in Plant Biology*, 10: 393–398, 2007.
- RAO, A.V.; GILLER, K.E. Nitrogen fixation and its transfer from *Leucaena* to grass using <sup>15</sup>N. *Forest Ecology and Management*, 61: 221–227, 1993.
- RILLIG, M.C.; MUMMEY, D.L. Mycorrhizas and soil structure. *New Phytology*, 171: 41–53, 2006.
- RILLIG, M.C.; WRIGHT, S.F.; NICHOLS, K.A.; SCHMIDT, W.F.; TORN, M.S. Large contribution of arbuscular mycorrhizal fungi to soil carbon pools in tropical forest soils. *Plant Soil*, 233: 167–177, 2001.
- RILLIG, M.C.; WRIGHT, S.F.; EVINER, V.T. The role of arbuscular mycorrhizal fungi and glomalin in soil aggregation: comparing effects of five plant species. *Plant Soil*, 238: 325–333, 2002.
- RODRIGUES, L.A.; MARTINS, M.A.; SALOMÃO, M.S.M.B. Uso de micorrizas e rizóbios em cultivo consorciado de eucalipto e sesbânia. I – Crescimento, absorção e transferência de nitrogênio entre plantas. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 27: 583–591, 2003a.
- RODRIGUES, L.A.; MARTINS, M.A.; SALOMÃO, M.S.M.B. Uso de micorrizas e rizóbios em cultivo consorciado de eucalipto e sesbânia. II — absorção e eficiência de utilização de fósforo e fração fosfatadas. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 27: 593–599, 2003b.
- RUDDIMAN, W.F. The anthropogenic greenhouse era began thousands of years ago. *Climatic Change*, 61: 261–293, 2003.
- RUFYIKIRI, G.S.; DECLERCK, S.; DUFEY, J.E.; DELVAUX, B. Arbuscular mycorrhizal fungi might alleviate aluminium toxicity in banana plants. *New Phytologist*, 148: 343–352, 2000.



- RYAN, M.H.; GRAHAM, J.H. Is there a role for arbuscular mycorrhizal fungi in production agriculture? *Plant Soil*, 244: 263–271, 2002.
- SANTIAGO, G.M. GARCIA, Q.; SCOTTI, M.R. Effect of post-planting inoculation with *Bradyrhizobium* sp and mycorrhizal fungi on the growth of Brazilian rosewood, *Dalbergia nigra* Allem. ex Benth., in two tropical soils. *New Forests*, 24: 15–25, 2002.
- SATTER, M.A.; HANAFI, M.M.; MAHMUD, T.M.M.; AZIZAH, H. Influence of arbuscular mycorrhiza and phosphate rock on uptake of major nutrients by *Acacia mangium* seedlings on degraded soil. *Biology and Fertility Soils*, 42: 345–349, 2006.
- SCHNEPF, A.; ROOSE, T. Modelling the contribution of arbuscular mycorrhizal fungi to plant phosphate uptake. *New Phytologist*, 171: 669–682, 2006.
- SELOSSE, M.A.; RICHARD, F.; HE, X.; SIMARD, S.W. Mycorrhizal networks: des liaisons dangereuses? *Trends in Ecology & Evolution*, 21: 621–628, 2006.
- SHIBATA, R.; YANO, K. Phosphorus acquisition from non-labile sources in peanut and pigeon-pea with mycorrhizal interaction. *Applied Soil Ecology*, 24: 133–141, 2003.
- SIERRA, J.; NYGREN, P. Transfer of N fixed by a legume tree to the associated grass in a tropical silvopastoral system. *Soil Biology & Biochemistry*, 38: 1893–1903, 2006.
- SILVA, S.; SIQUEIRA, J.O.; SOARES, C.R.F.S. Fungos micorrízicos no crescimento e na extração de metais pesados pela braquiária em solo contaminado. *Pesquisa Agropecuária, Brasileira*, 41: 1749–1757, 2006.
- SILVEIRA, A.P.D.; CARDOSO, E.J.B.N. Arbuscular mycorrhiza and kinetic parameters of phosphorus absorption by bean plants. *Scientia Agrícola*, 61: 203–209, 2004.
- SILVEIRA, A.P.D.; GOMES, V.F.F. Micorrizas em plantas frutíferas tropicais. In: Silveira APD, Freitas SS (eds) *Microbiota do solo e qualidade ambiental*. Instituto Agronômico, Campinas, 2007, 57–77p.
- SIMARD, S.W. DURALL, D.M. Mycorrhizal networks: a review of their extent, function, and importance. *Canadian Journal of Botany*, 82: 1140–1165, 2004.
- SIQUEIRA, L.C. Levantamento florístico e etnobotânico do estrato arbóreo em sistemas naturais e agroflorestais, Araponga, Minas Gerais. Universidade Federal de Viçosa, 2008. Dissertação (Mestrado em Botânica) Viçosa: UFV, 2008, 118p.
- SIQUEIRA, J.O.; SAGGIN, O. Dependency on arbuscular mycorrhizal fungi and responsiveness of some Brazilian native woody species. *Mycorrhiza*, 11: 245–255, 2001.
- SIQUEIRA, J.O.; CARNEIRO, M.A.C.; CURI, N.; ROSADO, S.C.S.; DAVIDE, A.C. Mycorrhizal colonization and mycotrophic growth of native woody species as related to successional groups in Southeastern Brazil. *Forest Ecology and Management*, 107: 241–252, 1998.
- SIQUEIRA, J.O.; SOARES, C.R.F.S.; SANTOS, J.G.D.; SCHNEIDER, J. CARNEIRO, M.A.C. Micorrizas e degradação do solo: caracterização, efeitos e ação recuperadora. In: CERETTA, C.A.; SILVA, L.S.; REICHERT, J.M. (eds) *Tópicos em ciência do solo*, vol 5. Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, Viçosa, 2007, 219–305p.

- SMITH, S.E.; READ, D.J.; Mycorrhizal Symbiosis, 3rd edn. Academic, London, 2008, 769p. SNOECK, D.; ZAPATA, F.; DOMENACH, AM Isotopic evidence of the transfer of nitrogen fixed by legumes to coffee trees. *Biotechnology, Agronomy, Society and Environment*, 4: 95–100, 2000.
- SOUZA, H.N. Sistematização da experiência participativa com sistemas agroflorestais: rumo à sustentabilidade da agricultura familiar na Zona da Mata mineira. Universidade Federal de Viçosa, 2006. Dissertação (Mestrado em Solos e Nutrição de Plantas) Viçosa: UFV, 2006, 127p.
- SOUZA, F.A.; LIMA, D.A.; SILVA, I.C.; BERBARA, R.L.L. Fungos micorrízicos arbusculares: Muito mais diversos do que se imaginava. In: Moreira FMS, Siqueira JO, Brussaard L (eds) *Biodiversidade do solo em ecossistemas brasileiros*. Editora UFLA, Lavras, 2008, 483–536p
- STADDON, P.L.; BRONK-RAMSEY, C.; OSTLE, N.; INESON, P.; FITTER, A.H. Rapid turnover of hyphae of mycorrhizal fungi determined by AMS microanalysis of <sup>14</sup>C. *Science*, 300: 1138–1140, 2003.
- STÜRMER, S.L.; SIQUEIRA, J.O. Diversidade de fungos micorrízicos arbusculares em ecossistemas brasileiros. In: Moreira FMS, Siqueira JO, Brussaard L (eds) *Biodiversidade do solo em ecossistemas brasileiros*. Editora UFLA, Lavras, 2008, 537–583p
- TAVARES, R.C. Efeito da inoculação com fungo micorrízico arbuscular e da adubação orgânica no desenvolvimento de mudas de sabiá (*Mimosa caesalpiniaefolia* Benth.), sob estresse salino. Universidade Federal do Ceará, 2007, Dissertação (Mestre em Solos e Nutrição), Fortaleza: UFC, 2007, 87p.
- TICCONI, C.A.; ABEL, S. Short on phosphate: plant surveillance and countermeasures. *Trends in Plant Science*, 9: 548–555, 2004.
- TILMAN, D. ET AL. Forecasting agriculturally driven global environmental change. *Science*, 292: 281–284, 2001.
- TRESEDER, K.K.; TURNER, K.M. Glomalin in ecosystems. *Soil Science Society of America Journal*, 71: 1257–1266, 2007.
- URCELAY, C.; DIAZ, S. The mycorrhizal dependence of subordinates determines the effect of arbuscular mycorrhizal fungi on plant diversity. *Ecology Letter*, 6: 388–391, 2003.
- VAN DER HEIJDEN, M.G.A. Arbuscular mycorrhizal fungi as support systems for seedling establishment in grassland. *Ecology Letter*, 7: 293–303, 2004.
- VAN DER HEIJDEN, M.G.A. ET AL Mycorrhizal fungal diversity determines plant biodiversity, ecosystem variability and productivity. *Nature*, 396: 69–72, 1998.
- VAN NOORDWIJK M.; CADISH, G. Access and excess problems in plant nutrition. *Plant Soil*, 247: 25–40, 2002.
- VAN NOORDWIJK M.; ONG, C.K. Can the ecosystem mimic hypotheses be applied to farms in African savannahs? *Agroforest Systems*, 45: 131–158, 1999.
- VANCE, C.P.; UHDE-STONE, C.; ALLAN, D.L. Phosphorus acquisition and use: critical adaptations by plants for securing a nonrenewable resource. *New Phytologist*, 157: 423–447, 2003.
- WEBER, J.; DUCOUSSO, M.; THAM, F.Y.; NOURISSIER-MOUNTOU, S.; GALIANA, A.; PRIN, Y.; LEE, S.K. Co-inoculation of *Acacia mangium* with *Glomus intraradices* and *Bradyrhizobium* sp. in aeroponic culture. *Biology and Fertility of Soils*, 41: 233–239, 2005.

- WILLIAMS, M.; YANAI, R.D.; Multi-dimensional sensitivity analysis and ecological implications of a nutrient uptake model. *Plant Soil*, 180: 311–324, 1996.
- WRIGHT, S.F.; UPADHYAYA, A. A survey of soils for aggregate stability and glomalin, a glycoprotein produced by hyphae of arbuscular mycorrhizal fungi. *Plant Soil*, 198: 97–107, 1998.
- YOUNG, A. *Agroforestry for soil management*, 2nd edn. ICRAF and CAB International, Wallingford, 1997.
- ZANGARO, W.; NISIZAKI, S.M.A.; DOMINGOS, J.C.B.; NAKANO, E.M. Micorriza arbuscular em espécies arbóreas nativas da bacia do rio Tibagi, Paraná. *Cerne*, 8: 77–87, 2002.
- ZANGARO, W.; NISIZAKI, S.M.A.; DOMINGOS, J.C.B.; NAKANO, E.M. Mycorrhizal response and successional status in 80 woody species from south Brazil. *Journal of Tropical Ecology*, 19: 315–324, 2003.
- ZHU, Y.G.; MILLER, R.M. Carbon cycling by arbuscular mycorrhizal fungi in soil-plant systems. *Trends in Plant Science*, 8: 407–409, 2003.

## CAPÍTULO 3

### Glomalina em cafezais agroecológicos

**Resumo** - A glomalina é uma glicoproteína produzida pelos fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) que aporta elevados teores de C e N orgânico no solo. O manejo agrícola pode modificar a abundância e a diversidade desses fungos, causando efeito direto sob os estoques de glomalina no solo. O objetivo do presente estudo foi o de avaliar os estoques de glomalina em áreas de cafezais sob manejo agroecológico a pleno sol (PS) e em sistemas agroflorestais (SAFs). Foram selecionadas três propriedades de agricultores familiares que cultivam café (*Coffea arabica* L.), em sistema agroecológico, na região de Araçuaia-MG. Em cada propriedade foi amostrado o solo de um sistema agroecológico a PS e de um SAF. Como referência, amostrou-se solo de uma mata nativa secundária (MN) representativa da região e dentro dos domínios da Floresta Atlântica. Foram retiradas quatro amostras compostas de solo, nas profundidades de 0-10, 10-20 e 20-40 cm, em duas épocas do ano (chuvosa-março de 2009 e seca-setembro de 2009). Analisou-se os teores glomalina total (GT) e facilmente extraível (GFE), carbono orgânico total (COT), nitrogênio total, carbono da glomalina (CG) e o nitrogênio da glomalina (NG). A glomalina contribui para a dinâmica do C e N orgânico no solo e, portanto atua significativamente para a manutenção da qualidade do solo. No prazo de um ano não houve sazonalidade da glomalina em curto prazo, possivelmente por condições específicas dos solos tropicais, que promovem condições para maior estabilidade dessa proteína. Os estoques de glomalina reduzem em profundidade, mas somente à superfície houve distinção entre o ecossistema natural e os agroecossistemas. Os sistemas agroflorestais podem contribuir para o aumento da restauração dos teores de glomalina, mas isso dependerá de características dos sistemas, como idade, espécie e quantidade de indivíduos arbóreos.

**Palavras Chave:** Fungos micorrízicos arbusculares, agroecologia e agricultura familiar

### 3.1 Introdução

Os agricultores agroecológicos da Zona da Mata de Minas Gerais, região inserida no bioma Mata Atlântica, um dos hotspots de biodiversidade (Myers et al., 2000), produzem café agroecológico em sistemas agroflorestais e a pleno sol, desde 1994 (Cardoso et al., 2001). Nessa região, os agroecossistemas agroecológicos são manejados com baixo uso de adubos químicos, sem a utilização de agrotóxico e sem revolvimento do solo. A instalação dos sistemas agroflorestais foi realizada de forma participativa, e, em geral, em áreas com histórico de uso e degradação severa do solo, com drástica perda de sua qualidade (Cardoso et al., 2001). Tais sistemas agroflorestais são considerados eficientes em reduzir a perda de solo e nutrientes por processos erosivos (Carvalho & Ferreira Neto, 2000; Franco, 2000). O estudo dos processos naturais que alicerçam os sistemas agroecológicos, principalmente, no que diz respeito aos processos microbiológicos, pode contribuir para a compreensão desses sistemas e para ampliar o uso dos mesmos.

O estudo das micorrizas arbusculares (MAs) pode fornecer informações valiosas acerca da funcionalidade dos agroecossistemas, já que esta associação mutualista assume papel importante na produção primária (Treseder & Turner, 2007), no sequestro de C (Etcheverria et al., 2009; He et al., 2010) e na absorção de nutrientes, principalmente daqueles de baixa mobilidade no solo, como fósforo, zinco e cobre (Munyanziza et al., 1997). Ainda, as MAs auxiliam direta e indiretamente na formação e na manutenção dos agregados do solo (Jastrow & Miller, 1997; Tisdall & Oades, 1982), pois atuam de forma a i) orientar as partículas de argila ao redor das células; ii) secretar polissacarídeos, que induzem ligações locais das partículas de argilas; iii) exercer efeito de "empacotamento" das partículas causado pelas hifas, que conduzem a uma nova microestrutura (Dorioz et al., 1993) e iv) transferir diretamente C via fotoassimilados das plantas para o solo (Miller & Jastrow, 2000), uma parte do C é convertida em biomassa do fungo (hifas, esporos e glomalina), que constitui com uma fração significativa do carbono orgânico total do solo (COT) (Driver et al., 2005; Rillig et al., 2002).

A glomalina é uma glicoproteína hidrofóbica estabilizada por íons metálicos que acumula em concentrações de mg por g<sup>-1</sup> de solo (Driver et al., 2005; Rillig et al., 2003; Wright & Upadhyaya, 1996). A glomalina permanece por anos ou décadas nos solos, com períodos de residência de 6 a 42 anos (Rillig, 2004; Rillig et al., 2001). Essa

glicoproteína assume características de elevada recalcitrância e efetiva contribuição na matéria orgânica do solo (MOS). A dinâmica da glomalina no solo ainda é pouco compreendida, entretanto, fatores como a disponibilidade de espécies hospedeiras, o balanço nutricional das plantas, a disponibilidade de nutrientes, os teores de CO<sub>2</sub> na atmosfera do solo e os atributos físico-químicos do solo podem afetar os estoques dessa proteína, principalmente por efeitos negativos na abundância e na diversidade dos FMAs (Rillig et al., 1999; Oehl et al., 2010). Logo, o manejo dos agroecossistemas pode determinar o maior ou menor acúmulo de glomalina no solo (Wright et al., 2007).

Diversos estudos verificaram que as práticas de manejo que aumentam a diversidade vegetal e reduzem os distúrbios na estrutura do solo podem contribuir para a produção e manutenção dos estoques de glomalina, principalmente por beneficiar os FMAs (Violi et al., 2008; Morales et al., 2005). De acordo com Wright et al. (1999), o teor de glomalina no solo (0,4 g kg<sup>-1</sup>) aumentou após três anos de conversão do manejo convencional, com revolvimento intensivo do solo, para o cultivo mínimo, com pouco revolvimento do solo, e decresceu com períodos prolongados de pousio (Wright & Anderson, 2000). Sistemas agroflorestais, que reúnem diversidade de plantas e não revolvimento do solo, apresentaram maiores teores de glomalina (41 a 114 mg g<sup>-1</sup> correspondendo de 18,5 a 26,1% do C total do solo) do que os agroecossistemas anuais (6,4 mg g<sup>-1</sup>; 7,2% do C total do solo) e ou monocultivo (10,0 mg g<sup>-1</sup>; 8,5% do C total do solo) (Morales et al., 2005).

Embora o volume de informação, assim como a variabilidade dos resultados abordando o tema glomalina tenha crescido rapidamente, após uma década e meia de sua descoberta (Wright & Upadhyaya, 1996), ainda permanecem sem respostas conclusivas questões como o efeito dos diferentes tipos de manejo sob os estoques de glomalina, a contribuição da glomalina nos estoques de COS, a concentração de glomalina em solos dos diferentes ecossistemas, a distribuição da glomalina em profundidade e seu comportamento temporal (Rillig et al., 2001; 2003; West et al., 2005). Ainda mais escassas são as informações sobre os estoques dessa glicoproteína em agroecossistemas tropicais, principalmente em áreas sobre solos ácidos e oxídicos, como os Latossolos. O estudo da glomalina em diferentes ecossistemas faz-se necessário para se elucidar os fatores que controlam a dinâmica dessa proteína no solo. Estudos dessa natureza podem contribuir para o manejo sustentável dos agroecossistemas, já que os processos naturais, principalmente os processos microbiológicos, alicerçam o fluxo de matéria e de energia nesses sistemas.

Estes estudos são de especial interesse em agroecossistemas diversificados, como os sistemas agroflorestais, pois a diversificação nesses sistemas pode potencializar a síntese dessa proteína, promovendo a sustentabilidade desses agroecossistemas. Situação adversa da observada nas práticas convencionais de manejo, que priorizam a aração, o uso elevado de fertilizantes e agrotóxicos que são deletérios aos FMAs (Boddington & Dodd, 2000; Jarecki & Lal, 2005; Helgason et al., 2010 Oehl & Sieverding, 2004; Oehl et al., 2010).

O objetivo do presente estudo foi avaliar os estoques de glomalina em áreas de cafezais sob manejo agroecológico a pleno sol (PS) e em sistemas agroflorestais (SAFs). Especificamente, procurou-se avaliar (a) o teor de glomalina em áreas cultivadas com café agroecológico na zona da Mata de Minas Gerais (b) a distribuição dos teores de glomalina em profundidade (c) a variação sazonal dos teores de glomalina e (d) a contribuição da glomalina para o C e o N orgânico do solo.

### **3.1 Material e Métodos**

#### **3.2.1 Área de estudo**

O estudo foi conduzido em Araponga, município da Zona da Mata, sudeste de Minas Gerais. A região sofreu processo severo de desmatamento para a implantação, em um primeiro momento, da cultura do café, quase sempre intercalada com culturas anuais, e depois pastagens, que sofrem queimadas constantemente. A temperatura média da região é de 18 °C, precipitação anual variando de 1200 a 1800 mm, com período seco de 2 a 4 meses (Engevix, 1995; Rolim & Ribeiro, 2001). O relevo é montanhoso, com declividade que pode variar de 20 a 45% nas encostas (Golfari, 1975), com predomínio da classe dos Latossolos (Ker, 1995).

Para o presente estudo, foram selecionadas três propriedades de agricultores familiares que cultivam café (*Coffea arabica* L.) na região, em sistema agroecológico. Doravante identificados pelas iniciais dos proprietários An, Ro e Fe. Em cada propriedade foi amostrado um sistema agroecológico com café a pleno sol (PS) e um sistema agroflorestal (SAF). Os sistemas foram identificados da seguinte forma: SAF<sub>An</sub> e PS<sub>An</sub>; SAF<sub>Ro</sub> e PS<sub>Ro</sub>; SAF<sub>Fe</sub> e PS<sub>Fe</sub>. Como referência, amostrou-se uma mata nativa (MN) representativa da região, que se localizava próxima às áreas de estudo.

Como os sistemas agroflorestais foram implantados em processo participativo, os agricultores tiveram total liberdade de escolha dos desenhos e manejos, portanto,

constitui-se em uma grande diversidade de sistemas (Souza et al., 2010). Por isso, a escolha de sistemas similares foi um dos desafios do estudo aqui apresentado, exceto na propriedade Ro. Essa similaridade ainda foi dificultada devido à heterogeneidade natural dos ambientes da Zona da Mata Mineira (Freitas et al., 2004). Em geral, os sistemas agroflorestais foram implantados em solos da propriedade em que os agricultores consideravam em estágio mais avançado de degradação (Souza et al., 2010). Enquanto os sistemas agroecológicos a pleno sol foram instalados em solos com melhor qualidade, exceto SAF<sub>Ro</sub> e PS<sub>Ro</sub>, implantados em áreas com o mesmo histórico de degradação.

Os SAF<sub>Ro</sub> e PS<sub>Ro</sub> possuem o mesmo histórico de uso e manejo, exceto a presença de árvores nos SAF, localizam-se na mesma posição da paisagem e possuem a mesma idade de implantação. O SAF<sub>An</sub>, embora com o mesmo histórico de manejo do PS<sub>An</sub> (exceto a presença de árvores), foi instalado em área muito declivosa (superfície de perda) acima do sistema a PS (superfície de acúmulo), que recebe então resíduos originários dos SAFs e que no passado recebia muitos sedimentos dessa área, fruto dos processos erosivos. Na propriedade Fe, o SAF também foi instalado em área um pouco mais degradada do que o PS, mas em posições similares na paisagem. Enquanto SAF<sub>An</sub> e SAF<sub>Ro</sub> possuíam, por época da amostragem dos solos, em torno de 18 anos, o SAF<sub>Fe</sub> possuía apenas cinco anos. Os SAF<sub>Ro</sub> e SAF<sub>An</sub> possuem em torno de 250 árvores ha<sup>-1</sup> (Carvalho, 2011) e SAF<sub>Fe</sub> em torno de 50 árvores ha<sup>-1</sup> (Mertens, 2010). Os SAFs possuem em torno de 15 espécies de árvores (Fernandes, 2007; Siqueira, 2008), mas as espécies diferem entre as propriedades. No SAF<sub>An</sub>, a espécie predominante é o abacate (*Persea americana* Mill.), no SAF<sub>Ro</sub> o ingá (*Inga sessilis* Vell. e *Inga subnuda* Benth.) e no SAF<sub>Fe</sub>, o fedegoso (*Senna macranthera* H.S. Irwin & Barneby). Outras informações a respeito do histórico desses sistemas encontram-se na Tabela 1. A mata nativa está em recuperação há 30 anos, em área que anteriormente sofreu degradação intensa.



**Tabela 1.** Histórico das propriedades cafeicultoras do município de Araponga – MG

Sistemas <sup>1</sup>	Uso Anterior	Idade (anos)	Área (ha)	Nº Plantas	Manejo Atual
SAF <sub>Ro</sub>	Mata, pastagem, milho, feijão, arroz de	15	0,15	500	Calagem, supermagro, calda Viçosa,
PS <sub>Ro</sub>	sequeiro e capim napier		0,75	2.500	esterco bovino e NPK
SAF <sub>An</sub>	Mata, pastagem e café	14	0,36	1.200	Calagem, cama de frango, urina e esterco
PS <sub>An</sub>	convencional		0,60	2.000	bovinos, NPK (apenas no PS),
SAF <sub>Fe</sub>	Mata, café	5	2,50		Calagem, Supersimples,
PS <sub>Fe</sub>	convencional	18	6,50		calda viçosa, NPK,
MN	Mata primária	30	5	-	Mata secundária em recuperação

<sup>1</sup>Sistemas de café a pleno sol PS e agroflorestal (SAF) em diferentes propriedades identificadas pela sigla de seus proprietários (An, Ro e Fe). MN, Área de mata próxima às propriedades amostrada como referência.

As amostras de solo foram retiradas no período chuvoso (Março) e seco (Setembro) de 2009. Nas sete áreas selecionadas, foram coletadas quatro amostras compostas de solo nas profundidades de 0-10, 10-20 e 20-40 cm, sendo as amostras retiradas na entre linha de plantio e próximo ao terço basal do dossel do cafeeiro. Nos SAFs foram selecionadas plantas de café que estavam sob influência da copa das árvores. As amostras de solo retiradas do campo foram secas ao ar, destorroadas, passadas em peneira de 2 mm (TFSA) e analisadas. Alguns atributos físico-químicos do solo foram avaliados nos diferentes sistemas e estão apresentados na Tabela 2.

**Tabela 2.** Propriedades físico-químicas do solo

Variáveis <sup>1</sup>	Prof. (cm)	Sistemas <sup>2</sup>						
		SAF <sub>Ro</sub>	PS <sub>Ro</sub>	SAF <sub>An</sub>	PS <sub>An</sub>	SAF <sub>Fe</sub>	PS <sub>Fe</sub>	MN
Argila (%)	0-10	54,3	43,3	37,5	39,0	55,3	61,5	52,8
	10-20	56,0	47,3	40,5	40,0	58,8	62,0	53,8
	20-40	59,3	52,5	44,5	42,3	59,8	65,0	55,3
Ds (kg dm <sup>-3</sup> )	0-10	0,97	0,98	1,03	0,99	1,01	0,98	0,85
	10-20	0,95	1,02	1,07	1,04	1,01	0,98	0,89
	20-40	1,00	1,02	1,06	1,06	0,99	0,99	0,93
pH (H <sub>2</sub> O)	0-10	5,26	5,60	5,91	5,62	5,39	5,46	4,21
	10-20	4,97	4,94	5,49	5,41	5,16	4,98	4,35
	20-40	4,72	4,73	5,11	5,61	4,74	4,62	4,40
CTC (t)	0-10	5,77	6,16	6,00	8,18	3,54	4,53	2,97
	10-20	3,14	2,89	3,42	5,15	2,67	2,60	1,86
	20-40	2,24	2,37	2,01	4,53	1,60	1,67	1,34
P Mehlich (mg kg <sup>-1</sup> )	0-10	4,60	5,46	3,23	4,10	4,94	3,76	3,41
	10-20	3,45	3,20	1,83	3,52	2,14	3,18	3,11
	20-40	2,70	1,64	1,44	3,25	1,60	1,90	1,73
Al <sup>3+</sup> (cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> )	0-10	0,24	0,03	0,00	0,03	0,17	0,26	2,35
	10-20	0,60	0,69	0,14	0,14	0,44	0,57	1,51
	20-40	1,07	0,85	0,46	0,23	0,73	1,01	1,06

<sup>1</sup>Argila – Percentagem de argila no solo; DS – Densidade do solo, pH – pH do solo em água; P – Fósforo disponível, CTC (t) – Capacidade de troca de cátions efetiva e Alumínio trocável (Al<sup>3+</sup>); e <sup>2</sup>MN – Mata nativa; SAF – Sistema agroflorestal; PS – Sistema a pleno sol; An – Ângelo; Ro – Romualdo; Fe – Fernando.

### 3.2.2 Análises da glomalina

A extração da glomalina foi baseada na metodologia descrita por Wright & Upadhyaya (1996). A extração da glomalina total (GT) seguiu o seguinte procedimento: em tubo de centrifuga foram adicionados 1 g de solo + 8,0 mL da solução de citrato de sódio 50 mM L<sup>-1</sup> a pH 8,0. Em seguida, os tubos foram colocados na autoclave a 121°C por 60 minutos. Na glomalina facilmente extraível (GFE), a solução de citrato de sódio foi de 20 mM L<sup>-1</sup> a pH 7,0, e os tubos colocados na autoclave a 121°C por 30 minutos.

Os teores de GT foram obtidos por quatro extrações sucessivas da mesma amostra de solo com reposição da solução extratora, enquanto para a GFE realizou-se a extração apenas uma vez. Após esta etapa, os tubos foram centrifugados a 5.000 x g por

15 minutos, o sobrenadante foi quantificado com o auxílio de uma proveta graduada e armazenado a uma temperatura de 4°C. Os teores da GT e GFE foram determinados na solução sobrenadante através do ensaio de Bradford. Este ensaio consiste na ligação do azul brilhante de Coomassie (G-250) com uma proteína, que em meio ácido conduz a uma variação no comprimento de onda do máximo de absorção do corante de 465 nm para 595 nm com o conseqüente aparecimento de um tom azulado na solução avermelhada. Para tanto, utiliza-se diferentes concentrações de uma proteína padrão, geralmente albumina de serum bovino (*Bovine Serum Albumine*, BSA).

### **3.2.3 Carbono e nitrogênio orgânico total do solo**

O Carbono orgânico total (COT) foi quantificado por oxidação da matéria orgânica via úmida com  $K_2Cr_2O_7$  0,167 mol L<sup>-1</sup> em ácido sulfúrico e aquecimento externo (Yeomans & Bremner, 1988).

O nitrogênio total (NT) foi quantificado nas amostras de solo submetidas à digestão sulfúrica e dosado por destilação Kjeldhal, conforme método descrito por Tedesco et al. (1995).

### **3.2.4 Carbono e nitrogênio da glomalina**

No extrato da glomalina (Wright & Upadhyaya, 1996) foi realizada uma diálise em água deionizada para obtenção do extrato purificado (tubo de diálise 36/32), que em seguida foi liofilizado (Gonzalez-Chaves et al., 2004). A concentração do C e N na glomalina purificada e liofilizada foi determinada através do analisador elementar CHN (Rillig et al., 2001), sendo que para essa análise foram selecionadas 28 sub-amostras (quatro repetições da profundidade de 0-20 cm de cada sistema) e a média das mesmas foi utilizada para o cálculo do percentual de C e N da glomalina dentro do C e N total do solo.

### **3.2.5 Análise estatística**

Para os teores de glomalina, os sistemas a pleno sol e agroflorestal foram comparados em cada propriedade separadamente e esses com a mata nativa, assim obteve-se os seguintes grupos: Grupo 1: SAF<sub>An</sub>, PS<sub>An</sub> e MN; Grupo 2: SAF<sub>Ro</sub>, PS<sub>Ro</sub> e MN; e Grupo 3: SAF<sub>Fe</sub>, PS<sub>Fe</sub> e MN. Para o COT e NT por hectare optou-se pela comparação dos sete sistemas em conjunto. Os dados foram submetidos à análise de

variância com comparação de médias pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Para realizar os cálculos estatísticos, utilizou-se o sistema computacional SAS versão 9.1 (SAS, 2003).

### 3.3 Resultados

#### 3.3.1 Glomalina total e glomalina facilmente extraível

De modo geral, não houve diferença para teores de GT e GFE entre as épocas do ano, exceto nos sistemas  $PS_{An}$  e  $PS_{Fe}$ , nas profundidade 0-10 e 10-20 cm (Tukey,  $p < 0,05$ ). Com base nesse resultado, analisou-se a média dos teores de GT (Tabelas 3, 4 e 5) e GFE (Tabelas 6, 7 e 8) nas duas estações, em cada sistema e em cada profundidade. Os teores de GT ( $mg\ kg^{-1}$ ) na MN foram superiores aos encontrados nos agroecossistemas, com exceção do  $PS_{An}$  (Tabela 3). O teor de GT no  $SAF_{Ro}$  foi superior ao  $PS_{Ro}$ , no  $SAF_{An}$  foi inferior ao  $PS_{An}$ , e no  $SAF_{Fe}$  foi similar ao  $PS_{Fe}$ .

Em média, foram encontrados  $8,1\ mg\ g^{-1}$  de GT, variando de  $12,8\ mg\ g^{-1}$  (profundidade de 0-10 cm, MN) até  $4,1\ mg\ g^{-1}$  (profundidade de 20-40 cm,  $PS_{Ro}$ ). Os teores de GT decresceram em profundidade, exceto no  $SAF_{An}$  e  $PS_{Fe}$ , sendo essa redução menos acentuada na Mata e no  $SAF_{Ro}$ . Em média, o estoque de GT na camada de 0-20 cm representou 70% do total dessa proteína no solo. Em profundidade e para cada propriedade, observou-se que o  $SAF_{Ro}$  apresentou maiores teores de GT do que  $PS_{Ro}$ , em todas as profundidades, enquanto nos demais sistemas não houve diferença entre eles (SAF e PS). Em comparação com a MN e nas profundidades de 0-10 e 10-20 cm, verificou-se que apenas  $PS_{An}$  apresentou teores de GT iguais a MN, tendo os demais sistemas apresentado teores inferiores. Na profundidade de 20-40 cm, houve maiores similaridades dos agroecossistemas com a MN. Constatou-se que GT em  $SAF_{Ro}$  foi mais similar a MN do que  $PS_{Ro}$  (Tabela 3).

Os teores de GFE ( $mg\ kg^{-1}$  solo) na MN foram superiores aos encontrados nos agroecossistemas. Os teores de GFE nos  $SAF_{An}$  e  $PS_{An}$  (Tabela 7) e  $SAF_{Fe}$  e  $PS_{Fe}$  (Tabela 8) não diferiram entre si, enquanto o teor dessa fração da proteína no  $SAF_{Ro}$  foi superior ao teor em  $PS_{Ro}$  (Tabela 6). Em média, foram encontrados  $2,6\ mg\ g^{-1}$  de GFE (equivalente a 20% da GT), com valores que variaram de  $3,6\ mg\ g^{-1}$  (profundidade de 0-10 cm, MN) a  $1,3\ mg\ g^{-1}$  (profundidade de 20-40 cm,  $PS_{Ro}$ ). A redução em profundidade seguiu comportamento semelhante à GT, com os teores na profundidade de 0-20 cm, também equivalendo a 70% do total da GFE no solo. Na avaliação dos

agroecossistemas em profundidade, dentro de cada propriedade, observou-se que o SAF<sub>Ro</sub> apresentou teores superiores de GFE em comparação com PS<sub>Ro</sub>, exceto na profundidade de 0-10 cm.

Nas demais propriedades, esses sistemas não diferiram entre si. Constatou-se que os valores desta fração da glomalina no SAF<sub>Ro</sub> ficaram mais próximos dos valores encontrados na MN, do que no PS<sub>Ro</sub>.

**Tabela 3.** Teores de glomalina total (GT) nos sistemas do Ro em diferentes profundidades

Sistemas <sup>1</sup>	Profundidade (cm)			Média
	0-10	10-20	20-40	
	GT (mg g <sup>-1</sup> )			
MN	12,8a	10,6a	8,6a	<b>10,7a</b>
SAF <sub>Ro</sub>	9,9b	8,2b	6,7b	<b>8,3b</b>
PS <sub>Ro</sub>	7,4c	5,2c	4,1c	<b>5,6c</b>

<sup>1</sup>MN – Mata nativa; SAF – Sistema agroflorestal; PS – Sistema a pleno sol. Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

**Tabela 4.** Teores de glomalina total (GT) nos sistemas do An em diferentes profundidades

Sistemas <sup>1</sup>	Profundidade (cm)			Média
	0-10	10-20	20-40	
	GT (mg g <sup>-1</sup> )			
MN	12,8a	10,6a	8,6a	<b>10,7a</b>
SAF <sub>An</sub>	8,2b	7,2b	6,2a	<b>7,2b</b>
PS <sub>An</sub>	10,8ab	9,0ab	9,0a	<b>9,6c</b>

<sup>1</sup>MN – Mata nativa; SAF – Sistema agroflorestal; PS – Sistema a pleno sol. Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

**Tabela 5.** Teores de glomalina total (GT) nos sistemas do Fe em diferentes profundidades

Sistemas <sup>1</sup>	Profundidade (cm)			Média
	0-10	10-20	20-40	
	GT (mg g <sup>-1</sup> )			
MN	12,8a	10,6a	8,6a	<b>10,7a</b>
SAF <sub>Fe</sub>	9,2b	8,2b	5,7b	<b>7,7b</b>
PS <sub>Fe</sub>	8,7b	8,2b	7,3ab	<b>8,1b</b>

<sup>1</sup>MN – Mata nativa; SAF – Sistema agroflorestal; PS – Sistema a pleno sol. Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

**Tabela 6.** Teores de glomalina facilmente extraível (GFE) nos sistemas do Ro em diferentes profundidades

Sistemas <sup>1</sup>	Profundidade (cm)			Média
	0-10	10-20	20-40	
	GFE (mg g <sup>-1</sup> )			
MN	3,6a	3,1a	2,6a	<b>3,1a</b>
SAF <sub>Ro</sub>	3,0ab	2,5b	2,4a	<b>2,6b</b>
PS <sub>Ro</sub>	2,5b	1,8c	1,3c	<b>1,9c</b>

<sup>1</sup>MN – Mata nativa; SAF – Sistema agroflorestal; PS – Sistema a pleno sol. Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

**Tabela 7.** Teores de glomalina facilmente extraível (GFE) nos sistemas do An em diferentes profundidades

Sistemas <sup>1</sup>	Profundidade (cm)			Média
	0-10	10-20	20-40	
	GFE (mg g <sup>-1</sup> )			
MN	3,6a	3,1a	2,6a	<b>3,1a</b>
SAF <sub>An</sub>	3,0b	2,8ab	2,1a	<b>2,6b</b>
PS <sub>An</sub>	3,0ab	2,5b	2,1a	<b>2,5b</b>

<sup>1</sup>MN – Mata nativa; SAF – Sistema agroflorestal; PS – Sistema a pleno sol. Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

**Tabela 8.** Teores de glomalina facilmente extraível (GFE) nos sistemas do Fe em diferentes profundidades

Sistemas <sup>1</sup>	Profundidade (cm)			Média
	0-10	10-20	20-40	
	GFE (mg g <sup>-1</sup> )			
MN	3,6a	3,1a	2,6a	<b>3,1a</b>
SAF <sub>Fe</sub>	2,8b	3,1a	2,4a	<b>2,8b</b>
PS <sub>Fe</sub>	3,0b	3,0a	2,7a	<b>2,9ab</b>

<sup>1</sup>MN – Mata nativa; SAF – Sistema agroflorestal; PS – Sistema a pleno sol. Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

### 3.3.2 Carbono orgânico total e a glomalina

Em geral, o carbono orgânico total (COT) nos agroecossistemas na camada de 0-10 e 20 a 40 cm não diferiam entre si, com exceção do PS<sub>An</sub> que apresentou teores de COT superior aos demais agroecossistemas, mas semelhante ao SAF<sub>An</sub> (Tabela 9). Na camada de 10-20 cm, os agroecossistemas apresentaram comportamento similar à camada anterior, porém com PS<sub>Ro</sub> inferior ao SAF<sub>An</sub> e PS<sub>An</sub>.

**Tabela 9.** Carbono orgânico total do solo (COT), glomalina total (GT), quantidade de carbono na glomalina total (C<sub>GT</sub>) e contribuição da glomalina no COT (COT<sub>GT</sub>) nos diferentes sistemas

Sistemas <sup>1</sup>	COT	GT	C <sub>(GT)*</sub>	COT <sub>(GT)</sub>
	..... Mg ha <sup>-1</sup> .....			%
<b>0-10 cm</b>				
MN	66,4a	10,9	2,30	3,5
SAF <sub>Ro</sub>	41,0c	9,6	2,02	4,9
PS <sub>Ro</sub>	35,1c	7,2	1,51	4,3
SAF <sub>An</sub>	44,3bc	8,3	1,74	3,9
PS <sub>An</sub>	52,1b	10,7	2,25	4,3
SAF <sub>Fe</sub>	36,5c	9,2	1,94	5,3
PS <sub>Fe</sub>	38,4c	8,6	1,81	4,7
<b>10-20 cm</b>				
MN	50,9a	9,5	2,00	3,9
SAF <sub>Ro</sub>	32,3cd	7,8	1,64	5,1
PS <sub>Ro</sub>	26,4d	5,3	1,11	4,2
SAF <sub>An</sub>	37,0bc	7,7	1,62	4,4
PS <sub>An</sub>	45,5ab	9,3	1,95	4,3
SAF <sub>Fe</sub>	32,9cd	8,2	1,72	5,2
PS <sub>Fe</sub>	33,6cd	8,1	1,70	5,1
<b>20-40 cm</b>				
MN	38,9ab	8,0	1,68	4,3
SAF <sub>Ro</sub>	28,6c	6,7	1,41	4,9
PS <sub>Ro</sub>	22,3c	4,1	0,86	3,9
SAF <sub>An</sub>	31,0abc	6,6	1,39	4,5
PS <sub>An</sub>	40,6a	9,5	2,00	4,9
SAF <sub>Fe</sub>	27,3c	5,7	1,20	4,4
PS <sub>Fe</sub>	29,6bc	7,2	1,51	5,1

<sup>1</sup>MN – Mata nativa; SAF – Sistema agroflorestal; PS – Sistema a pleno sol; An – Ângelo; Ro – Romualdo; Fe – Fernando.\* 28 sub-amostras purificadas e liofilizadas de GT foram analisadas no CHN e apresentaram em média 21% de C orgânico. Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Os estoques de glomalina não serão discutidos nesta tabela, pois já foram anteriormente.

A MN apresentou os maiores estoques de COT na camada de 0 -10 cm, sendo semelhante ao PS<sub>An</sub> na camada de 10 -20 cm e ao PS<sub>An</sub> e SAF<sub>An</sub> na camada de 20 - 40 cm. Nas 28 sub-amostras avaliadas, o conteúdo de carbono na GT foi em média de 21% C, isso significa que os sistemas em estudo possuem 0,86 Mg ha<sup>-1</sup> a 2,30 Mg ha<sup>-1</sup> de CO oriundo da glomalina, ou seja de 3,5% a 5,4% do COT do solo encontra-se na glomalina (Tabela 9).

### **3.3.3 Nitrogênio orgânico total e a glomalina**

Os teores de NT na MN, na primeira camada (0-10 cm) avaliada, foram superiores aos teores observados nos agroecossistemas, com exceção do PS<sub>An</sub>, onde esses valores foram iguais (Tabela 10). Na camada de 10-20 cm, apenas o SAF<sub>An</sub>, PS<sub>An</sub> e SAF<sub>Fe</sub> apresentaram os teores de NT semelhantes aos da MN. Enquanto na última camada, com exceção do PS<sub>An</sub>, que apresentou valores superiores a MN, os demais agroecossistemas apresentaram teores de NT iguais ao sistema natural. Nos agroecossistemas, observou-se que o PS<sub>An</sub> apresentou os maiores valores de NT no solo em todas as camadas, e que os demais agroecossistemas não diferiram entre si em profundidade (Tabela 10).

Em média, a GT apresentou 1,83% de N orgânico, o que pode significar valores de 0,08 a 0,2 Mg ha<sup>-1</sup> de N, aportados ao solo via glomalina. Isso equivale de 5,2 a 9,3% do NT do solo (Tabela 10).



**Tabela 10.** Nitrogênio total (NT), glomalina (GT), proporção de nitrogênio na glomalina total (N<sub>GT</sub>) e percentagem da glomalina no NT (NT<sub>GT</sub>) nos diferentes sistemas

Sistemas <sup>1</sup>	NT	GT <sup>2</sup>	N <sub>(GT)*</sub>	NT <sub>(GT)</sub>
	..... Mg ha <sup>-1</sup> .....			%
<b>0-10 cm</b>				
MN	3,7a	10,9	0,20	5,4
SAF <sub>Ro</sub>	2,4b	9,6	0,18	7,5
PS <sub>Ro</sub>	2,3b	7,2	0,13	5,7
SAF <sub>An</sub>	2,4b	8,3	0,15	6,3
PS <sub>An</sub>	3,8a	10,7	0,20	5,3
SAF <sub>Fe</sub>	2,0b	9,2	0,17	8,5
PS <sub>Fe</sub>	2,1b	8,6	0,16	7,6
<b>10-20 cm</b>				
MN	2,9ab	9,5	0,17	5,7
SAF <sub>Ro</sub>	1,8c	7,8	0,14	7,7
PS <sub>Ro</sub>	1,6c	5,3	0,10	6,3
SAF <sub>An</sub>	2,0bc	7,7	0,14	7,0
PS <sub>An</sub>	3,3a	9,3	0,17	5,2
SAF <sub>Fe</sub>	2,0bc	8,2	0,15	7,5
PS <sub>Fe</sub>	1,7c	8,1	0,15	8,8
<b>20-40 cm</b>				
MN	2,1b	8,0	0,15	7,1
SAF <sub>Ro</sub>	1,6b	6,7	0,12	7,5
PS <sub>Ro</sub>	1,1b	4,1	0,08	7,2
SAF <sub>An</sub>	1,5b	6,6	0,12	8,0
PS <sub>An</sub>	3,1a	9,5	0,17	5,5
SAF <sub>Fe</sub>	1,3b	5,7	0,10	7,7
PS <sub>Fe</sub>	1,4b	7,2	0,13	9,3

<sup>1</sup>MN. – Mata nativa; SAF – Sistema agroflorestal; PS – Sistema a pleno sol; An – Ângelo; Ro – Romualdo; Fe – Fernando. \* 28 sub-amostras purificadas e liofilizadas de GT foram analisadas no CHN e apresentaram em média 1,83% de N orgânico. Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.<sup>2</sup> Os estoques de glomalina não serão discutidos nesta tabela, pois já foram anteriormente.

### **3.4 Discussão**

#### **3.4.1 Sazonalidade da glomalina**

A ausência de variabilidade temporal da GT e GFE pode ser explicada pela maior recalcitrância dessa proteína no solo (Rillig et al., 2005), quando associada aos óxidos de Fe e Al (Rillig et al., 2001). Em nossos estudos realizados em um Latossolo, com predomínio de Goethita, Hematita e Caulinita na fração argila (Ker, 1995), a GT e GFE apresentaram comportamento semelhante, no que se refere à estabilidade no solo durante o período avaliado. Há controvérsias na literatura quanto à maior ou menor estabilidade da GFE. Alguns autores sugerem que a GFE possui maior variabilidade em curto prazo (Rillig et al., 2001), enquanto outros a consideram estável (Steinberg & Rillig, 2003; Preger et al., 2007). Alguns estudos associam esse fato ao protocolo de extração, que parece não distinguir as duas frações da glomalina por período de deposição no solo (Hontoria et al., 2009; Steinberg & Rillig, 2003; Preger et al., 2007). Portanto, é fundamental o ajuste dessa metodologia para que se possa ter maior exatidão na previsão da dinâmica dessa proteína no solo.

A glomalina, apesar das controvérsias, tem sido utilizada frequentemente como indicadora da qualidade do solo, pois parece ser sensível aos distúrbios causados pelo uso do solo. Vários autores concluíram que os estoques dessa proteína podem apresentar variação temporal, espacial e em função do tipo de manejo adotado no solo (Borie et al., 2000; He et al., 2010; Rillig et al., 2003; Sponh & Giani, 2010). Entretanto, sob condições tropicais, os estoques de glomalina podem apresentar maior estabilidade, pois nestes solos pode ocorrer à formação de complexos organominerais entre essa proteína e os óxidos de Fe e Al. O que poderia reduzir a acessibilidade da mesma aos microrganismos decompositores, aumentando sua estabilidade e seu período de residência no solo. Isso poderia explicar os elevados estoques de glomalina observados nas regiões tropicais (Rillig et al., 2001; Treseder & Turner, 2007). Outros fatores também podem interferir nesse processo a exemplo da disponibilidade de nutrientes e a atividade enzimática do solo (He et al. 2010). Além da condição oxidica dos solos aqui estudados, nos mesmos estão sendo utilizados cultura perene (café a pleno sol ou agroflorestal), o que explica a natureza mais estável dos sistemas, proporcionando baixa variação da atividade micorrízica no solo, ao longo do ano. Portanto, tornam-se necessários mais estudos para compreender a dinâmica da glomalina sob condições tropicais e em sistemas perenes.

### **3.4.2 Distribuição da glomalina em profundidade**

Os estoques de glomalina no solo reduziram-se em profundidade, corroborando com os dados da literatura (Borie et al., 2000; Rillig et al., 2003; Morales et al., 2005). Seus estoques acompanham os teores de COT do solo, pois existe forte correlação positiva entre essas duas variáveis (Borie et al., 2008; Halvorson & Gonzalez, 2006; Wright & Upadhyaya, 1998), como observado nos resultados do presente estudo. De acordo com Báez-Pérez et al. (2010), o modelo matemático que define o acúmulo COT (logarítmico) é semelhante ao modelo que descreve os estoques de glomalina no solo. Isso pode estar associado à atividade microbológica e à deposição de resíduos que se reduz em profundidade. Apesar dos FMAs serem mutualistas obrigatórios, podem se beneficiar dos produtos da decomposição e do condicionamento proporcionado pelo COT nas propriedades físico-químicas do solo.

Os maiores estoques de glomalina do solo (70%), na camada de 0-20, demonstra a importância dessa proteína na dinâmica do C orgânico do solo. A glomalina além de ser fonte significativa de C, pode reduzir a taxa de decomposição de outros compostos orgânicos e a erosão do solo (Etcheverria et al., 2009; He et al., 2010; Rillig, 2004; Wright & Upadhyaya, 1998).

### **3.4.3 Efeito do uso do solo sob a glomalina**

Historicamente, o uso das terras nos municípios da Zona da Mata, incluindo Araponga, levou à degradação dos solos com grande perda de sua qualidade (Cardoso et al., 2001). O que pode estar associado à degradação da reserva de glomalina mantida no solo por várias décadas ou séculos, em um equilíbrio dinâmico com o ambiente, possivelmente por mecanismos de estabilização similares aos do COT. Nesse sentido, o estoque de glomalina nos diferentes agroecossistemas de Araponga pode refletir a intensificação da ação antrópica nessas áreas. Assim, a avaliação do histórico das áreas é fundamental para compreender os estoques atuais dessa proteína no solo, isso pode explicar os menores estoques de glomalina nos agroecossistemas em relação ao sistema natural (MN).

Os teores de GT e GFE nas áreas sob cafezais agroecológicos e SAFs, em Araponga-MG, foram superiores aos encontrados em outros estudos realizados no Brasil (Mergulhão et al., 2010; Purin et al., 2006) e semelhantes aos teores observados em áreas agrícolas sob clima temperado (Benidi et al., 2007; Wright et al., 2007). Na

MN, os estoques de glomalina (variando de 8,6 a 12,8 mg g<sup>-1</sup>, Tabela 3) foram considerados intermediários entre ambientes naturais de regiões temperadas, variando de 2,4 a 30,6 mg g<sup>-1</sup>, segundo alguns autores (Gonzalez-Chavez et al., 2010; Spohn & Giani, 2010), e inferiores aos valores observados na floresta tropical primária (60 a 100 mg g<sup>-1</sup>), segundo Rillig et al. (2001). Com isso pode-se assumir que, embora com teor de glomalina total superior aos encontrados nos agroecossistema, a mata nativa utilizada neste estudo como referência ainda está se recuperando de distúrbios ocasionados por décadas de ação antrópica.

A diversificação de uso, como nos SAFs, também contribui para essa recuperação, mas isso depende do tempo e tipo de espécies utilizadas nos SAFs, uma vez que a diversidade de espécies vegetais (abundância de hospedeiros) e a oferta de fotoassimilados para o fungo pode favorecer a produção de glomalina (Treseder & Cross, 2006; Oehl et al., 2009). Assim, em quase uma década e meia de adoção dos sistemas mais conservacionistas e diversificados, observou-se a restauração dos estoques da glomalina no solo, especialmente no SAF<sub>Ro</sub>, já que este SAF apresentou teores mais elevados dessa proteína em comparação ao PS<sub>Ro</sub>. Além disso, SAF<sub>Ro</sub> apresentou maior similaridade com a MN do que o PS<sub>Ro</sub>. O SAF<sub>Ro</sub> e PS<sub>Ro</sub> foram implantados sob mesmas condições de solo, posição na paisagem e níveis originais de degradação. O SAF<sub>An</sub> possui teores de GT inferiores ao PS<sub>An</sub>, mas o SAF<sub>An</sub> localiza-se em situação de declive que proporciona perdas em relação ao PS<sub>An</sub>. O SAF<sub>Ro</sub> possui como espécie dominante o ingá e o SAF<sub>An</sub>, o abacate, cujos resíduos são de difícil decomposição, contribuindo para maior acúmulo de serapilheira no solo (Duarte, 2007). Já o SAF<sub>Fe</sub>, com apenas cinco anos de implantação, não diferiu do PS<sub>Fe</sub>, implantados sob condições similares. O SAF<sub>Fe</sub> possui como espécie predominante o fedegoso, de mais fácil decomposição (Duarte, 2007). O SAF<sub>Fe</sub> possui também menos indivíduos arbóreos (50 indivíduos) do que os SAF<sub>Ro</sub> e SAF<sub>An</sub> (em torno de 250 indivíduos), o que implica em menor aporte de resíduo ha/ano ao solo. Portanto, fatores como: a espécie de FMAs predominante na área; diversidade de espécies vegetais; características intrínsecas de cada propriedade, como relevo, posição na paisagem, idade do sistema e número de indivíduos arbóreos, podem ter reflexo nos teores de glomalina.

#### **3.4.4 Contribuição da glomalina nos estoques de C e N orgânico do solo**

A contribuição da glomalina no COT foi semelhante aos percentuais descritos em alguns estudos (Bolliger et al., 2008; Lovelock et al., 2004; Rillig et al., 2001) e

inferiores aos 28% relatados em outros (Bai et al., 2009; Rillig et al., 2003; Weller, 2002). Entretanto, é oportuno destacar que a proporção de C orgânico na menor proteína caracterizada foi de 40%. Portanto, a dúvida é se a glomalina é uma proteína com menor proporção de C em sua estrutura, ou se na extração dessa proteína também são extraídas moléculas orgânicas com menor proporção de C orgânico (Rillig, 2004; Whiffen et al., 2007).

Assim, com estudos em diferentes ambientes, nossos dados mostram que a glomalina contribui com elevados teores de C orgânico (Baez-Perez et al., 2010; Wright & Upadhyaya, 1996; Rillig et al., 2003) e, portanto, tem papel fundamental na manutenção de C orgânico no solo.

A contribuição percentual da glomalina no COT foi relativamente próxima entre os sistemas e, ao contrário das observações de Rillig et al. (2003), foram também semelhantes em profundidade. De acordo com Bai et al. (2009), em áreas com histórico de degradação intensa, a contribuição percentual do C da glomalina no COT torna-se maior, pois a planta pode aumentar o fornecimento de fotoassimilados para os FMAs, com intuito de melhorar a obtenção de recursos minerais e água.

O percentual de N na GT observado em nosso estudo (1,83%) foi superior aos percentuais (0,8 a 1,5%), verificado por Rillig et al. (2001), e inferior ao percentual (2,75%), encontrado por Nichols (2003). A contribuição do N da glomalina no NT do solo foi intermediária aos percentuais de 3 a 13% verificados por outros estudos (Etecheverria et al., 2009; Lovelock et al., 2004). Portanto, o N da glomalina pode ser um fonte importante desse nutriente para as culturas, principalmente aqueles agroecossistemas que promovem a manutenção da população dos FMAs na área. Em profundidade, observou-se que, em termos absolutos (média), entre as camadas de 0-10 (6,61 Mg ha<sup>-1</sup>) e 20-40 cm (7,47 Mg ha<sup>-1</sup>), ocorreu um aumento na contribuição do N da GT no NT do solo (13%). Isso pode ter ocorrido, principalmente, devido à redução de outros compostos orgânicos ricos em nitrogênio com a profundidade, em comparação com a glomalina.

### **3.5 Conclusões**

A glomalina contribui para a dinâmica do C e N orgânico no solo e, portanto atua significativamente para a manutenção da qualidade do solo. No prazo de um ano não houve sazonalidade da glomalina em curto prazo, possivelmente por condições específicas dos solos tropicais, que promovem condições para maior estabilidade dessa

proteína. Os estoques de glomalina reduzem em profundidade, mas somente à superfície houve distinção entre o ecossistema natural e os agroecossistemas.

Os sistemas agroflorestais podem contribuir para o aumento da restauração dos teores de glomalina, mas isso dependerá de características dos sistemas, como idade, espécie e quantidade de indivíduos arbóreos. Em um dos cafezais estudados, a introdução do componente arbóreo em área adjacente a um cafezal agroecológico a pleno sol, com o mesmo histórico de degradação, resultou em maiores estoques de glomalina no solo.

### 3.6 Referências

- BÁEZ-PÉREZ, A.; GONZÁLEZ-CHÁVEZ, M.C.A.; ETCHEVERS-BARRA, J.D. PRAT, C.; HIDALGO-MORENO, C. Glomalina y seqüestro de carbono en Tepetates cultivados. *Agrociencia*, 44: 518-529, 2010.
- BAI, C.; HE, X.; TANG, H.; SHAN, B.; ZHAO, L. Spatial distribution of arbuscular mycorrhizal fungi, glomalin and soil enzymes under the canopy of *Astragalus adsurgens* Pall. in the Mu Us sandland, China. *Soil Biology & Biochemistry*, 41: 941-947, 2009.
- BEDINI, S.; AVIO, L.; ARGESE, E.; GIOVANNETTI, M. Effects of long-term land use on arbuscular mycorrhizal fungi and glomalin-related soil protein. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 120: 463-466, 2007.
- BODDINGTON, C.L.; DODD, J.C. The effect of agricultural practices on the development of indigenous arbuscular mycorrhizal fungi. I. Field studies in an Indonesian ultisol. *Plant Soil*, 218: 137-144, 2000.
- BOLLIGER, A.; NALLA, A.; JAKOB MAGID, J.; NEERGAARD, A.; ANITA DOLE NALLA, A.D.; BOG-HANSEN, T.C. Re-examining the glomalin-purity of glomalin-related soil protein fractions through immunochemical, lectin-affinity and soil labelling experiments. *Soil Biology & Biochemistry*, 40: 887-893, 2008.
- BORIE, F.; RUBIO, R.; MORALES, A. Arbuscular mycorrhizal fungi and soil aggregation. *Journal Soil Science & Plant Nutrition*, 8: 9-18, 2008.
- BORIE, F.; RUBIO, R.; MORALES, A.; CASTILO, C. Relación entre desindad de hifas de hongos micorrizógenos arbusculares y producción de glomalina con las características físicas y químicas de suelos bajo cero labranza. *Revista Chilena de Historia Natural*, 73: 749-756, 2000.
- CARDOSO, I.M.; GUIJT, I.; FRANCO, F.S.; CARVALHO, A.F.; FERREIRA NETO, O.S. Continual learning for agroforestry system design: university, NGO and farmer partnership in Minas Gerais, Brazil. *Agricultural Systems*, 69: 235-257, 2001.
- CARVALHO, A.F. Água e radiação em sistemas agroflorestais com café no Território da Serra do Brigadeiro – MG. Universidade Federal de Viçosa, 2011. Tese (Doutorado em Solos e Nutrição de Plantas) Viçosa: UFV, 2011.
- CARVALHO, A.F.; FERREIRA NETO, P.S. Evolving leaning in designing agroecological farming systems with smal-scaler farmers in Zona da Mata, Brazil.

- In: GUIJT, I.; BERDEGUÉ, J.A.; LOEVINSOHN, M.; HALL, F. (ed.). Deepening the basis of rural resource management. The Hague: ISNAR, 2000, 73-88p.
- DRIVER, J.D.; HOLBEN, W.E.; RILLIG, M.C. Characterization of glomalin as a hyphal wall component of arbuscular mycorrhizal fungi. *Soil Biology & Biochemistry*, 37: 101-106, 2005.
- DORIOZ, J.M.; ROBERT, M.; CHENU, C. The role of roots, fungi and bacteria on clay particle organization. An experimental approach. *Geoderma*, Amsterdam, 56: 179-194, 1993.
- DUARTE, E.M.G. Ciclagem de nutrientes por árvores em sistema agroflorestal na Floresta Atlântica. Universidade Federal de Viçosa, 2007. Dissertação (Mestrado em Solos de Nutrição de Plantas) Viçosa: UFV, 2007, 115p.
- ENGEVIX. Caracterização do meio físico da área autorizada para criação do Parque Estadual da Serra do Brigadeiro. Instituto Estadual de Floresta, Bird/Pró-Floresta/SEPLA, 1995, 34p.
- ETCHEVERRIA, P.; HUYGENS, D.; GODOY, R.; BORIE, F.; BOECKX, P. Arbuscular mycorrhizal fungi contribute to 13C and 15N enrichment of soil organic matter in forest soils. *Soil biology & Biochemistry*, 41: 858-861, 2009.
- FERNANDES, J.M. Taxonomia e etnobotânica de Leguminosae Adans. em fragmentos florestais e sistemas agroflorestais na Zona da Mata Mineira. Universidade Federal de Viçosa, 2007. Dissertação (Mestrado em Botânica) Viçosa: UFV, 2007, 223p.
- FRANCO, F.S. Sistemas Agroflorestais: uma contribuição para a conservação dos recursos naturais da Zona da Mata de Minas Gerais. Universidade Federal de Viçosa, 2000. Tese (Doutorado em Ciência Florestal) Viçosa: UFV, 2000, 147p.
- FREITAS, H.R.; CARDOSO, I.M.; JUCKSCH, I. Legislação ambiental e uso da terra: o caso da Zona da Mata de Minas Gerais. *Revista Brasileira de Ciência do Solo (Boletim Informativo)*, 29: 22-27, 2004.
- GOLFARI, L. Zoneamento Ecológico do Estado de Minas Gerais para reflorestamento. Série Técnica, 3. CPFRC, Belo Horizonte, BR. 1975.
- GONZALEZ-CHAVEZ, M.C.A. AITKENHEAD-PETERSON, J.A.; GENTRY, T.J.; ZUBERER, D.; HONS, F.; LOEPPERT, R. Soil microbial community, C, N, and P responses to long-term tillage and crop rotation. *Soil & Tillage Research*, 106: 285-293, 2010.
- GONZÁLEZ-CHÁVEZ, M.C.; CARRILLO-GONZÁLEZA, R.; WRIGHT, S.F.; NICHOLS, K.A. The role of glomalin, a protein produced by arbuscular mycorrhizal fungi, in sequestering potentially toxic elements. *Environmental Pollution*, 130: 317-323, 2004.
- HALVORSON, J.J.; GONZALEZ, J.M. Bradford reactive soil protein in Appalachian soils: distribution and response to incubation, extraction reagent and tannins. *Plant Soil*, 286: 339-356, 2006.
- HELGASON, B.L.; WALLEYB, F.L.; GERMIDA, J.J. No-till soil management increases microbial biomass and alters community profiles in soil aggregates. *Applied Soil Ecology*, 46: 390-387, 2010.
- HE, X.; LI, Y.; ZHAO, L. Dynamics of arbuscular mycorrhizal fungi and glomalin in the rhizosphere of *Artemisia ordosica* Krasch. In: Mu Ussandland, China. *Soil Biology & Biochemistry*, 42: 1313-1319, 2010.

- HONTORIA, C.; VELASQUEZ, R.; BENITO, M.; ALMOROX, J.; MOLINER, A. Bradford-reactive soil proteins and aggregate stability under abandoned versus tilled olive groves in a semi-arid calcisol. *Soil Biology & Biochemistry*, 41: 1583–1585, 2009.
- JARECKI, M.K.; LAL, R. Soil organic carbon sequestration rates in two long-term no-till experiments in Ohio. *Soil Science*, 170:280–291, 2005.
- JASTROW, J.D.; MILLER, R.M. Soil aggregate stabilization and carbon sequestration: feedbacks through organomineral associations. In *Soil Processes and the Carbon Cycle*. LAL, R.; KIMBLE, J. M.; FOLLETT, R. F.; STEWART, B. A. CRC (eds.) Press, Boca Raton, FL., 1997, 207-223p
- KER, J.C. Mineralogia, sorção e dessorção de fosfato, magnetização e elementos traços de Latossolos do Brasil. Universidade Federal de Viçosa, 2005. Tese (Doutorado em Solos e Nutrição de Plantas) Viçosa: UFV, 1995, 181p.
- LOVELOCK, C.E.; WRIGHT, S.F.; CLARK, D.A.; RUESS, R.W. Soil stocks of glomalin produced by arbuscular mycorrhizal fungi across a tropical rain forest landscape. *Journal Ecology*, 92: 278–287, 2004.
- MERGULHÃO, A.C.E.S.; BURITY, H.A.; DA SILVA, F.S.B.; PEREIRA, S.V.; MAIA, L.C. Glomalin Production and Microbial Activity in Soils Impacted by Gypsum Mining in a Brazilian Semiarid Area. *American Journal of Agricultural and Biological Sciences*, 5: 422-429, 2010.
- MERTENS, L. The role of mycorrhizal trees in an agroforestry coffee farm in the Zonada Mata of Minas Gerais, Brazil. Wageningen University, 2010. Thesis (Soil Quality) Wageningen: Wur, 2010, 81p.
- MILLER, R.M.; JASTROW, J.D. Mycorrhizal fungi influence soil structure. In: KAPULNIK, Y.; DOUDS. D.D. (eds.). *Arbuscular mycorrhizas: physiology and function*, 2000, 3-18p.
- MORALES, A.L.; CASTILLO, C.R.; RUBIO, R.H.; GODOY, R.B.; ROUANET, J.L. M.; BORIE, F.B. Niveles de glomalina en suelos de dos ecosistemas del sur de Chile. *Revista de la Ciencia del Suelo y Nutrición Vegetal*, 5: 37-45, 2005.
- MUNYANZIZA, E.; KEHRI, H.K.; BAGYARAJ, D.J. Agricultural intensification, soil biodiversity and agro-ecosystem function in the tropics: the role of mycorrhiza in crops and trees. *Applied Soil Ecology*, 6: 77-85, 1997.
- MYERS, N.; MITTERMEIER, F.G.A.B.; KENT, J.B. Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature*, London, 403: 853-858, 2000.
- NICHOLS, K.A. Characterization of glomalin glycoprotein produced by arbuscular mycorrhizal fungi. University of Maryland, 2003. Thesis (Doctor Philosophy.) Maryland: MD, 2003, 285p.
- 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 & Biochemistry*, 42: 724-738, 2010.
- OEHL, F.; SIEVERDING, E.; INEICHEN, K.; MADER, P.; WIEMKEN, A.; BOLLER, T. Distinct sporulation dynamics of arbuscular mycorrhizal fungal communities from different agroecosystems in long-term microcosms. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 134: 257–268, 2009.



- OEHL, F.; SIEVERDING, E. Pacispora, a new vesicular arbuscular mycorrhizal fungal genus in the Glomeromycetes. *Journal of Applied Botany and Food Quality*, 78: 72- 82, 2004.
- PREGER, A.C.; RILLIG, M.C.; JOHNS, A.R.; DU PREEZ, C.C.; LOBE, I.; AMELUNG, W. Losses of glomalin-related soil protein under prolonged arable cropping: A chronosequence study in sandy soils of the South African Highveld. *Soil Biology & Biochemistry*, 39: 445–453, 2007.
- PURIN, S.; KLAUBERG FILHO, O.; STURMER, S.L. Mycorrhizae activity and diversity in conventional and organic apple orchards from Brazil. *Soil Biology & Biochemistry*, 38: 1831–1839, 2006.
- RILLIG, M.C.; LUTGEN, E.R.; RAMSEY, P.W.; KLIRONOMOS, J.N.; GANNON, J.E. Microbiota accompanying different arbuscular mycorrhizal fungal isolates influence soil aggregation. *Pedobiologia*, 49: 251-259, 2005.
- RILLIG, M.C. Arbuscular mycorrhizae, glomalin, and soil aggregation. *Canadian Journal Soil Science*, 84: 355–363, 2004.
- RILLIG, M.C.; RAMSEY, P.W.; MORRIS, S.; PAUL, E.A. Glomalin, an arbuscular-mycorrhizal fungal soil protein, responds to land-use change. *Plant Soil*, 253: 293–299, 2003.
- RILLIG, M.C.; WRIGHT, S.F.; EVINER, V.T. The role of arbuscular mycorrhizal fungi and glomalin in soil aggregation: comparing effects of five plant species. *Plant Soil*, 238: 325-333, 2002.
- RILLIG, M.C.; WRIGHT, S.F.; NICHOLS, K.A.; SCHMIDT, W.F.; TORN, M.S. Large contribution of arbuscular mycorrhizal fungi to soil carbon pools in tropical forest soils. *Plant Soil*, 233: 167–177, 2001.
- RILLIG, M.C.; WRIGHT, S.F.; ALLEN, M.F.; FIELD, C.B. Rise in carbon dioxide changes soil structure. *Nature*, 400: 628, 1999.
- ROLIM, F.A.; RIBEIRO, G.A. Levantamento do potencial turístico do Parque Estadual da Serra do Brigadeiro - PESB com o suporte em geoprocessamento. In: X SBSR. Foz do Iguaçu, Anais..., Paraná, PR, 9, 2001, 67-969p.
- SAS, INSTITUTE. SAS/STAT: users guide, release 9.1. SAS Institute Inc., Cary,. 2002-2003.
- SIQUEIRA, L.C. Levantamento florístico e etnobotânico do estrato arbóreo em sistemas naturais e agroflorestais, Araçuaia, Minas Gerais. Universidade Federal de Viçosa, 2008. Dissertação (Mestrado em Botânica) Viçosa: UFV, 2008, 118p.
- SOUZA, H.N.; CARDOSO, I.M.; FERNANDES, J.M.; GARCIA, F.C.P.; BONFIM, V.R.; SANTOS, A.C.; CARVALHO, A.F.; MENDONÇA, E.S. Selection of native trees for intercropping with coffee in the Atlantic Rainforest biome. *Agroforestry Systems*, 80: 1-16, 2010.
- SPOHN, M.; GIANI, L. Water-stable aggregates, glomalin-related soil protein, and carbohydrates in a chronosequence of sandy hydromorphic soils. *Soil Biology & Biochemistry*, 42: 1505-1511, 2010.
- STEINBERG, P.D.; RILLIG, M.C. Differential decomposition of arbuscular mycorrhizal fungal hyphae and glomalin. *Soil Biology & Biochemistry*, 35: 191–194, 2003.
- TEDESCO, M.J.; GIANELLO, G.; BISSANI, C.A.; BOHNEN, H.; VOLKWEIS, S.I. Análise de solo, plantas e outros materiais. 2. ed. Porto alegre, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 1995. 174p.

- TISDALL, J.M.; OADES, J.M. Organic matter and water stable aggregates in soil. *Journal of Soil Science*, 33: 141–163, 1982.
- TRESEDER, K.K.; TURNER, K.M. Glomalin in Ecosystems. *Science Society American Journal*, 71: 1257–1266, 2007.
- TRESEDER, K.K.; CROSS, A. Global Distributions of Arbuscular Mycorrhizal Fungi. *Ecosystems*, 9: 305–316, 2006.
- VIOLI, H.A.; BARRIENTOS-PRIEGO, A.F.; WRIGHT, S.F.; ESCAMILLA-PRADO, E.; MORTON, J.B.; MENGE, J.A.; LOVATT, C.J. Disturbance changes arbuscular mycorrhizal fungal phenology and soil glomalin concentrations but not fungal spore composition in montane rainforests in Veracruz and Chiapas, Mexico., *Forest Ecology and Management*, 254: 276–290, 2008.
- WELLER, K. Glomalin: hiding place for a third the world's stored soil carbon. *Agricultural Research Magazine*, 50: 4-7, 2002.
- WEST, S.B.; CAESAR-TONTHAT, T.C.; WRIGHT, S.F.; WILLIAMS, J.D. Organic matter addition, N, and residue burning effects on infiltration, biological, and physical properties of an intensively tilled silt-loam soil. *Soil Tillage Research*, 84: 154–167, 2005.
- WHIFFEN, L.K.; MIDGLEY, D.J.; MCGEE, P.M. Polyphenolic compounds interfere with quantification of protein in soil extracts using the Bradford method. *Soil Biology & Biochemistry*, 39: 691–694, 2007.
- WRIGHT, S.F. GREEN, V.S.; CAVIGELLI, M.A. Glomalin in aggregate size classes from three different farming systems. *Soil & Tillage Research*, 94: 546–549, 2007.
- WRIGHT, S.F.; ANDERSON, R.L. Aggregate stability and glomalin in alternative crop rotations for the central Great Plains. *Biology Fertility Soils*, 31: 249-253, 2000.
- WRIGHT, S.F.; STARR, J.L.; PALTINEANU, I.C. Changes in aggregate stability and concentration of glomalin during tillage management transition. *Soil Science Society. American Journal*, 63: 1825-1829, 1999.
- WRIGHT, S.F.; UPADHYAYA, A. A survey of soils for aggregate stability and glomalin, a glycoprotein produced by hyphae of arbuscular mycorrhizal fungi. *Plant and Soil*, 198: 97–107, 1998.
- WRIGHT, S.F.; UPADHYAYA, A. Extraction of an abundant and unusual protein from soil and comparison with hyphal protein of arbuscular mycorrhizal fungi. *Soil Science*, 161: 575–586, 1996.
- YEOMANS, J.C.; BREMNER, J.M.A. rapid and precise method for routine determination of organic carbon in soil. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 19: 1467-1476, 1988.

## CAPÍTULO 4

### Glomalina e a estabilidade de agregados em cafezais agroecológicos

**Resumo** - A glomalina é uma proteína produzida pelos fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) que atuam no processo de formação e estabilização dos agregados. O objetivo do presente trabalho foi avaliar a relação glomalina e carbono orgânico total (COT), assim como a agregação do solo, em áreas com cafezais agroecológicos, manejados a pleno sol (PS) e em sistemas agroflorestais (SAF). Foram selecionadas três propriedades de agricultores familiares (An, Ro e Fe) que cultivam Café (*Coffea arabica*), na região da Zona da Mata – MG, em sistema agroecológico, com manejo a PS e SAF, e uma mata nativa (MN) representativa da região. As amostragens foram realizadas no período chuvoso (Março) e no seco (Setembro), no ano de 2009. Em cada sistema de manejo, foram coletadas quatro amostras compostas de solo, nas profundidades de 0-20 e 20-40 cm. Foram também calculados os seguintes índices: diâmetro médio geométrico (DMG), diâmetro médio ponderado (DMP) e índice de estabilidade de agregados (IEA). Foram determinados o teor de glomalina total (GT) e o COT nas classes de agregados de 4-2, 2-1 e 1-0,5 mm, bem como o carbono lábil ( $C_L$ ) e o carbono Não lábil ( $C_{NL}$ ). Os sistemas agroecológicos com cafezais na Zona da Mata de Minas Gerais, avaliados pelos índices de estabilidade DMP, DMG e IEA, evitam a degradação da estrutura do solo. A glomalina parece fazer parte do  $C_L$  e  $C_{NL}$  do solo. O que pode indicar que essa proteína tem contribuição tanto no CO facilmente degradável, quando na fração do carbono recalcitrante do solo. A glomalina é importante na dinâmica do C orgânico e está envolvida na agregação e estabilização dos agregados do solo, principalmente na macroagregação, uma vez que a mesma apresenta correlação com o COT, o  $C_L$  e o  $C_{NL}$  e seu conteúdo aumenta com o diâmetro dos agregados.

**Palavras-chave:** Carbono orgânico total, estrutura do solo, fungos micorrízicos arbusculares

## 4.1 Introdução

Os microrganismos, a exemplo dos fungos micorrízicos arbusculares (FMAs), desempenham funções importantes no sistema solo/planta. Os FMAs em associação com as plantas promovem melhor nutrição do hospedeiro e, por meio do micélio extrarradicular, atuam no processo de estruturação do solo (Van der Heijden, 1998; Rillig & Mummey, 2006). A ação da rede micelial micorrízica pode alterar as propriedades físico-químicas do solo ao atuar como agente estabilizador dos agregados (Miller & Jastrow, 2000) ou contribuir para a produção de matéria orgânica no solo (MOS), principalmente pela produção de hifas (Tisdall & Oades, 1982; Six et al., 2004; Rillig & Mummey, 2006) e de glomalina. De acordo com Zhu & Miller (2003), os FMAs podem aportar de 50 a 900 kg ha<sup>-1</sup> de carbono orgânico ao solo, através das hifas. Outra estimativa revela que o carbono, quando introduzido ao solo pelas hifas e a glomalina, pode chegar a 15% do carbono orgânico total (COT) do solo (Miller & Jastrow, 2000).

A glomalina é uma glicoproteína produzida pelos FMAs (Wright & Upadhyaya, 1998), depositada na parede de hifas e esporos, apresentando hidrofobicidade e elevado tempo de residência no solo (Driver et al., 2005; Rillig et al., 2001; 2003; Wright & Upadhyaya, 1996). Os teores de glomalina nos ecossistemas tropicais são superiores aos encontrados nos ecossistemas de clima temperado, o que tem sido atribuído ao elevado teor de óxidos; a maior produção primária, com maior aumento do fornecimento de C para os FMAs; a maior diversidade de espécies vegetais, com maior abundância e diversidade dos FMAs nos trópicos; e interação entre esses fatores (Rillig et al., 2001; Treseder & Turner, 2007; Wright & Upadhyaya, 1996). Diversos autores têm observado correlação positiva entre os teores de glomalina com a estabilidade (Bird et al., 2002; Hontoria et al., 2009) e aumento do diâmetro dos agregados do solo (Wright et al., 1999, 2007). Segundo Rillig (2004), a correlação positiva entre glomalina e agregação tem maior importância em solos onde a matéria orgânica é o principal agente de estabilização dos agregados. Entretanto, nos solos tropicais altamente intemperizados, nos quais não só a matéria orgânica contribui para a formação e estabilização dos agregados (Tisdall & Oades, 1982; Castro Filho et al., 1998), mas também os oxihidróxidos de Fe e Al, ainda não está claro qual seria a ação da glomalina na estabilização dos agregados (Rillig et al., 2001). Todavia, mesmo com maior estabilidade, o tipo de manejo adotado nos trópicos pode reduzir os estoques dessa

proteína no solo, afetando diretamente a formação e estabilização dos agregados (Nichols & Wright, 2005; Wright et al., 1999; 2007). O aumento da intensidade do manejo do solo pode reduzir a macroagregação e essa redução parece estar relacionada, entre outros fatores, aos teores de glomalina do solo. Alguns autores observaram queda da agregação e também dos teores de glomalina nas pastagens, em relação à floresta, e em culturas anuais, em relação às pastagens (Ashagrie et al., 2007; Haynes et al., 1991; Jastrow, 1996; John et al., 2005). Spohn & Giani (2011) observaram que o uso intensivo do solo reduziu 73,1% do COT, em 110 anos, e 32% da glomalina, em 56 anos de cultivo. Práticas como a aração do solo por períodos prolongados reduziu o efeito benéfico da glomalina sob a agregação (Preger et al., 2007; Rillig et al., 2003). Outras práticas, como a fertilização intensiva e o uso de agrotóxicos, também podem afetar negativamente a população dos FMAs no solo (Boddington & Dodd, 2000; Jarecki & Lal, 2005; Oehl & Sieverding, 2004; Oehl et al., 2010) e com isso reduzir os estoques dessa proteína, com conseqüente alteração da estabilidade dos agregados do solo.

Em agroecossistemas manejados de forma agroecológica, onde há redução dos impactos negativos sobre a população dos FMAs e a manutenção e integridade das redes miceliais, espera-se maior síntese e manutenção dos teores de glomalina no solo (Violi et al., 2008), com a conseqüente melhoria da agregação e conservação da estrutura do solo. Em sistemas agroflorestais, espera-se, ainda, maior contribuição dessa proteína no processo de agregação, em vista dos FMAs aumentarem a diversidade de plantas nos agroecossistemas (Van der Heijden et al., 1998).

O objetivo desse trabalho foi o de avaliar o conteúdo de glomalina e COT nas classes de agregados em áreas com cafezais agroecológicos, manejados a pleno sol, e em sistemas agroflorestais, bem como estudar a correlação entre os teores dessa proteína e alguns índices de estabilidade dos agregados do solo.

## **4.2 Material e Métodos**

### **4.2.1 Área de estudo**

O estudo foi conduzido em Araponga, município da Zona da Mata, sudeste de Minas Gerais, domínio da Floresta Atlântica (hotspot de biodiversidade, Myers et al., 2000) - Brasil. A temperatura média da região é de 18 °C, precipitação anual variando de 1200 a 1800 mm, com período seco de 2 a 4 meses (Engevix, 1995; Rolim & Ribeiro,

2001). O relevo é montanhoso, com declividade que pode variar de 20 a 45% nas encostas (Golfari, 1975), com predomínio da classe dos Latossolos (Ker, 1995).

A região sofreu processo severo de desmatamento para a implantação, em um primeiro momento, da cultura do café a pleno sol, quase sempre intercalada com culturas anuais e depois pastagens, que sofrem queimadas constantemente. Entretanto, desde 1994, agricultores da região estão produzindo além de café agroecológico a pleno sol, café agroecológico em sistemas agroflorestais (Cardoso et al., 2001). Nessa região, os agroecossistemas agroecológicos são manejados com baixo uso de adubos químicos, sem a utilização de agrotóxico e sem revolvimento dos solos. A instalação dos sistemas agroflorestais foi realizada de forma participativa, e, em geral, em áreas com histórico de uso e degradação severa do solo, com drástica perda de qualidade (Cardoso et al., 2001), pois tais sistemas agroflorestais são considerados eficientes em reduzir a perda de solo e nutrientes por processos erosivos (Carvalho & Ferreira Neto, 2000; Franco, 2000).

Para o presente estudo, foram selecionadas três propriedades de agricultores familiares, na região da Zona da Mata – MG, que cultivam café (*Coffea arabica* L.), em sistema agroecológico, daqui em diante identificados pelas iniciais dos proprietários An, Ro e Fe. Em cada propriedade foi amostrado um sistema agroecológico com café a pleno sol (PS) e um sistema agroflorestal (SAF). Os sistemas foram identificados da seguinte forma: SAF<sub>An</sub> e PS<sub>An</sub>; SAF<sub>Ro</sub> e PS<sub>Ro</sub>; SAF<sub>Fe</sub> e PS<sub>Fe</sub>. Como referência, amostrou-se uma mata nativa (MN) representativa da região, que se localizava próxima às áreas de estudo.

Os sistemas agroflorestais foram implantados em solos da propriedade em que os agricultores consideravam em estágio mais avançado de degradação (Souza et al., 2010). Enquanto os sistemas agroecológicos a pleno sol foram instalados em solos com melhor qualidade, exceto na propriedade Ro onde os dois sistemas (agroflorestal e a pleno sol) foram introduzidos em áreas com o mesmo histórico de degradação. Como os sistemas agroflorestais foram implantados em processo participativo, os agricultores tiveram total liberdade de escolha dos desenhos e manejos, portanto constitui-se uma grande diversidade de sistemas (Souza et al., 2010). Dessa forma, a escolha de sistemas similares foi um dos desafios do estudo aqui apresentado, exceto na propriedade Ro, em que o SAF e a PS possuem o mesmo histórico de uso e manejo (exceto a presença de árvores nos SAF), pois localizam-se na mesma posição da paisagem e possuem a mesma idade de implantação. O SAF<sub>An</sub>, embora com o mesmo histórico de manejo

(exceto a presença de árvores), foi instalado em área muito declivosa (superfície de perda), acima do sistema a PS (superfície de acúmulo), que recebe então resíduos originários dos SAFs e que no passado recebia muitos sedimentos dessa área, fruto dos processos erosivos. Na propriedade Fe, o SAF também foi instalado em área um pouco mais degradada do que o PS, mas em posições similares na paisagem. Enquanto o SAF<sub>An</sub> e SAF<sub>Ro</sub> possuíam, por época da amostragem dos solos, em torno de 18 anos, o SAF<sub>Fe</sub> possuía apenas cinco anos. Os SAF<sub>Ro</sub> e SAF<sub>An</sub> possuem em torno de 250 árvores ha<sup>-1</sup> (Carvalho, 2011) e SAF<sub>Fe</sub> em torno de 50 árvores ha<sup>-1</sup> (Mertens, 2010). Os SAFs possuem em torno de 15 espécies de árvores (Fernandes, 2007; Siqueira, 2008), mas as espécies diferem entre as propriedades. No SAF<sub>An</sub>, a espécie predominantes é o abacate (*Persea americana* Mill.); no SAF<sub>Ro</sub>, o ingá (*Inga sessilis* Vell. e *Inga subnuda* Benth.) e no SAF<sub>Fe</sub>, o fedogoso (*Senna macranthera* H.S. Irwin & Barneby). Outras informações a respeito do histórico desses sistemas encontram-se na Tabela 1.

**Tabela 1.** Histórico das propriedades cafeicultoras do município de Araponga – MG

Sistemas <sup>1</sup>	Uso Anterior	Idade (anos)	Área (ha)	Nº Plantas	Manejo Atual
SAF <sub>Ro</sub>	Mata, pastagem, milho, feijão, arroz de sequeiro e capim napier	15	0,15	500	Calagem, supermagro, calda Viçosa, esterco bovino e NPK
PS <sub>Ro</sub>			0,75	2.500	
SAF <sub>An</sub>	Mata, pastagem e café	14	0,36	1.200	Calagem, cama de frango, urina e esterco bovinos, NPK (apenas no PS),
PS <sub>An</sub>	convencional		0,60	2.000	
SAF <sub>Fe</sub>		5	2,50		Calagem, Supersimples, calda viçosa, NPK,
PS <sub>Fe</sub>	Mata, café convencional	18	6,50		
MN	Mata primária	30	5	-	Mata secundária em recuperação

<sup>1</sup>Sistemas de café a pleno sol PS e agroflorestal (SAF) em diferentes propriedades identificadas pela sigla de seus proprietários (An, Ro e Fe). MN, Área de mata próxima às propriedades amostrada como referência.

A mata nativa está em recuperação há 30 anos, em área que anteriormente sofreu degradação intensa. As amostras de solo foram retiradas no período chuvoso (Março) e seco (Setembro) de 2009. Nas sete áreas selecionadas, foram coletadas quatro amostras compostas de solo, nas profundidades de 0-20 e 20-40 cm, sendo as amostras retiradas na entre linha de plantio e próximo ao terço basal do dossel do cafeeiro. Nos SAFs, foram selecionadas plantas de café que estavam sob influência da copa das árvores. As amostras de solo retiradas do campo foram secas ao ar, destorroadas, passadas em peneira de 2 mm (TFSA) e analisadas. Alguns atributos físico-químicos do solo foram avaliados nos diferentes sistemas e estão apresentados na Tabela 2.

**Tabela 2.** Propriedades físicas do solo sob café manejado a pleno sol (PS) e sistema agroflorestal (SAF) em propriedades agroecológicas (Ro, An e Fe) no município de Araponga, MG

Atributos <sup>1</sup>	Prof. (cm)	Sistemas <sup>2</sup>						
		SAF <sub>Ro</sub>	PS <sub>Ro</sub>	SAF <sub>An</sub>	PS <sub>An</sub>	SAF <sub>Fe</sub>	PS <sub>Fe</sub>	MN
Argila (%)	0-20	55,2	45,3	39,0	39,5	57,1	61,8	53,3
	20-40	59,3	52,5	44,5	42,3	59,8	65,0	55,3
Ds (kg dm <sup>-3</sup> )	0-20	1,0	1,0	1,1	1,0	1,0	1,0	0,9
	20-40	1,0	1,0	1,1	1,1	1,0	1,0	0,9
pH (H <sub>2</sub> O)	0-20	5,1	5,3	5,7	5,5	5,3	5,2	4,3
	20-40	4,7	4,7	5,1	5,6	4,7	4,6	4,4
CTC (t)	0-20	4,5	4,5	4,7	6,7	3,1	3,6	2,4
	20-40	2,2	2,4	2,0	4,5	1,6	1,7	1,3
P Mehlich (mg kg <sup>-1</sup> )	0-20	4,0	4,3	2,5	3,8	3,5	3,5	3,3
	20-40	2,7	1,6	1,4	3,3	1,6	1,9	1,7
COT (dag kg <sup>-1</sup> )	0-20	3,8	3,1	3,9	4,8	3,4	3,7	6,8
	20-40	2,9	2,2	2,9	3,8	2,8	3,0	4,2
NT (dag kg <sup>-1</sup> )	0-20	0,22	0,20	0,21	0,35	0,20	0,19	0,39
	20-40	0,16	0,11	0,14	0,29	0,13	0,14	0,22

<sup>1</sup>Argila – Percentagem de argila; Ds - Densidade do solo; pH – pH do solo em água; CTC (t) – Capacidade de troca de cátions efetiva; P – Fósforo disponível; COT – Carbono orgânico total; NT – Nitrogênio total. <sup>2</sup>MN – Mata nativa; SAF – Sistema agroflorestal; PS – Sistema a pleno sol; An – Ângelo; Ro – Romualdo; Fe – Fernando; AP - Área de mata próxima as propriedades.



#### 4.2.2 Estabilidade de agregados do solo

A distribuição percentual das classes de tamanho dos agregados foi realizada em amostras de agregados de 2 a 4 mm de diâmetros, por meio do peneiramento úmido, utilizando-se um aparelho de Yoder (Embrapa, 1997). O peneiramento foi efetuado utilizando-se um conjunto de peneiras com malhas de 0,105; 0,25; 0,5; 1,0 e 2 mm de abertura. Foram obtidas seis classes de agregados, definidas pelos seguintes intervalos de diâmetros: < 0,105 mm; 0,105 a 0,25 mm; 0,25 a 0,5 mm; 0,5 a 1,0 mm; 1,0 a 2,0 mm e 2,0 a 4,0 mm (Kemper & Chepil, 1965). A partir dos dados obtidos, foram calculados os índices: diâmetro médio geométrico (DMG), diâmetro médio ponderado (DMP) e índice de estabilidade de agregados (IEA). Nos cálculos dos índices DMG, DMP e IEA foram utilizadas as equações abaixo, de acordo com Kemper & Chepil (1965).

$$DMG = 10^{\frac{\sum_{i=1}^n x_i \log d_i}{\sum_{i=1}^n x_i}} \quad e \quad DMP = \frac{\sum_{i=1}^n x_i d_i}{\sum_{i=1}^n x_i}$$

em que  $x_i$  = quociente da massa de agregados retidos na peneira  $i$  sobre a massa total;

$d_i$  = diâmetro médio da fração.

$$IEA = \left( \frac{Ps - wp_{0,105} - areia}{Ps - areia} \right) \cdot 100$$

Em que:

$Ps$  = massa da amostra seca (g);

$wp_{0,105}$  = massa dos agregados da classe < 0,105 mm (g);

$areia$  = proporção de areia (g/kg).

#### 4.2.3 Glomalina no solo e nas classes de agregados

O teor de glomalina total (GT) foi determinado na terra fina seca ao ar (TFSA) e nas classes de agregados de 4-2, 2-1 e 1-0,5 mm, pois essas apresentaram percentual maior que 90% do total dos agregados do solo. E, ainda, por diferença entre o teor de glomalina nos agregados (4-2, 2-1 e 1-0,5 mm) e o total desta no solo (TFSA), obteve-

se o percentual relativo ao solo com granulometria menor que 0,5 mm de diâmetro. Amostras dessas classes foram secas e trituradas no almofariz. A extração da glomalina foi baseada na metodologia descrita por Wright & Upadhyaya (1996). A extração da glomalina total (GT) seguiu o seguinte procedimento: em tubo de centrifuga, foram adicionados 1 g de solo + 8,0 mL da solução de citrato de sódio 50 mM L<sup>-1</sup> a pH 8,0. Os teores de GT foram obtidos por extrações sucessivas da mesma amostra de solo com reposição da solução extratora, enquanto para a GFE realizou-se a extração apenas uma vez. Após essa etapa, os tubos foram centrifugados a 5.000 x g por 15 minutos, o sobrenadante foi quantificado com o auxílio de uma proveta graduada e armazenado a uma temperatura de 4°C. Os teores da GT foram determinados na solução sobrenadante através do ensaio de Bradford, utilizando albumina bovina como proteína padrão.

#### **4.2.4 Carbono orgânico no solo e nas classes de agregados**

O carbono orgânico total (COT) foi determinado nas amostras de solo (TFSA) e nos agregados do solo nas classes de 4-2, 2-1 e 1-0,5 mm de diâmetro. O método utilizado foi oxidação do carbono orgânico via úmida, com K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub> a 0,167 mol L<sup>-1</sup> em meio sulfúrico, com aquecimento externo (Yeomans & Bremner, 1988).

#### **4.2.5 Carbono orgânico sob diferentes graus de oxidação**

O carbono orgânico lábil (C<sub>L</sub>) foi obtido utilizando-se diferentes concentrações de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (F1: 3 mol L<sup>-1</sup>H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>; F2: 6 mol L<sup>-1</sup>– 3 mol L<sup>-1</sup>H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>; F3: 9 mol L<sup>-1</sup> – 6 mol L<sup>-1</sup> H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>; e F4: COT – 9 mol L<sup>-1</sup> H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), sem aquecimento externo e seguido por titulação com Fe<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O 1 mol L<sup>-1</sup>. Considera-se como carbono lábil os somatórios F1 + F2 e não lábil F3 + F4, das frações de C obtidas por diferentes graus de oxidação (Chan et al., 2001 adaptado por Mendonça & Matos, 2005).

#### **4.2.6 Análise estatística**

Para os teores de GT e COT nas diferentes classes de agregados foram comparados os sistemas PS, SAF e MN em cada propriedade e em cada profundidade. Nos índices de estabilidade, foram comparados os sete sistemas entre si e em cada profundidade. Em todas as variáveis foram avaliadas o efeito da profundidade (camada superficial vs subsuperficial). Esses dados foram submetidos à análise de variância com comparação de médias pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Determinou-se,

também, a correlação de linear Pearson para verificar possíveis relações entre as variáveis. Para realizar os cálculos estatísticos, utilizou-se o sistema computacional SAS versão 9.1 (SAS, 2003).

### 4.3 Resultados

#### 4.3.1 Estabilidade de agregados do solo

De modo geral, nas áreas em estudo, as classes de agregados de maior diâmetro (4-2; 2-1 e 1-0,5 mm) representaram 91% do percentual total dos agregados do solo, sendo que a classe de 4-2 mm de diâmetro contribuiu com 73% desse valor. Os índices de estabilidade de agregados não apresentaram diferença estatística entre épocas de coleta, com exceção do DMG nos SAF<sub>Ro</sub> e PS<sub>Fe</sub> e IEA nos SAF<sub>Ro</sub>, SAF<sub>Fe</sub> e PS<sub>Fe</sub> que apresentaram maiores valores desses índices na época seca.

Na camada superficial (0-20 cm) a média dos índices de estabilidade dos agregados nas áreas com cafezais foram: 2,50 mm para o DMP; 1,97 mm para o DMG e 90% para o IEA. Já na camada subsuperficial (20-40 cm) foram obtidos valores de 2,37 mm para o DMP, 1,88 mm para o DMG e 92% para o IEA (Tabela 3).

**Tabela 3.** Índices de agregação do solo em sistema agroflorestal (SAF), Pleno sol (PS) e Mata nativa (MN)

Índices <sup>1</sup>	Prof. (cm)	Sistemas <sup>2</sup>						
		SAF <sub>Ro</sub>	PS <sub>Ro</sub>	SAF <sub>An</sub>	PS <sub>An</sub>	SAF <sub>Fe</sub>	PS <sub>Fe</sub>	MN
<b>DMP</b> (mm)	<b>0-20</b>	2,46Abc	2,35Ac	2,67Aa	2,44Abc	2,55Aab	2,53Aabc	2,53Aabc
	<b>20-40</b>	2,20Bde	2,01Be	2,65Aa	2,39Abc	2,31Bcd	2,43Ab	2,62Aa
<b>DMG</b> (mm)	<b>0-20</b>	1,89Ab	1,81Ab	2,24Aa	1,99Ab	1,99Ab	2,01Ab	1,85Ab
	<b>20-40</b>	1,58Bde	1,44Be	2,25Aa	1,85Abc	1,76Bcd	2,01Ab	2,24Ba
<b>IEA</b> (%)	<b>0-20</b>	89,0Aa	91,5Aa	92,1Aa	90,1Aa	90,6Aa	91,7Aa	84,7Ab
	<b>20-40</b>	88,9Ab	87,9Ac	94,8Aa	91,7Aabc	92,0Aabc	94,3Aa	92,5Bab

<sup>1</sup>DMP – Diâmetro médio ponderado; DMG – diâmetro médio geométrico; IEA – Índice de estabilidade de agregados; CL – carbono lábil; carbono não lábil (CNL) (Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na coluna e minúscula na linha diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade). <sup>2</sup>MN – Mata nativa; SAF – Sistema agroflorestal; PS – Sistema a pleno sol; An – Ângelo; Ro – Romualdo; Fe – Fernando; AP - Área de mata próxima às propriedades.

Nos SAF<sub>Ro</sub>, PS<sub>Ro</sub> e SAF<sub>Fe</sub>, os maiores valores de DMP e DMG foram encontrados na camada superficial, enquanto os demais agroecossistemas não

apresentaram diferenças desses índices em profundidade. No caso da MN, o DMG apresentou valores maiores na camada de 20-40 cm, enquanto para o DMP não houve diferença em profundidade. No IEA, verificou-se que, nos agroecossistemas, os valores desse índice foram semelhantes nas duas camadas avaliadas. Esse índice foi maior na camada subsuperficial somente na MN.

Ao se comparar os diferentes sistemas na camada de 0-20 cm para o DMP não houve diferença entre os agroecossistemas e o sistema natural. Na camada subsequente, apenas o SAF<sub>An</sub> apresentou o DMP dos agregados similar ao da MN. Nos agroecossistemas dentro da mesma propriedade, com exceção SAF<sub>An</sub> que apresentou valores de DMP superiores ao PS<sub>An</sub> nas duas camadas e PS<sub>Fe</sub> superior ao SAF<sub>Fe</sub> na camada de 20-40 cm, os agroecossistemas não se diferenciaram entre si (Tabela 3).

No DMG, a maioria dos agroecossistemas foram semelhantes à MN, com exceção do SAF<sub>An</sub>, em que os valores foram superiores à mesma na camada superficial. Já na camada subsequente, os valores de DMG da MN e do SAF<sub>An</sub> foram semelhantes entre si e superiores aos demais agroecossistemas. Dentro da mesma propriedade, os agroecossistemas foram semelhantes, com exceção do SAF<sub>An</sub>, que apresentou valores de DMG superiores ao PS<sub>An</sub> nas duas camadas e PS<sub>Fe</sub> também superior ao SAF<sub>Fe</sub>, na camada de 20-40 cm.

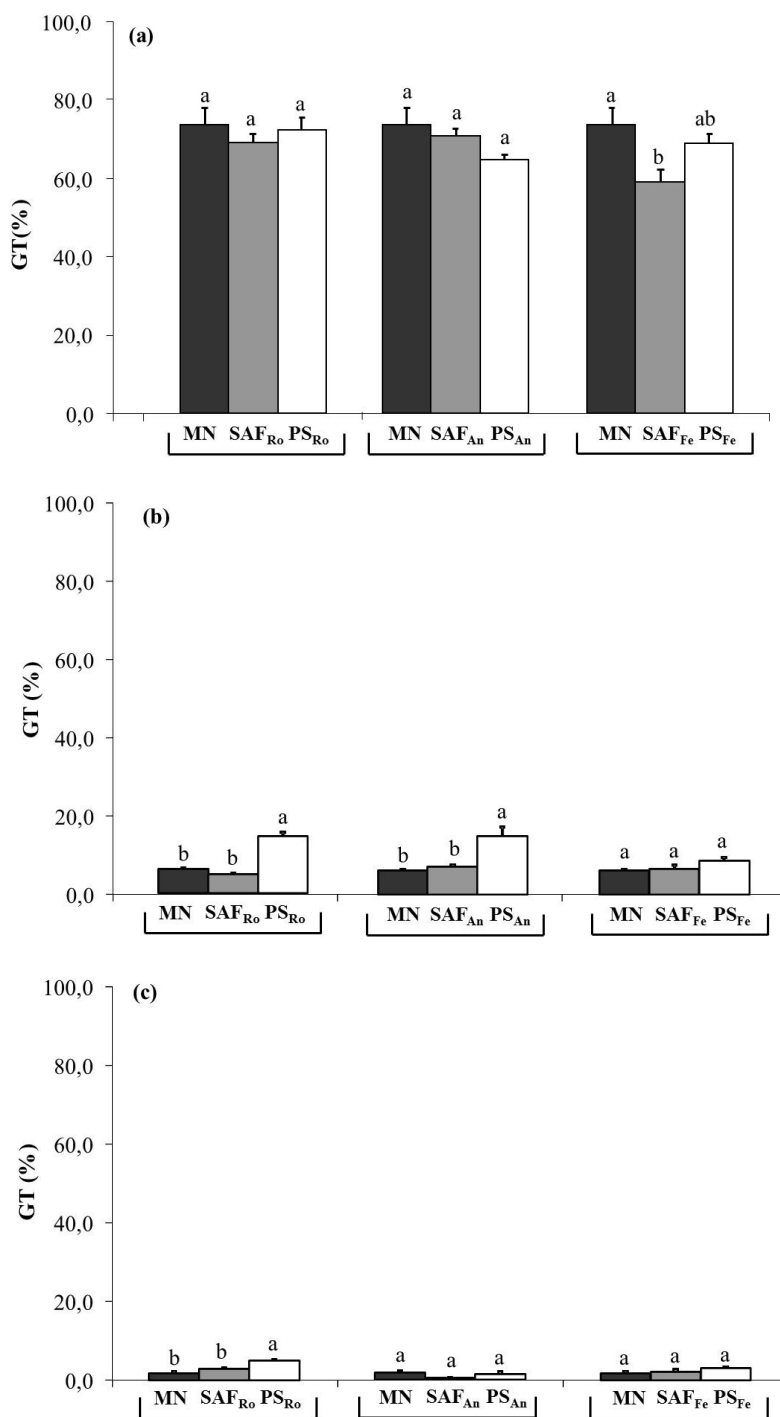
Para o IEA, todos os agroecossistemas avaliados foram superiores a MN na camada de 0-20 cm de profundidade. Enquanto, na camada de 20-40, apenas o PS<sub>Ro</sub> apresentou valores inferiores a MN, sendo os demais agroecossistemas semelhantes a mesma (Tabela 3).

#### **4.3.2 Glomalina nas classes de agregados**

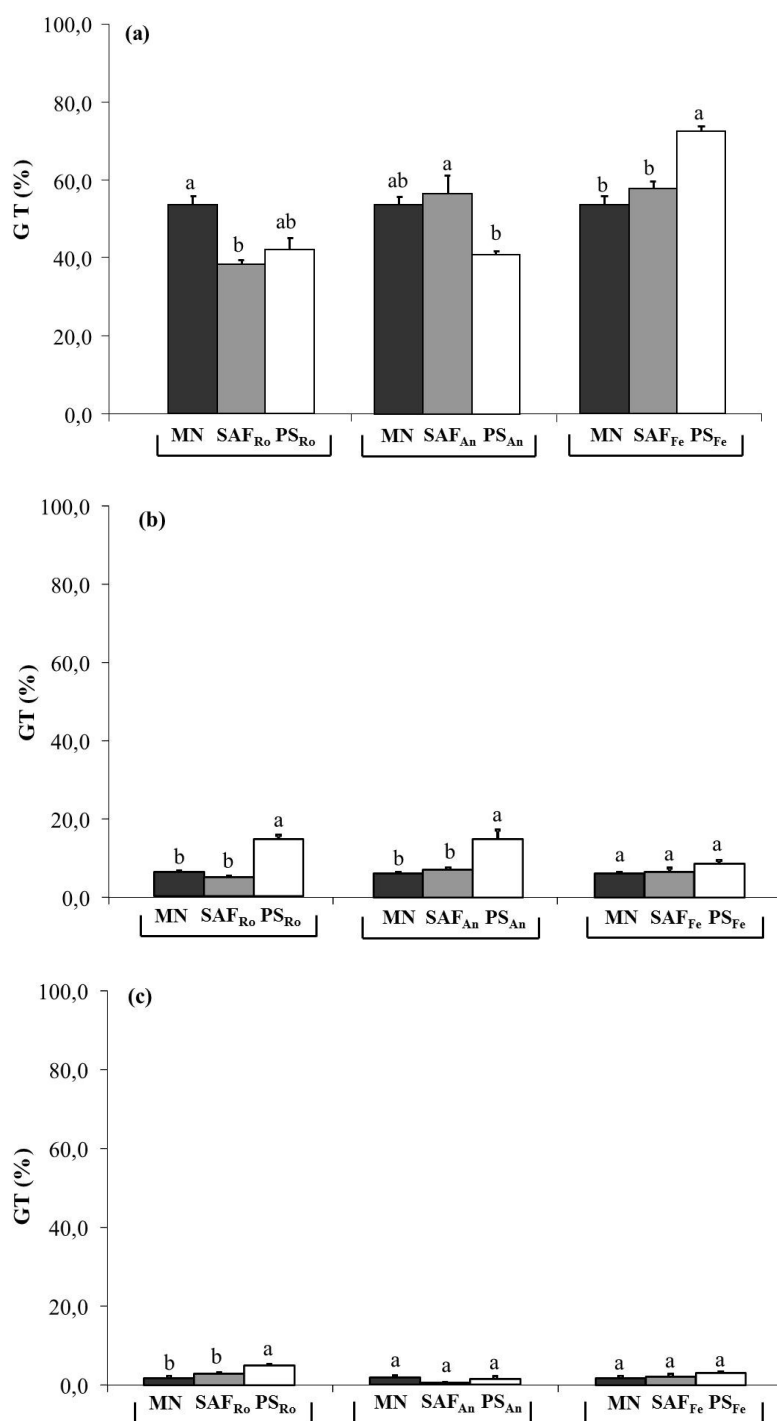
As classes de agregados de 4-2, 2-1 e 1-0,5 mm representaram 79% do estoque total de glomalina do solo na camada de 0-20 cm de profundidade, distribuídos da seguinte forma: 68 (4-2 mm), 9 (2-1 mm) e 2% (1-0,5 mm) (Figura 1a; 1b; 1c). Na camada 20-40 cm, esses valores foram de 52% (4-2 mm), 13 (2-1 mm), 3 (1-0,5 mm), totalizando 68% dessa proteína (Figuras 2a; 2b; 2c).

Na camada superficial, os teores de glomalina, na classe de agregados de 4-2 mm, foram semelhantes entre a MN e os agroecossistemas, com exceção do SAF<sub>Fe</sub> que foi inferior. Não houve diferença entre os agroecossistemas. Na classe de 2-1 mm, o PS<sub>An</sub> e PS<sub>Ro</sub> apresentaram os maiores teores de glomalina, em comparação com MN e o SAFs das mesmas propriedades. No SAF<sub>Fe</sub> e PS<sub>Fe</sub> não houve diferença. Na classe de 1-

0,5 mm, com exceção do PS<sub>Ro</sub>, que foi maior que o SAF<sub>Ro</sub> e MN, os sistemas não diferenciam entre si quanto aos teores de glomalina.



**Figura 1.** Percentagem de glomalina total (GT), na camada de 0-20 cm de profundidade, nas classes agregado de 4-2 (a), 2-1 (b) e 1-0,5 mm (c), em café agroecológico a pleno sol (PS) e sistema agroflorestal (SAF) em três propriedades diferentes identificadas pelas iniciais de seus proprietários (Ângelo - An, Romualdo - Ro, Fernando - Fe) e Mata nativa (MN), Araponga, MG. As médias seguidas pela mesma letra dentro de cada propriedade não difere entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.



**Figura 2.** Percentagem de glomalina total (GT) nas classes de 4-2 (a), 2-1 (b) e 1-0,5 mm (c) na camada de 20-40 cm de profundidade, em café agroecológico a pleno sol (PS) e sistema agroflorestal (SAF) em três propriedades diferentes identificadas pelas iniciais de seus proprietários (Ângelo - An, Romualdo - Ro, Fernando - Fe) e Mata nativa (MN), Araponga, MG. As médias seguidas pela mesma letra dentro de cada propriedade não difere entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

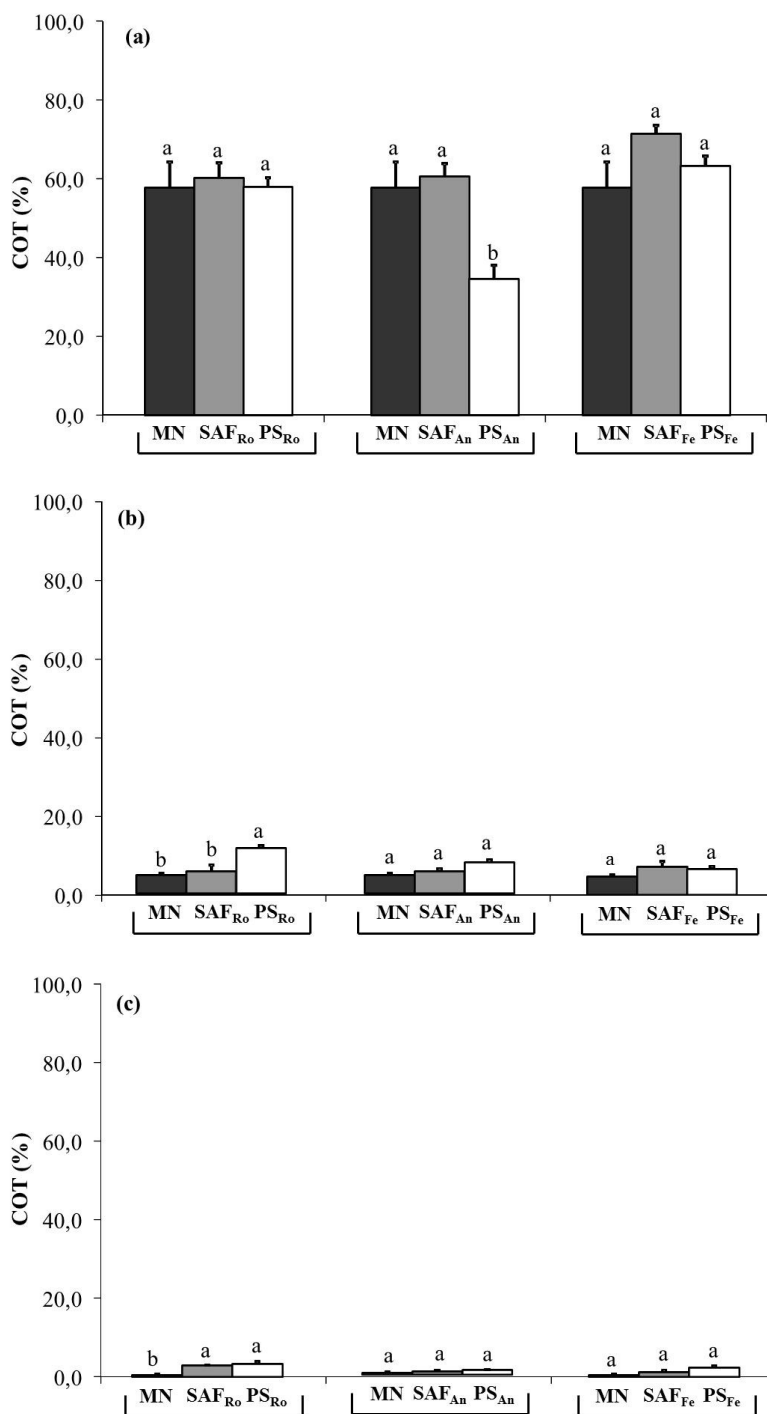
Na camada subsuperficial, verificou que  $SAF_{An}$  foi inferior e o  $PS_{Fe}$  superior, quanto aos teores de glomalina da MN, na classe de agregados de 4-2 mm. Nos agroecossistemas, o  $SAF_{An}$  foi maior que o  $PS_{An}$  e  $PS_{Fe}$  foi maior que  $SAF_{Fe}$ . Na propriedade do Ro, não houve diferença entre os agroecossistemas. Na classe de 2-1 mm, a MN e o  $SAF_{An}$  apresentaram os menores teores de glomalina e não se diferenciaram entre si. Nos agroecossistemas, somente o  $SAF_{An}$  foi menor que  $PS_{An}$ ; nas demais propriedades, não houve diferença. Na última classe de agregados (1-0,5 mm), o  $SAF_{Ro}$ ,  $PS_{Ro}$  e  $PS_{Fe}$  apresentaram teores de glomalina superiores a MN. Entre agroecossistemas notou-se que, com exceção do  $PS_{Fe}$ , que foi superior ao  $SAF_{Fe}$ , nos demais agroecossistemas não se observou diferença significativa.

Em média, o teor de glomalina, na fração do solo menor que 0,5 mm de diâmetro, foi de 21%.

### **4.3.3 Carbono orgânico nas classes de agregados**

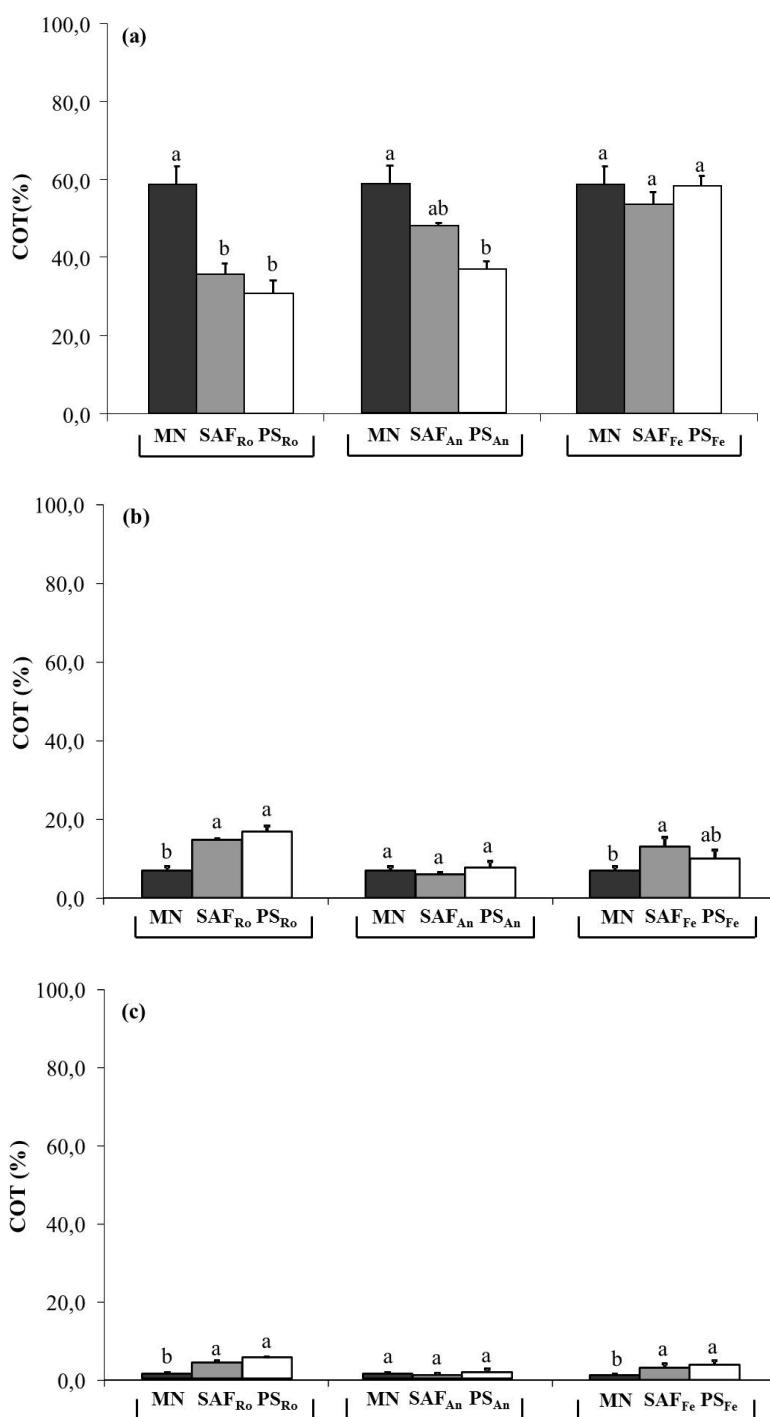
Os percentuais de carbono orgânico nas classes de agregados representaram: 58% (4-2 mm, Figura 3a), 7% (2-1 mm, Figura 3b) e 2% (1-0,5 mm, Figura 3c) do solo na camada de 0-20 cm de profundidade. Na camada subsequente, esses percentuais foram de 46% (4-2 mm, Figura 4a), 11% (2-1 mm, Figura 4b) e 3% (1-0,5 mm, Figura 4c).

Na camada de 0-20 cm e para classe de 4-2 mm de diâmetro, os teores de COT na MN foram maiores apenas no  $PS_{An}$ , sendo que os demais agroecossistemas não foram diferentes da mesma e nem entre si. Na classe de 1-2 mm, com exceção do  $PS_{Ro}$ , que apresentou teores de COT maior do que a MN, os outros agroecossistemas foram semelhantes a mesma. Nessa classe, apenas na propriedade do Ro, os teores de COT foram diferentes entre os agroecossistemas, sendo o  $PS_{Ro}$  maior que o  $SAF_{Ro}$ . Na classe de 1-0,5 mm, com exceção do  $SAF_{Ro}$  e  $PS_{Ro}$ , que foram maiores que a MN, os demais agroecossistemas não diferenciaram da mesma e nem entre si para os teores de COT.



**Figura 3.** Percentagem de carbono orgânico total (COT) nas classes de 4-2 (a), 2-1 (b) e 1-0,5 mm (c) na camada de 0-20 cm de profundidade, em café agroecológico a pleno sol (PS) e sistema agroflorestal (SAF) em três propriedades diferentes identificadas pelas iniciais de seus proprietários (Ângelo - An, Romualdo - Ro, Fernando - Fe) e Mata nativa (MN), Araponga, MG. As médias seguidas pela mesma letra dentro de cada propriedade não difere entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.





**Figura 4.** Percentagem de carbono orgânico total (COT), na camada de 20-40 cm de profundidade, nas classes de agregados de 4-2 (a), 2-1 (b) e 1-0,5 mm (c), em café agroecológico a pleno sol (PS) e sistema agroflorestal (SAF) em três propriedades diferentes identificadas pelas iniciais de seus proprietários (Ângelo - An, Romualdo - Ro, Fernando - Fe) e Mata nativa (MN), Araçuaia, MG. As médias seguidas pela mesma letra dentro de cada propriedade não difere entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Na camada de 20-40 cm, os teores de COT dos agregados da MN com diâmetro de 4-2 mm foram maiores que os teores do SAF<sub>Ro</sub>, PS<sub>Ro</sub>, e PS<sub>An</sub>, não havendo diferença com os demais agroecossistemas. Nessa classe de agregados, os agroecossistemas não diferenciaram entre si para os teores de COT do solo. Para a classe de 1-2 mm, apenas o SAF<sub>Ro</sub>, PS<sub>Ro</sub> e SAF<sub>Fe</sub> apresentaram teores de COT superiores a MN, sendo os outros agroecossistemas semelhantes a MN e entre si. Na classe de 1-0,5 mm, nas propriedades do Ro e Fe, a MN apresentou teores de COT inferiores aos agroecossistemas. Enquanto, na propriedade do An, não houve diferença entre a MN e agroecossistemas, não ocorrendo, dessa forma, diferença entre agroecossistemas.

#### 4.3.4 Carbono orgânico sob diferentes graus de oxidação

Os agroecossistemas apresentaram na camada de 0-20 cm carbono lábil (C<sub>L</sub>) inferior a MN (Tabela 4). Na camada de 20-40, apenas o SAF<sub>An</sub>, PS<sub>An</sub> e SAF<sub>Fe</sub> foram semelhantes a MN, sendo os demais sistemas inferiores. Na mesma propriedade, não houve diferença entre SAFs e PSs. Em profundidade, somente o PS<sub>An</sub> e PS<sub>Fe</sub> não apresentaram diferença no C<sub>L</sub>, os demais agroecossistemas reduziram os valores dessa variável.

No carbono não lábil (C<sub>NL</sub>) observou-se que os agroecossistemas foram inferiores a MN tanto em superfície quanto em subsuperfície (Tabela 4). Nesta variável não houve diferença entre SAFs e PSs. O PS<sub>An</sub>, PS<sub>Fe</sub> e MN reduziram o C<sub>NL</sub> em profundidade, entretanto, os demais agroecossistemas não apresentaram diferença significativa.

**Tabela 4.** Frações do carbono oxidável do solo em sistema agroflorestal (SAF), Pleno sol (PS) e Mata nativa (MN)

Variáveis <sup>1</sup>	Prof. (cm)	Sistemas <sup>2</sup>						
		SAF <sub>Ro</sub>	PS <sub>Ro</sub>	SAF <sub>An</sub>	PS <sub>An</sub>	SAF <sub>Fe</sub>	PS <sub>Fe</sub>	MN
C <sub>L</sub> (g kg <sup>-1</sup> )	0-20	1,54Ab	1,35Abc	1,52Ab	1,58Ab	1,23Abc	1,15Ac	2,47Aa
	20-40	0,91Bb	0,71Bb	1,00Bab	1,33Aa	0,86Bb	1,04Aab	1,30Ba
C <sub>NL</sub> (g kg <sup>-1</sup> )	0-20	2,23Abc	1,96Ab	2,01Abc	2,32Abc	2,46Ab	2,56Ab	5,03Aa
	20-40	1,98Ab	1,65Ab	1,6A8b	1,67Bb	2,06Ab	1,90Bb	3,16Ba

<sup>1</sup>Carbono lábil (C<sub>L</sub>); carbono não lábil (C<sub>NL</sub>) (Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na coluna e minúscula na linha diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade). <sup>2</sup>MN – Mata nativa; SAF – Sistema agroflorestal; PS – Sistema a pleno sol; An – Ângelo; Ro – Romualdo; Fe – Fernando; AP - Área de mata próxima às propriedades.

### 4.3.5 Correlação

Na matriz de correlação linear de Pearson, observou-se que a GT e o COT apresentaram correlação positiva com o DMP, negativa com o IEA e não significativa no caso do DMG (Tabela 5). Ao avaliar a correlação entre GT e COT, notou-se forte correlação positiva entre essas duas variáveis, assim como entre as frações do carbono orgânico lábil e não lábil que apresentaram forte correlação positiva com a GT.

**Tabela 5.** Matriz de correlação das variáveis, diâmetro médio ponderado (DMP), diâmetro médio geométrico (DMG), índice de estabilidade de agregados (IEA), glomalina total (GT), carbono orgânico total (COT), carbono lábil (C<sub>L</sub>) e carbono não lábil (C<sub>NL</sub>)

Variáveis	DMP (mm)	DMG (mm)	IEA (%)	GT (mg g <sup>-1</sup> )	COT (g kg <sup>-1</sup> )	CL (g kg <sup>-1</sup> )
DMP (mm)	1,00					
DMG (mm)	0,89 <sup>***</sup>					
IEA (%)	0,31 <sup>*</sup>	0,64 <sup>***</sup>				
GT (mg g <sup>-1</sup> )	0,56 <sup>***</sup>	0,25 <sup>ns</sup>	-0,35 <sup>*</sup>			
COT (g kg <sup>-1</sup> )	0,59 <sup>***</sup>	0,30 <sup>°</sup>	-0,35 <sup>*</sup>	0,87 <sup>***</sup>		
C <sub>L</sub> (g kg <sup>-1</sup> )	0,45 <sup>**</sup>	0,26 <sup>°</sup>	-0,28 <sup>°</sup>	0,78 <sup>***</sup>	0,81 <sup>***</sup>	
C <sub>NL</sub> (g kg <sup>-1</sup> )	0,32 <sup>*</sup>	0,11 <sup>ns</sup>	-0,41 <sup>**</sup>	0,78 <sup>***</sup>	0,82 <sup>***</sup>	0,77 <sup>***</sup>

Obs: Os coeficientes seguidos por <sup>\*\*\*</sup>, <sup>\*\*</sup>, <sup>\*</sup>, <sup>°</sup> e <sup>ns</sup> são significativos a 0,1; 1;5; 10% de probabilidade e não significativos, respectivamente.

## 4.4 Discussão

### 4.4.1 Estabilidade de agregados do solo

Os agroecossistemas em estudo apresentaram maior percentual de agregados da classe de 4-2 mm de diâmetro, possivelmente por se tratar do café uma cultura perene, pois após sua implantação o manejo agrícola promove pequena interferência no solo. Além disso, nos solos desses agroecossistemas predominam minerais, como a caulinita e os óxidos de Fe (em especial goethita), na fração argila (Corrêa, 1984), que são importantes agentes de cimentação e formação de agregados estáveis do solo (Bissonnais, 1995; Oades & Waters, 1991). Segundo Tisdall & Oades (1982), esses minerais secundários estão envolvidos, principalmente, com a formação de microagregação no solo (<0,25 mm); enquanto que agentes temporários, como raízes e hifas fúngicas, atuam no agrupamento dos microagregados para a formação de agregados de maior diâmetro (macroagregados). Além disso, as áreas de cafezais sob manejo agroecológico, com elevados teores de óxidos (Corrêa, 1984), altos estoques de COT (Xavier, 2009) e diversidade de plantas (Fernandes, 2007; Siqueira, 2008), contribuem para a formação de agregados maiores e mais estáveis, o que reduz a degradação do solo pela erosão, principalmente nessa região onde predomina um relevo fortemente acidentado (Carvalho & Ferreira Neto, 2000; Franco, 2000).

Os índices de agregação DMP, DMG observados no solo com cafezais agroecológicos, no município de Araponga-MG, estão entre os índices encontrados na literatura, que variam de 0,65 a 2,65 mm para o DMP e de 0,86 a 2,35 mm para o DMG (Hickmann et al., 2011; Oliveira et al., 2008; 2010; Passarin et al., 2007; Vasconcelos et al., 2010). O IEA foi superior aos valores normalmente encontrados na literatura, que variaram de 55 a 83% (Oliveira et al., 2010; Vasconcelos et al., 2010). Esses valores maiores pode refletir a elevada estabilidade estrutural do solo. As classes de agregados de maior diâmetro (4-2 e 2-1 mm) foram as que mais influenciaram os índices de estabilidade, tanto na camada superficial, quanto subsuperficial, pois DMP é tanto maior quanto maior for à percentagem de agregados grandes, enquanto o DMG representa uma estimativa das classes de agregados de maior ocorrência (Castro Filho et al., 1998). A qualidade do solo pode ser mensurada de acordo com indicadores associados à sua forma e à sua estabilidade, uma vez que a estrutura e a agregação estão entre os parâmetros mais sensíveis ao manejo (Stone & Schlegel, 2010; Tavares Filho et al., 2010). Desse modo, os agroecossistemas SAF e PS demonstraram através desses

índices que as áreas estão sendo manejadas adequadamente, pois são eficientes na manutenção da estabilidade dos agregados do solo, importante para a promoção das condições necessárias para o desenvolvimento das atividades dos organismos e processos que ocorrem no solo.

Houve baixa variabilidade dos índices de estabilidade entre as épocas chuvosa e seca (Tabela 3), possivelmente devido a fatores como a boa característica física do solo, ausência de revolvimento, alto número de espécies vegetais e elevado aporte de resíduo orgânico nas áreas. Naqueles índices que apresentaram variabilidade temporal, os maiores valores foram encontrados no período seco, provavelmente devido à ausência do efeito desagregador da chuva.

#### **4.4.2 Glomalina nas classes de agregados**

Os maiores percentuais de glomalina do solo foram encontrados nos macroagregados (4-2, 2-1 e 1-0,5 mm), o que está em conformidade com Curaqueo et al. (2011), que observaram resultados similares em um neossolo quando comparou manejo convencional versus cultivo mínimo.

O valor de 21% da glomalina na fração fina do solo (> 0,5 mm) foi semelhante aos observados por Wright et al. (2007), evidenciando que a maior fração da glomalina do solo encontra-se nos agregados de maior diâmetro. O que pode comprovar a influencia dessa proteína na estabilização dos agregados (Hontoria et al., 2009), já que Wright et al. (2007) observaram aumento linear na estabilidade dos agregados com aumento dos teores de glomalina do solo.

#### **4.4.3 Carbono orgânico nas classes de agregados**

Como observado em outros estudos, os estoques de carbono orgânico foram maiores nos agregados de maior diâmetro (Spohn & Giani, 2011; Wendling et al., 2005), dado a sua contribuição na macroagregação do solo (Six et al., 2004; Tisdall & Oades, 1982). Nos agroecossistemas (SAF e PS), como verificado para a glomalina, não houve diferença significativa na classe de 4-2 mm. Esta classe de agregado foi importante reservatório de C, pois, em média, contribuiu com 52% do COT do solo. Em profundidade, houve comportamento similar ao descrito para os agroecossistemas, ou seja, pequena variação nos estoques de COT entre as camadas de 0-20 e 20-40 cm.

Os teores de COT e glomalina nas diferentes classes de agregados apresentam um comportamento semelhante, que pode ser explicado pela importante contribuição dessa proteína no COT ou, apenas a interferência de algumas substâncias orgânicas na determinação da glomalina (Rosier et al., 2006; Whiffen et al., 2007). De qualquer forma, podemos destacar a importância do C orgânico, seja como glomalina ou outras substâncias no processo de estruturação do solo.

Os agroecossistemas da Zona da Mata preservam a estruturação do solo, e com isso favorece a formação de agregados maiores (Tabela 3), com maiores teores de carbono orgânico (Figura 2), incluindo a glomalina (Figura 1). Logo, essas áreas cultivadas com café sob manejo agroecológico apresentaram características que as indicam como unidades conservadoras do carbono orgânico, pois reduz os impactos sobre os organismos do solo, o uso de agrotóxicos e promove a diversidade de espécies vegetais e animais nos agroecossistemas.

#### **4.4.4 Carbono orgânico sob diferentes graus de oxidação**

A redução do  $C_L$  e  $C_{NL}$  nos agroecossistemas, em comparação com MN, de acordo com Leite et al. (2003) pode ser atribuída ao aumento de fatores como: erosão, mineralização da matéria orgânica e menores quantidades de carbono orgânico aportado ao solo. Pois, a síntese e a degradação de cada uma das frações da matéria orgânica do solo são reguladas por processos físicos, químicos e biológicos que podem ser modificados pelo manejo dos agroecossistemas (Blair et al., 1995). Os maiores teores de  $C_{NL}$  na MN pode ser devido maior quantidade de compostos orgânicos estáveis. Segundo Stevenson (1999) neste ambiente, ocorre à formação de moléculas orgânicas de alto peso molecular e elevada recalcitrância.

#### **4.4.5 Correlação**

Na análise de correlação, o DMP foi o índice de agregação que melhor se correlacionou positivamente com o COT e a GT, em comparação com o DMG e IEA. A correlação positiva entre a estabilidade dos agregados em água, o COT e GT, confirma os resultados encontrados por diversos autores (Rillig, 2004; Hontoria et al., 2009; Wright et al., 2007), corroborando a afirmação de que a glomalina, como componente abundante da matéria orgânica do solo, atua na estabilização dos agregados (Wright & Upadhyaya, 1996, 1998; Nichols & Wright, 2005). O efeito da glomalina na

estabilização dos agregados pode estar relacionado com sua natureza hidrofóbica (Wright & Upadhyaya, 1998), embora Rillig et al., (2010) não demonstrarem relação direta entre a glomalina e a repelência do solo à água.

No caso do carbono lábil ( $C_L$ ) e não lábil ( $C_{NL}$ ), a correlação positiva sugere a existência duas frações da glomalina, uma de maior labilidade e outra de difícil degradação, como indicado por Steinberg & Rillig (2003). Esse resultado parece coerente, uma vez que o método de extração e determinação (ensaio de Bradford) pode resultar em um grupo de moléculas orgânicas de diferentes origens (Rillig, 2004; Rosier et al., 2006).

A IEA apresentou correlação negativa tanto com a glomalina quanto com o COT,  $C_L$  e  $C_{NL}$ . Entretanto, IEA parece ser um indicador menos sensível que os demais, para expressar modificações provocadas na estabilidade dos agregados, talvez por ser calculado com base apenas na classe de agregados menores que 0,105 mm (Wendling et al., 2005). Nessa classe de agregados os óxidos e a caulinita são os fatores mais importantes na estabilização dos agregados (Tisdall & Oades, 1982).

#### **4.5 Conclusão**

Os sistemas agroecológicos com cafezais na Zona da Mata de Minas Gerais, avaliados pelos índices de estabilidade DMP, DMG e IEA, evitam a degradação da estrutura do solo. Além das características do solo (exemplo: teor de óxidos e COT) que favorecem a agregação, o tipo de manejo utilizado nestes sistemas (a pleno sol ou agroflorestal), sem revolvimento do solo, com manutenção da diversidade e do aporte de matéria orgânica do solo, foi fundamental para evitar a degradação da estrutura do solo dos agroecossistemas, e, ainda, para promover a manutenção dos estoques de CO.

A glomalina parece fazer parte do  $C_L$  e  $C_{NL}$  do solo. O que pode indicar que essa proteína tem contribuição tanto no CO facilmente degradável, quando na fração do carbono recalcitrante do solo. A glomalina é importante na dinâmica do C orgânico e está envolvida na agregação e estabilização dos agregados do solo, principalmente na macroagregação, uma vez que a mesma apresenta correlação com o COT, o  $C_L$  e o  $C_{NL}$  e seu conteúdo aumenta com o diâmetro dos agregados.

## 4.6 Referências

- ASHAGRIE, Y.; ZECH, W.; GUGGENBERGER, G.; MAMO, T. Soil aggregation, and total and particulate organic matter following conversion of native forests to continuous cultivation in Ethiopia. *Soil and Tillage Research*, 94: 101-108, 2007.
- BISSONNAIS, Y.L. Soil characteristics and aggregate stability. In: AGASSI, M. (eds.) *Soil erosion, conservation and rehabilitation*. New York. 1995, 41– 60p.
- BIRD, S.B.; HERRICK, J.E.; WANDER, M.M.; WRIGHT, S.F. Spatial heterogeneity of aggregate stability and soil carbon in semi-arid rangeland. *Environmental Pollution*, 116: 445–455, 2002.
- BLAIR, G.J.; LEFROY, R.D.B.; LISLE, L. Soil carbon fractions based on their degree of oxidation, and the development of a carbon management index for agricultural system. *Australian Journal of Agriculture Research*, 46: 1459-1466, 1995.
- BODDINGTON, C.L.; DODD, J.C. The effect of agricultural practices on the development of indigenous arbuscular mycorrhizal fungi .I. Field studies in an Indonesian ultisol. *Plant Soil*, 218: 137–144, 2000.
- CARDOSO, I.M.; GUIJT, I.; FRANCO, F.S.; CARVALHO, A.F.; FERREIRA NETO, O.S. Continual learning for PSforestry system design: university, NGO and farmer partnership in Minas Gerais, Brazil. *Agricultural Systems*, 69: 235–257, 2001.
- CARVALHO, A.F. Água e radiação em sistemas agroflorestais com café no Território da Serra do Brigadeiro – MG. Universidade Federal de Viçosa, 2011. Tese (Doutorado em Solos e Nutrição de Plantas) Viçosa: UFV, 2011.
- CARVALHO, A.F.; FERREIRA NETO, P.S. Evolving leaning in designing agroecological farming systems with smal-scaler farmers in Zona da Mata, Brazil. In: GUIJT, I.; BERDEGUÉ, J.A.; LOEVINSOHN, M.; HALL, F. (eds.). *Deepening the basis of rural resource management.*, The Hague: ISNAR, 2000, 73-88p.
- CASTRO FILHO, C.; MUZILLI, O.; PODANOSCHI, A.L. Estabilidade dos agregados e sua relação com o teor de carbono orgânico num Latossolo Roxo distrófico, em função de sistemas de plantio, rotações de culturas e métodos de preparo das amostras. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 22: 527-538, 1998.
- CHAN, K.Y.; BOWMAN, A.; OATES, A. Oxidizable organic carbon fractions and soil quality changes in an oxicpaleustalf under different pasture leys. *Soil Science*, 166: 61-67, 2001.
- CORRÊA, G.F. Modelo de evolução e mineralogia da fração argila de solos do planalto de Viçosa, MG. Universidade Federal de Viçosa, 1984. Dissertação (Mestrado em solos) Viçosa: UFV, 1984, 85p.
- CURAQUEO, G.; ACEVEDO, E.; CORNEJO, P.; SEGUEL, A. RUBIO, R.; BORIE, F. Tillage effect on soil organic matter, mycorrhizal hyphae and aggregates in a Mediterranean PSecosystem. *Revista de la Ciencia del Suelo y Nutrición Vegetal*, 10:12– 21, 2011.
- DRIVER, J.D.; HOLBEN, W.E.; RILLIG, M.C. Characterization of glomalin as a hyphal wall component of arbuscular mycorrhizal fungi. *Soil Biology & Biochemistry*, 37:101–106, 2005.
- EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA. Manual de Métodos de Análise de Solo. Centro Nacional de Pesquisa de Solos – 2 ed. 1997, 212p.



- ENGEVIX, Caracterização do meio físico da área autorizada para criação do Parque Estadual da Serra do Brigadeiro. Instituto Estadual de Floresta, Bird/Pró-Floresta/SEPLA, 1995, 34p.
- FERNANDES, J.M. Taxonomia e etnobotânica de Leguminosae Adans. em fragmentos florestais e sistemas agroflorestais na Zona da Mata Mineira. Universidade Federal de Viçosa, 2007. Dissertação (Mestrado em Botânica) Viçosa: UFV, 2007, 223p.
- FRANCO, F.S. Sistemas Agroflorestais: uma contribuição para a conservação dos recursos naturais da Zona da Mata de Minas Gerais. Universidade Federal de Viçosa, 2000. Tese (Doutorado em Ciência Florestal) Viçosa: UFV, 2000, 147p.
- GOLFARI, L. Zoneamento Ecológico do Estado de Minas Gerais para reflorestamento. Série Técnica, 3. CPFRC, Belo Horizonte, BR. 1975.
- HONTORIA, C.; VELASQUEZ, R.; BENITO, M.; ALMOROX, J.; MOLINER, A. Pollution, 116: 445–455, 2009.
- HAYNES, R.J.; SWIFT, R.S.; STEPHEN, R.C. Influenced of mixed cropping rotations (pasture-arable) on organic matter content, water stable aggregation and clod porosity in a group of soils. Soil and Tillage Research, 12: 77-87, 1991.
- HICKMANN, C.; COSTA, L.M. SCHAEFER, C.E.G.R.; FERNANDES, R.B.A. superficiais de um Argissolo Vermelho-Amarelo sob diferentes manejos de longa duração e Mata Atlântica secundária. Revista Brasileira de Ciência do Solo, 35: 2191-2198, 2011
- JARECKI, M.K.; LAL, R. Soil organic carbon sequestration rates in two long-term no-till experiments in Ohio. Soil Science, 170: 280–291, 2005.
- JASTROW, J.D. Soil aggregate formation and the accrual of particulate and mineral associated organic matter. Soil Biology & Biochemistry, 28: 665-676, 1996.
- JOHN, B.; YAMASHITA, T.; LUDWIG, B.; FLESSA, H. Storage of organic carbon in aggregate and density fractions of silty soil under different types of land use. Geoderma, 128: 63-79, 2005.
- KEMPER, W.D.; CHEPIL, W.S. Size distribution of aggregates. In: BLACK, C.A. (ed.) Methods of soil analysis. American Society of Agronomy, 1965, 449-510p.
- KER, J.C. Mineralogia, sorção e desorção de fosfato, magnetização e elementos traços de Latossolos do Brasil. Universidade Federal de Viçosa, 1995. Tese (Doutorado em Solos e Nutrição de Plantas) Viçosa: UFV, 1995, 181p.
- LEITE, L.F.C.; MENDONÇA, E.S.; NEVES, J.C.L.; MACHADO P.L.O.A.; J.C.C. GALVÃO. Estoques totais de carbono orgânico e seus compartimentos em Argissolo sob floresta e sob milho cultivado com adubação mineral e orgânica. Revista Brasileira de Ciência do Solo, 27: 821-832, 2003.
- MENDONÇA, E.S.; MATOS, E.S. Matéria orgânica do solo; métodos de análises. Viçosa, MG, Universidade Federal de Viçosa, 2005, 107p.
- MERTENS, L. The role of mycorrhizal trees in an agroforestry coffee farm in the Zonada Mata of Minas Gerais, Brazil. University, Wageningen, 2010. Thesis (Soil Quality) Wageningen: Wur: 2010, 81p.
- MILLER, R.M.; JASTROW, J.D. Mycorrhizal fungi influence soil structure. In: Kapulnik, Y.; Douds. D.D. (eds). Arbuscular mycorrhizas: physiology and function, 2000, 3-18p.
- MYERS, N.; MITTERMEIER, F.G.A.B.; KENT, J.B. Biodiversity hotspots for conservation priorities. Nature, London, 403: 853-858, 2000.

- NICHOLS, K.A.; WRIGHT, S.F. Comparison of glomalin and humic acid in eight native US soils. *Soil Science*, 170: 985–997, 2005.
- OADES, J.M.; WATERS, S.G. Aggregate hierarchy in soils. *Australian Journal Soil Research*, 29: 815-828, 1991.
- 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 & Biochemistry*, 42: 724-738, 2010.
- OEHL, F.; SIEVERDING, E. Pacispora, a new vesicular arbuscular mycorrhizal fungal genus in the Glomeromycetes. *Journal of Applied Botany and Food Quality*, 78: 72-82, 2004.
- OLIVEIRA, J.T.; MOREAU, A.M.S.S.; PAIVA, A.Q.; MENEZES, A.A.; COSTA, O.V. Solos sob diferentes tipos de uso da terra. *Revista Brasileira Ciência Solo*, 32: 2821-2829, 2008.
- OLIVEIRA, V.S. ROLIM, M.M. VASCONCELOS, R.F.B.; PEDROSA, E.M.R. Distribuição de agregados e carbono orgânico em um Argissolo Amarelo distrocoeso em diferentes manejos. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, 14: 907–913, 2010.
- PASSARIN, A.L.; RODRIGUEIRO, E.L.; ROBAINA, C.R.P.; MEDINA, C.C. Caracterização de agregados em um Latossolo Vermelho distroférrico típico submetido a diferentes doses de vinhaça. *Revista Brasileira de Ciência Solo*, 31: 1255-1260, 2007.
- PREGER, A.C.; RILLIG, M.C.; JOHNS, A.R.; DU PREEZ, C.C.; LOBE, I.; AMELUNG, W. Losses of glomalin-related soil protein under prolonged arable cropping: A chronosequence study in sandy soils of the South African Highveld. *Soil Biology & Biochemistry*, 39: 445–453, 2007.
- RILLIG, M.C.; MARDATIN, N.F.; LEIFHEIT, E.F.; ANTUNES, P.M. Mycelium of arbuscular mycorrhizal fungi increases soil water repellency and is sufficient to maintain water-stable soil aggregates. *Soil Biology & Biochemistry*, 42: 1189-1191, 2010.
- RILLIG, M.C.; MUMMEY, D.L. Mycorrhizas and soil structure. *New Phytologist*, 171: 41-53, 2006.
- RILLIG, M.C. Arbuscular mycorrhizae, glomalin, and soil aggregation. *Canadian Journal Soil Science*, 84: 355–363, 2004.
- RILLIG, M.C.; RAMSEY, P.W.; MORRIS, S.; PAUL, E.A. Glomalin, an arbuscular-mycorrhizal fungal soil protein, responds to land-use change. *Plant Soil*, 253: 293–299, 2003.
- RILLIG, M.C.; WRIGHT, S.F.; NICHOLS, K.A., SCHMIDT, W.F., TORN, M.S. Large contribution of arbuscular mycorrhizal fungi to soil carbon pools in tropical forest soils. *Plant Soil*, 233: 167–177, 2001.
- ROLIM, F.A.; RIBEIRO, G.A. Levantamento do potencial turístico do Parque Estadual da Serra do Brigadeiro - PESB com o suporte em geoprocessamento. In: X SBSR. Foz do Iguaçu, Anais..., Paraná, PR, 2001, 967-969p.
- ROSIER, C.L.; HOYE, A.T.; RILLIG, M.C. Glomalin-related soil protein: Assessment of current detection and quantification tools. *Soil Biology & Biochemistry*, 38: 2205–2211, 2006.

- SAS INSTITUTE. SAS/STAT: users guide, release 9.1. SAS Institute Inc., Cary,. 2002-2003.
- STEVENSON, F.J.; COLE, M.A. Cycles of soil: carbon, nitrogen, phosphorous, sulfur, micronutrients. New York, 1999, 427p.
- SIX, J.; BOSSUYT, H.; DEGRYZE, S.; DENEFF, K.A history of research on the link between (micro) aggregates, soil biota, and soil organic matter dynamics. *Soil and Tillage Research*, 79: 7-31, 2004.
- SIQUEIRA, L.C. Levantamento florístico e etnobotânico do estrato arbóreo em sistemas naturais e agroflorestais, Araponga, Minas Gerais. Universidade Federal de Viçosa, 2008. Dissertação (Mestrado em Botânica) Viçosa: UFV, 2008, 118p.
- SOUZA, H.N.; CARDOSO, I.M.; FERNANDES, J.M.; GARCIA, F.C.P.; BONFIM, V.R.; SANTOS, A.C.; CARVALHO, A.F.; MENDONÇA, E.S. Selection of native trees for intercropping with coffee in the Atlantic Rainforest biome. *Agroforestry Systems*, 80: 1-16, 2010.
- SPOHN, M.; GIANI, L. Impacts of land use change on soil aggregation and aggregate stabilizing compounds as dependent on time. *Soil Biology & Biochemistry*, 43: 1081-1088, 2011.
- STEINBERG, P.D.; RILLIG, M.C. Differential decomposition of arbuscular mycorrhizal fungal hyphae and glomalin. *Soil Biology & Biochemistry*, 35: 191–194, 2003.
- STONE, L.R.; SCHLEGEL, A.J. Tillage and crop rotation phase effects on soil physical properties in the West Central Great Plains. *Agronomy Journal*, 102: 483-491, 2010.
- TAVARES FILHO, J.; BARBOSA, G.M. de C.; RIBON, A.A. Atributos físicos de Latossolo distrófico psamítico sob diferentes usos agrícolas. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 34: 925-933, 2010.
- TISDALL, J.M.; OADES, J.M. Organic matter and water stable aggregates in soil. *Journal of Soil Science*, 33: 141–163, 1982.
- TRESEDER, K.K.; TURNER, K.M. Glomalin in Ecosystems. *Science Society American Journal*, 71: 1257–1266, 2007.
- VAN DER HEIJDEN, M.G.; KLIRONOMOS, J.N.; URSIC, M.; MOUTOGLIS, P.; STREITWOLF-ENGEL, R.; BOLLER, T.; WIEMKEN, A.; SANDERS, J.R. Mycorrhizal fungal diversity determines plant biodiversity, ecosystem variability and productivity. *Nature*, 396: 69-72, 1998.
- VASCONCELOS, R.F.B.; CANTALICE, J.R.B.; OLIVEIRA, V.S.; COSTA, Y.D.J.; CAVALCANTE, D.M. Estabilidade de agregados de um Latossolo Amarelo distrocioso de tabuleiro costeiro sob diferentes aportes de resíduos orgânicos da cana-de-açúcar. *Revista Brasileira de Ciência Solo*, 34: 309-316, 2010.
- VIOLI, H.A.; BARRIENTOS-PRIEGO, A.F.; WRIGHT, S.F.C.; ESCAMILLA-PRADO, E.; MORTON, J.B.; MENGE, J.A.; LOVATT, C.J. Disturbance changes arbuscular mycorrhizal fungal phenology and soil glomalin concentrations but not fungal spore composition in montane rainforests in Veracruz and Chiapas, Mexico. *Forest Ecology and Management*, 254: 276–290, 2008.
- XAVIER, F.A.S. Soil organic matter stock and quality in agroforestry and full sun coffee systems. Universidade Federal de Viçosa, 2009. Tese (Doutorado em Solos e Nutrição de Plantas) Viçosa: UFV, 2009, 168p.

- WENDLING, B.; JUCKSCH, I.; MENDONÇA, E.S.; NEVES, J.C.L. Carbono orgânico e estabilidade de agregados de uma Latossolo Vermelho sob diferentes manejos. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 40: 487-495, 2005.
- WHIFFEN, L.K.; MIDGLEY, D.J.; MCGEE, A.P. Polyphenolic compounds interfere with quantification of protein in soil extracts using the Bradford method. *Soil Biology & Biochemistry*, 39: 691–694, 2007.
- WRIGHT, S.F.; GREEN, V.S.; CAVIGELLI, M.A. Glomalin in aggregate size classes from three different farming systems. *Soil & Tillage Research*, 94: 546–549, 2007.
- WRIGHT, S.F.; STARR, J.L.; PALTINEANU, I.C. Changes in aggregate stability and concentration of glomalin during tillage management transition. *Soil Science Society American Journal*, 63: 1825-1829, 1999.
- WRIGHT, S.F.; UPADHYAY, A.A. A survey of soils for aggregate stability and glomalin, a glycoprotein produced by hyphae of arbuscular mycorrhizal fungi. *Plant Soil*, 198: 97–107, 1998.
- WRIGHT, S.F.; UPADHYAYA, A. Extraction of an abundant and unusual protein from soil and comparison with hyphal protein of arbuscular mycorrhizal fungi. *Soil Sci.* 161:575–586, 1996.
- YEOMANS, J.C.; BREMNER, J.M.A. Rapid and precise method for routine determination of organic carbon in soil. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 19: 1467-1476, 1988.
- ZHU, Y.G.; MILLER, R.M. Carbon cycling by arbuscular mycorrhizal fungi in soil-plant systems. *Trends Plant Science*, 8: 407-409, 2003.

## CAPÍTULO 5

### **Atributos físicos, químicos e biológicos do solo e micorrizas em cafezais agroecológicos**

**Resumo** - Os atributos do solo são importantes na abundância e diversidade dos fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) e, portanto, podem exercer efeito sob os estoques de glomalina no solo. O objetivo desse trabalho foi avaliar os atributos físicos, químicos e biológicos do solo e sua correlação com as frações da glomalina em agroecossistemas agroecológicos. Para tanto, foram selecionadas três propriedades de agricultores familiares (Ângelo – An, Romualdo – Ro e Fernando – Fe), que cultivam Café (*Coffea arabica* L.) na região da Zona da Mata – MG, em sistema agroecológico e manejo a PS e SAF; e uma mata nativa (MN) representativa da região. Nesses sistemas foram retiradas quatro amostras compostas, nas profundidades de 0-20 e 20-40 cm. Foram avaliados a densidade do solo (Ds), a argila, a argila dispersa em água (ADA), o P disponível, o pH, a soma de bases (SB), a CTC<sub>efetiva</sub> (t), a CTC<sub>total</sub> (T), o Al<sup>3+</sup>, a acidez trocável (H+Al), o número de esporos dos FMAs, o peso de raízes, a colonização micorrízica das raízes extraídas do cafeeiro e das espécies espontâneas. Os resultados indicam que a inclusão de árvores ao processo produtivo promove a manutenção dos atributos físicos, químicos e biológicos do solo. Alguns desses atributos podem interferir nos estoques de glomalina no solo. Em solos intemperizados de clima tropical, a manutenção dos elevados estoques de glomalina no solo podem ser atribuídos a processos diretos (estabilização por complexos organominerais) ou indiretos (fatores que afetam os FMAs e seus hospedeiros). As práticas agroecológicas contribuem para a conservação dos estoques de glomalina no solo.

**Palavras-chave:** Glomalina, sistemas agroflorestais, fertilidade do solo

## 5.1 Introdução

Os fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) são associações simbióticas e mutualísticas entre fungos do solo e a maioria das espécies vegetais, incluindo quase todas as espécies de interesse agrônomo (Smith & Read, 2008). Nos ecossistemas tropicais, com o predomínio de solos intensamente intemperizados, essa associação pode ser uma adaptação a esse ambiente oligotrófico, pois os benefícios promovidos por esses microssimbiontes são bem documentados na literatura, sendo eles: o aumento na produção primária (Rillig, 2004); na absorção de nutrientes de baixa mobilidade no solo, como fósforo (P), zinco (Zn) e cobre (Cu) (Cardoso & Kuyper, 2006; Munyanziza et al., 1997); na proteção contra patógenos (Pozo & Azcón-Aguilar, 2007; Elsen et al., 2008) e na tolerância à salinidade e elementos fitotóxicos, como o Al (Al-Karaki, 2000; Rufyikiri et al., 2000). Os FMAs no solo também aportam grande quantidade de C orgânico (Rillig et al., 2001; Zhu & Miller, 2003) e atuam na estruturação do solo (Rillig & Mummey, 2006; Tisdall & Oades, 1982).

Recentemente, a descoberta da glomalina, uma glicoproteína depositada nas paredes das hifas e esporos dos FMAs (Driver et al., 2005; Wright & Upadhyaya, 1996), estimulou o estudo dos fatores que contribuem para sua produção e decomposição no solo (Treseder & Cross, 2006). De modo geral, os resultados parecem indicar que as regiões tropicais reúnem condições favoráveis ao acúmulo dessa proteína (Treseder & Turner, 2007). Diversos trabalhos apontaram que nessa região ocorre elevado estoque de glomalina. Em solos sob floresta tropical na Costa Rica, foram encontrados teores de glomalina em torno de 12,5 mg por cm<sup>-3</sup> de solo. Já no Hawaí, foram encontrados teores em torno de 60 mg por cm<sup>-3</sup> de solo (Lovelock et al., 2004; Rillig et al., 2001). Sabe-se que a glomalina contribui com teores significativos de C e N orgânico, que podem chegar a 5% do C e 4% do N orgânico total do solo (Lovelock et al., 2004; Rillig et al., 2001; Treseder & Turner, 2007); possui uma elevada recalcitrância no solo (período de residência de 6 a 42 anos), sendo sua dinâmica determinada por fluxos de produção e de decomposição independentes (Rillig et al., 2001; Rillig, 2004).

Alguns atributos do solo podem ser determinantes na dinâmica da glomalina, principalmente aqueles que interferem na abundância e composição dos FMAs e seus hospedeiros (Treseder & Cross, 2006; Oehl et al., 2009). Dentre eles destacam-se alguns atributos físicos, químicos e biológicos do solo (Nichols & Wright, 2005), a

saber: pH do solo; P disponível; soma de bases (SB); colonização micorrízica; número de esporos micorrízicos; quantidade de raízes no solo; capacidade de troca catiônica (CTC); acidez do solo; argila; densidade e o  $Al^{3+}$  (Bai et al., 2009; Halvorson & Gonzalez, 2006; Kohler et al., 2010; Lutgen et al., 2003; Nichols & Wright, 2005; Purin et al., 2006; Treseser & Turner, 2007). Esses atributos podem atuar de forma direta (proteção física e química da proteína) ou indireta (abundância dos FMAs e diversidade das espécies vegetais), funcionando como reguladores dos estoques da glomalina no solo. Os atributos biológicos normalmente apresentam correlação com a glomalina, especialmente aqueles ligados à atividade dos FMAs e a plantas hospedeiras. Entretanto, a correlação desses atributos com a glomalina depende do tempo de residência deles no solo, pois essa proteína reside por anos ou décadas (Rillig et al., 2001). A quantidade de micélio externo dos FMAs e a colonização radicular das plantas, pelo seu caráter transitório (semanas) (Friese & Allen, 1991), apresentam uma baixa correlação com a glomalina (Purin et al., 2006). Todavia, a densidade de esporos dos FMAs e a quantidade de raízes das espécies vegetais, por apresentarem maior período de residência no solo, apresentam forte correlação com os estoques dessa proteína (Kohler et al., 2010; Bai et al., 2009).

Entender a relação entre os atributos do solo e a glomalina pode ser a chave para elucidar a dinâmica dessa glicoproteína no solo, por isso o objetivo desse trabalho foi o de avaliar os atributos físicos, químicos e biológicos e sua correlação com as frações da glomalina presentes nesse ambiente.

## **5.2 Material e Métodos**

### **5.2.1 Descrição da área de estudo**

O estudo foi conduzido em Araponga, município da Zona da Mata, sudeste de Minas Gerais. A região sofreu processo severo de desmatamento para a implantação, em um primeiro momento, da cultura do café, quase sempre intercalada com culturas anuais; e depois, pastagens, que sofrem queimadas constantemente. A temperatura média da região é de 18 °C, a precipitação anual varia de 1200 a 1800 mm, com período seco de 2 a 4 meses (Engevix, 1995; Rolim & Ribeiro, 2001). O relevo é montanhoso, com declividade que pode variar de 20 a 45% nas encostas (Golfari, 1975), e com predomínio da classe dos Latossolos (Ker, 1995).

Para o presente estudo, foram selecionadas três propriedades de agricultores familiares, que cultivam café (*Coffea arabica* L.), na região, em sistema agroecológico, doravante identificados pelas iniciais dos proprietários An, Ro e Fe. Em cada propriedade, foi amostrado um sistema agroecológico, com café a pleno sol (PS), e um sistema agroflorestal (SAF). Os sistemas foram identificados da seguinte forma: SAF<sub>An</sub> e PS<sub>An</sub>; SAF<sub>Ro</sub> e PS<sub>Ro</sub>; SAF<sub>Fe</sub> e PS<sub>Fe</sub>. Como referência, amostrou-se uma mata nativa (MN) representativa da região, que se localizava próxima às áreas de estudo.

Como os sistemas agroflorestais foram implantados em processo participativo, os agricultores tiveram total liberdade de escolha dos desenhos e manejos, portanto, trata-se de uma grande diversidade de sistemas (Souza et al., 2010). A escolha de sistemas similares foi um dos desafios do estudo aqui apresentado, exceto na propriedade Ro. Essa similaridade ainda foi dificultada devido à heterogeneidade natural dos ambientes da Zona da Mata Mineira (Freitas et al., 2004). Em geral, os sistemas agroflorestais foram implantados em solos da propriedade em que os agricultores consideravam em estágio mais avançado de degradação (Souza et al., 2010). Já os sistemas agroecológicos a pleno sol foram instalados em solos com melhor qualidade, exceto SAF<sub>Ro</sub> e PS<sub>Ro</sub>, implantados em áreas com o mesmo histórico de degradação.

Os SAF<sub>Ro</sub> e PS<sub>Ro</sub> possuem o mesmo histórico de uso e manejo, exceto a presença de árvores nos SAF; localizam-se na mesma posição da paisagem e possuem a mesma idade de implantação. O SAF<sub>An</sub>, embora com o mesmo histórico de manejo do PS<sub>An</sub> (exceto a presença de árvores), foi instalado em área muito declivosa (superfície de perda), acima do sistema a PS (superfície de acúmulo), que recebe resíduos originários dos SAFs e que no passado recebia muitos sedimentos dessa área, fruto dos processos erosivos. Na propriedade Fe, o SAF também foi instalado em área um pouco mais degradada do que o PS, mas em posições similares na paisagem. Enquanto o SAF<sub>An</sub> e SAF<sub>Ro</sub> possuíam, por época da amostragem dos solos, em torno de 18 anos, o SAF<sub>Fe</sub> possuía apenas 5 anos. Os SAF<sub>Ro</sub> e SAF<sub>An</sub> possuem em torno de 250 árvores ha<sup>-1</sup> (Carvalho, 2011) e SAF<sub>Fe</sub> em torno de 50 árvores ha<sup>-1</sup> (Mertens, 2010). Os SAFs possuem em torno de 15 espécies de árvores (Fernandes, 2007; Siqueira, 2008), no entanto as espécies diferem entre as propriedades. No SAF<sub>An</sub>, a espécie predominante é o abacate (*Persea americana* Mill.); no SAF<sub>Ro</sub> é o ingá (*Inga sessilis* Vell. e *Inga subnuda* Benth.) e no SAF<sub>Fe</sub>, o fedegoso (*Senna macranthera* H.S. Irwin & Barneby). Outras informações a respeito do histórico desses sistemas encontram-se na Tabela 1. A



mata nativa está em recuperação há 30 anos, em área que anteriormente sofreu degradação intensa.

**Tabela 1.** Histórico das propriedades cafeicultoras do município de Araponga – MG

Sistemas <sup>1</sup>	Uso Anterior	Idade (anos)	Área (ha)	Nº Plantas	Manejo Atual
SAF <sub>Ro</sub>	Mata, pastagem, milho, feijão, arroz de sequeiro e capim Napier	15	0,15	500	Calagem, supermagro, calda Viçosa, esterco bovino e NPK
PS <sub>Ro</sub>			0,75	2.500	
SAF <sub>An</sub>	Mata, pastagem e café convencional	14	0,36	1.200	Calagem, cama de frango, urina e esterco
PS <sub>An</sub>			0,60	2.000	bovinos, NPK (apenas no PS),
SAF <sub>Fe</sub>	Mata, café convencional	5	2,50		Calagem, Supersimples,
PS <sub>Fe</sub>		18	6,50		calda viçosa, NPK,
MN	Mata primária	30	5	-	Mata secundária em recuperação

<sup>1</sup>Sistemas de café a pleno sol PS e agroflorestal (SAF) em diferentes propriedades identificadas pela sigla de seus proprietários (An, Ro e Fe). MN, Área de mata próxima às propriedades amostrada como referência.

As amostras de solo foram retiradas no período chuvoso (Março) e seco (Setembro) de 2009. Nas sete áreas selecionadas, foram coletadas quatro amostras compostas de solo, nas profundidades de 0-20 e 20-40 cm, sendo as amostras retiradas na entre linha de plantio e próximo ao terço basal do dossel do cafeeiro. Nos SAFs, foram selecionadas plantas de café que estavam sob influência da copa das árvores. As amostras de solo retiradas do campo foram secas ao ar, destorroadas, passadas em

peneira de 2 mm (TFSA) e analisadas. Os teores de GT e GFE nos diferentes sistemas estão apresentados na Tabela 2.

**Tabela 2.** Teores de glomalina total (GT) e facilmente extraível (GFE) nos diferentes sistemas

Sistemas <sup>1</sup>	Frações da glomalina			
	GT		GFE	
	0-20 cm	20-40 cm	0-20 cm	20-40 cm
	mg g <sup>-1</sup>			
MN	11,7	8,6	3,4	2,6
SAF <sub>Ro</sub>	9,05	6,7	2,8	2,4
PS <sub>Ro</sub>	6,3	4,1	2,2	1,3
	mg g <sup>-1</sup>			
MN	11,7	8,6	3,4	2,6
SAF <sub>An</sub>	7,7	6,2	2,9	2,1
PS <sub>An</sub>	9,9	9,0	2,8	2,1
	mg g <sup>-1</sup>			
MN	11,7	8,6	3,5	2,6
SAF <sub>Fe</sub>	8,7	5,7	3,0	2,4
PS <sub>Fe</sub>	8,5	7,3	3,0	2,7

<sup>1</sup>MN. – Mata nativa; SAF – Sistema agroflorestal; PS – Sistema a pleno sol; An – Ângelo; Ro – Romualdo; Fe – Fernando.

## 5.2.2 Atributos do solo

### 5.2.2.1 Físicos

A análise textural foi realizada pelo método da pipeta, baseado no princípio da velocidade de queda das partículas, conforme a Lei de Stokes, utilizando-se como dispersante químico o hidróxido de sódio a 0,1 mol L<sup>-1</sup> (Embrapa, 1997). Para a dispersão física, empregou-se a agitação lenta de 50 rpm por 16 h, em agitador orbital tipo Wagner (Ruiz, 2005a). A determinação de silte foi realizada por pipetagem e não por diferença (Ruiz, 2005b).

A argila dispersa em água (ADA) foi determinada seguindo a metodologia descrita para análise granulométrica, com agitação rápida (6.000 x g por 15 minutos) e suprimindo-se o uso do dispersante químico (Embrapa, 1997). Para a determinação de

densidade do solo ( $D_s$ ), foi utilizado o método do anel volumétrico (Embrapa, 1997). A densidade de partículas do solo ( $D_p$ ) foi obtida segundo o método do balão volumétrico, utilizando-se álcool como líquido penetrante (Embrapa, 1997).

### 5.2.2.2 Químicos

#### 5.2.2.2.1 Complexo sortivo e pH em água

As análises químicas referentes ao complexo sortivo e pH seguiram as metodologias propostas pela Embrapa (1997). O cálcio ( $Ca^{2+}$ ), magnésio ( $Mg^{2+}$ ) e alumínio ( $Al^{3+}$ ) trocáveis foram extraídos com solução de KCl  $1,0 \text{ mol L}^{-1}$  e determinados por titulação com EDTA  $0,0125M$  e NaOH  $0,025M$ , respectivamente. O fósforo disponível (P) e o potássio ( $K^+$ ) trocável foram extraídos com Mehlich-1 e determinados por colorimetria (P) e fotômetro de chama (K). A acidez potencial ( $H^+ + Al^{3+}$ ) foi extraída com solução de acetato de cálcio ( $(CH_3COO)_2Ca \cdot H_2O$ )  $0,5 \text{ mol L}^{-1}$  e quantificada por titulometria, com NaOH  $0,025 \text{ mol L}^{-1}$ . O pH foi determinado em água por potenciometria, na proporção 1:2,5. As variáveis soma de bases (SB), capacidade de troca catiônica total ( $CTC_{total}$ ) e efetiva ( $CTC_{efetiva}$ ) foram calculadas a partir dos valores de  $Ca^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$ ,  $K^+$ ,  $Al^{3+}$  e ( $H^+ + Al^{3+}$ ).

### 5.2.2.3 Biológicos

#### 5.2.2.3.1 Colonização micorrízica

Na colonização micorrízica, foram coletadas raízes de algumas espécies espontâneas: trapoeraba (*Commelina erecta*), caruru (*Amaranthus spinosus* L.), picão-preto (*Bidens pilosa* L.), capim-marmelada (*Brachiaria plantaginea* Link.), mentrasto (*Ageratum conyzoides* L.), capiçoba (*Polygonum acre* HBK.), serralha (*Sonchus oleraceus* L.) cipó de São João (*Pyrostegia venusta* (Ker-Gawler) Miers), gervão (*Stachytarpheta cayennensis* (Rich.) Vahl) e cafeeiro, além das raízes extraídas das amostras de solo nas profundidades de 0-20 e 20-40 cm. Essas raízes sofreram clareamento pelo aquecimento em solução de KOH a 10%. Em seguida, foram coradas de acordo com a metodologia adaptada por Vierheilig et al. (1998). A quantificação foi realizada pelo método da interseção, sendo observada a presença de estruturas fúngicas na região do córtex radicular, com auxílio de um microscópio estereoscópico (Giovanetti & Mosse, 1980).

#### **5.2.2.3.2 Número de esporos das micorrizas arbusculares**

Na extração e contagem de esporos, utilizou-se uma adaptação da metodologia de Gerdemann & Nicholson (1963), em que 50 g de solo foram lavados e passados em peneiras de 1,0 e 0,053 mm. Os esporos retidos na peneira de 0,053 mm foram separados por uma primeira centrifugação, com água a 2000 rpm por cinco minutos, sendo o sobrenadante descartado. Em seguida, ressuspendeu-se o centrifugado em solução de sacarose 50% (m/v) e uma segunda centrifugação de 2000 rpm por um minuto foi realizada. Após essa etapa, verteu-se o sobrenadante novamente na peneira de 0,053 mm, lavando-o com água destilada em abundância para retirar a sacarose. Os esporos extraídos foram contados com auxílio de um microscópio estereoscópico, com aumento máximo de 90 vezes.

#### **5.2.2.3.3 Peso das raízes extraídas do solo**

As amostras de solo e raiz foram coletadas nas profundidades de 0-20 e 20-40 cm. Essas amostras foram secas, destorroadas e colocadas em um balde plástico com água, onde ocorreu a agitação manual com o auxílio de um bastão de vidro. Após essa etapa, realizou-se a passagem das amostras em uma peneira de 1 mm de diâmetro. A agitação e o peneiramento foram realizados três vezes para cada amostra. No material retido na peneira, realizou-se uma seleção manual, com o objetivo de eliminar o máximo de material não identificado como raízes. Ao final, as raízes separadas pelo peneiramento úmido foram secas e pesadas (Adaptada de Cardoso et al., 2003a).

#### **5.2.2.3.4 Extração da glomalina total e facilmente extraível**

A extração da glomalina foi baseada na metodologia descrita por Wright & Upadhyaya (1996). A extração da glomalina total (GT) seguiu o seguinte procedimento: em tubo de centrifuga foram adicionados 1 g de solo + 8,0 mL da solução de citrato de sódio 50 mM L<sup>-1</sup> a pH 8,0. Em seguida, os tubos foram colocados na autoclave a 121°C por 60 minutos. Na glomalina facilmente extraível (GFE), a solução de citrato de sódio foi de 20 mM L<sup>-1</sup> a pH 7,0 e os tubos colocadas na autoclave a 121°C por 30 minutos. Os teores de GT foram obtidos por extrações sucessivas da mesma amostra de solo, com reposição da solução extratora; enquanto para a GFE realizou-se a extração apenas uma única vez. Após essa etapa, os tubos foram centrifugados a 5.000 x g por 15 minutos, o sobrenadante foi quantificado com o auxílio de uma proveta graduada e armazenado a uma temperatura de 4°C. Os teores da GT e GFE foram determinados na solução

sobrenadante através do ensaio de Bradford, utilizando albumina bovina como proteína padrão.

### 5.2.3 Análise estatística

Os atributos físicos, químicos e biológicos do solo dos agroecossistemas foram comparados individualmente com a MN e de um agroecossistema com outro (SAF x PS) em cada propriedade. Nesses atributos, analisou-se a variância com a comparação de médias pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

As variáveis sofreram transformação por log (pH, P,  $Al^{3+}$ , H+Al, Argila, Densidade e número de esporos) e raiz quadrada (SB e raízes), para obedecer o critério de normalidade. Os atributos do solo foram submetidos à correlação linear de Spearman, para verificar relações com a GT e GFE. Para os cálculos estatísticos, utilizou-se o sistema computacional SAS, versão 9.1 (SAS, 2003).

## 5.3 Resultados

### 5.3.1 Atributos químicos do solo

Os atributos químicos do solo foram apresentados na Tabela 3. No geral, em relação a MN, os agroecossistemas (SAFs e PSs) apresentaram valores maiores de pH (4,6 a 5,7), de SB (0,7 a 6,6  $cmol_c dm^{-3}$ ) e de  $CTC_{efetiva}$  (2,0 a 6,7  $cmol_c dm^{-3}$ ); menores de CTC total (7,7 a 15,1  $cmol_c dm^{-3}$ ), de  $Al^{+3}$  (0,1 a 1,1  $cmol_c dm^{-3}$ ) e de Al+H (6,8 a 9,2  $cmol_c dm^{-3}$ ); e iguais de P (em torno de 2,8  $mg dm^{-3}$ ).

Nas propriedades Ro e Fe, os agroecossistemas apresentaram valores similares em todos os atributos avaliados. O  $SAF_{An}$ , em relação ao  $PS_{An}$ , apresentou valores menores de pH, SB,  $CTC_{efetiva}$  e  $CTC_{total}$ ; e valores iguais de P,  $Al^{+3}$  e Al+H. Em geral, os valores dos atributos foram menores em profundidade (camada de 20-40 cm), exceto H+Al, que apresentou valores similares nas duas profundidades de todos os agroecossistemas; e a  $CTC_{total}$ , também similares, exceto para o agroecossistemas do Ro.

**Tabela 3.** Atributos químicos do solo em cafezais em sistemas agroflorestais (SAFs) e a Pleno Sol (PS) nas propriedades familiares agroecológicas indentificadas como Ro, An e Fe, Araponga, MG

Atributos Químicos <sup>1</sup>	Profundidade (cm)	Sistemas <sup>2</sup>		
		MN	SAF <sub>Ro</sub>	PS <sub>Ro</sub>
pH H <sub>2</sub> O	0-20	4,3Ab	5,1Aa	5,3Aa
	20-40	4,4Ab	4,7Ba	4,7Ba
SB (cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> )	0-20	0,5Ab	4,0Aa	4,2Aa
	20-40	0,3Ab	1,2Ba	1,5Ba
P disponível (mg dm <sup>-3</sup> )	0-20	3,3Aa	4,0Aa	4,3Aa
	20-40	1,7Ba	2,7Aa	1,6Ba
CTC (t) (cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> )	0-20	2,4Ab	4,5Aa	4,5Aa
	20-40	1,4Ba	2,2Ba	2,4Ba
CTC (T) (cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> )	0-20	15,3Aa	13, 1Ab	10,5Ac
	20-40	9,6Ba	10,4Bab	7,7Bb
Al <sup>3+</sup> (cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> )	0-20	1,9Aa	0,4Bb	0,4Bb
	20-40	1,1Aa	1,1Aa	0,9Ab
H+Al (cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> )	0-20	14,8Aa	9,1Ab	6,3Ab
	20-40	9,4Ba	9,2Aa	6,2Ab
COT (dag kg <sup>-1</sup> )	0-20	6,8Aa	3,8Ab	3,1Ac
	20-40	4,2Ba	2,9Bb	2,2Bc
		MN	SAF <sub>An</sub>	PS <sub>An</sub>
pH H <sub>2</sub> O	0-20	4,3Ab	5,7Aa	5,5Aa
	20-40	4,4Ac	5,1Bb	5,6Aa
SB (cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> )	0-20	0,5Ac	4,6Ab	6,6Aa
	20-40	0,3Ac	1,6Bb	4,3Ba
P disponível (mg dm <sup>-3</sup> )	0-20	3,3Aa	2,5Aa	3,8Aa
	20-40	1,7Ba	1,4Aa	3,3Aa

**Tabela 3.** Continuação

<b>CTC (t)</b>	<b>0-20</b>	2,4Ac	4,7Ab	6,7Aa
<b>(cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>)</b>	<b>20-40</b>	1,4Bb	2,0Bb	4,5Ba
<b>CTC (T)</b>	<b>0-20</b>	15,3Aa	11,8Ab	15,1Aa
<b>(cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>)</b>	<b>20-40</b>	9,7Bb	9,8Ab	13,4Aa
<b>Al<sup>3+</sup></b>	<b>0-20</b>	1,9Aa	0,1Bb	0,1Bb
<b>(cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>)</b>	<b>20-40</b>	1,1Aa	0,5Ab	0,2Ab
<b>H+Al</b>	<b>0-20</b>	14,8Aa	7,1Ab	8,5Ab
<b>(cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>)</b>	<b>20-40</b>	9,4Ba	8,3Aa	9,1Aa

<sup>1</sup>MN - Mata nativa, utilizada para comparação; <sup>2</sup> **atributos químicos:** pH – pH do solo em água; Soma de bases (SB), P – Fósforo disponível, CTC (t) – Capacidade de troca de cátions efetiva; Alumínio trocável (Al<sup>3+</sup>), Acidez potencial (H+Al), carbono orgânico total (COT). As médias seguidas pela mesma letra minúscula na linha (em cada propriedade) e maiúscula na coluna (profundidade) não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

### 5.3.2 Atributos físicos

Os atributos físicos do solo foram apresentados na Tabela 4. O teor de argila nos solos das áreas em estudo foi superior a 39%. Esses teores de argila, na camada de 0-20 cm e 20-40 cm, foram menores no SAF<sub>An</sub> e PS<sub>An</sub> e maiores no PS<sub>Fe</sub>, em comparação com a MN.

Nos agroecossistemas, apenas o PS<sub>Ro</sub> apresentou teor de argila inferior ao SAF<sub>Ro</sub>. Em profundidade, com exceção do SAF<sub>An</sub>, que ocorreu um aumento de 14% na camada subsuperficial, os outros agroecossistemas não apresentaram diferenciação nos teores de argila entre camadas. A densidade do solo (Ds) foi menor na MN (0,9 g dm<sup>-3</sup>), em relação aos agroecossistemas (1,1 g dm<sup>-3</sup>), que por sua vez, não apresentaram diferença entre si e em profundidade.

**Tabela 4.** Atributos físicos do solo em cafezais em sistemas agroflorestais (SAFs) e a Pleno Sol (PS) nas propriedades familiares agroecológicas indentificadas como Ro, An e Fe, Araponga, MG

Atributos Físicos <sup>1</sup>	Profundidade (cm)	Sistemas <sup>2</sup>		
		MN	SAF <sub>Ro</sub>	PS <sub>Ro</sub>
Argila (%)	0-20	52,3Aab	55,1Aa	47,2Ab
	20-40	55,3Aa	55,3Aa	52,5Aa
Ds (g dm <sup>-3</sup> )	0-20	0,9Ab	1,0Aa	1,0Aa
	20-40	0,9Ab	1,0Aa	1,0Aa
ADA (%)	0-20	5,9Ab	12,4Aa	12,1Aa
	20-40	9,0Ab	12,8Aa	12,0Aa
		MN	SAF <sub>An</sub>	PS <sub>An</sub>
Argila (%)	0-20	53,3Aa	39,0Ab	39,5Ab
	20-40	55,3Aa	44,5Bb	42,3Ab
Ds (g dm <sup>-3</sup> )	0-20	0,9Ab	1,1Aa	1,0Aa
	20-40	0,9Ab	1,1Aa	1,1Aa
ADA (%)	0-20	5,9Aa	6,3Aa	4,0Aa
	20-40	9,0Aa	6,0Aa	6,5Aa
		MN	SAF <sub>Fe</sub>	PS <sub>Fe</sub>
Argila (%)	0-20	53,3Ab	57,0Aab	61,8Aa
	20-40	55,3Ab	59,8Aab	65,0Aa
Ds (g dm <sup>-3</sup> )	0-20	0,9Ab	1,0Aa	1,0Aa
	20-40	0,9Ab	1,0Aa	1,0Aa
ADA (%)	0-20	5,9Ab	12,1Aa	10,1Aab
	20-40	9,0Aa	9,5Aa	9,5Aa

<sup>1</sup>MN - Mata nativa, utilizada para comparação; <sup>2</sup> **atributos físicos:** Argila – Percentagem de argila no solo; DS – Densidade do solo; ADA – Argila dispersa em água. As médias seguidas pela mesma letra minúscula na linha (em cada propriedade) e maiúscula na coluna (profundidade) não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.



Para argila dispersa em água (ADA), na camada de 0-20 cm, o SAF<sub>Ro</sub>, PS<sub>Ro</sub> e SAF<sub>Fe</sub> apresentaram valores maiores (12,4; 12,1 e 12,1%, respectivamente) dessa variável em comparação com a MN (5,9%); enquanto os demais agroecossistemas foram semelhantes. Na camada 20-40 cm, apenas o SAF<sub>Ro</sub> e PS<sub>Ro</sub> apresentaram valores de ADA (12,8 e 12,0%, respectivamente) maiores do que os encontrados na MN (9,0%). Em profundidade, não houve diferença na ADA.

### 5.3.3 Atributos biológicos

Os atributos biológicos foram apresentados na Tabela 5. A colonização micorrízica das raízes extraídas das amostras de solo nos diferentes agroecossistemas não diferiu do percentual de colonização observado na MN, independente da profundidade. Entre os agroecossistemas, apenas o PS<sub>Ro</sub> apresentou percentual de colonização superior ao SAF<sub>Ro</sub>, na camada de 0-20 cm de profundidade. Em profundidade, não ocorreu diferença nos percentuais de colonização das raízes extraídas do solo nos agroecossistemas e na MN.

Os percentuais de colonização das espécies de plantas arbóreas (MN), espontâneas (SAFs e PSs), cafeeiro (SAFs e PSs) e arbóreas (SAFs) foram apresentados na Figura 1. Em média, as espécies apresentaram os seguintes percentuais de colonização: arbóreas na MN (68%), espontâneas (64%), cafeeiro (62%) e arbóreas nos SAFs (62%). O abacateiro apresentou colonização de 64%; o ingazeiro apresentou colonização de 64% e o fedegoso, colonização de 63%.

Na propriedade Ro (Figura 1a), observou-se que, no SAF, as espécies espontâneas apresentaram percentual de colonização superior ao cafeeiro e o abacateiro. Já no PS, não houve diferença no percentual de colonização entre espécies. Entre agroecossistemas (SAF e PS) verificou-se que as espécies espontâneas do SAF e o cafeeiro do PS apresentaram percentual de colonização semelhante. Em geral, as espécies avaliadas apresentaram taxa de colonização inferior ao da MN, com exceção das espontâneas do SAF, em que a colonização foi semelhante. O ingazeiro apresentou percentual de colonização de 64%.

Na propriedade An (Figura 1b), ao avaliar cada sistema (SAF e PS) de forma independente, observou-se que não houve diferença na taxa de colonização entre as diferentes espécies. Entre agroecossistemas, o cafeeiro do PS apresentou maior percentual de colonização que o SAF. As demais espécies apresentaram colonização

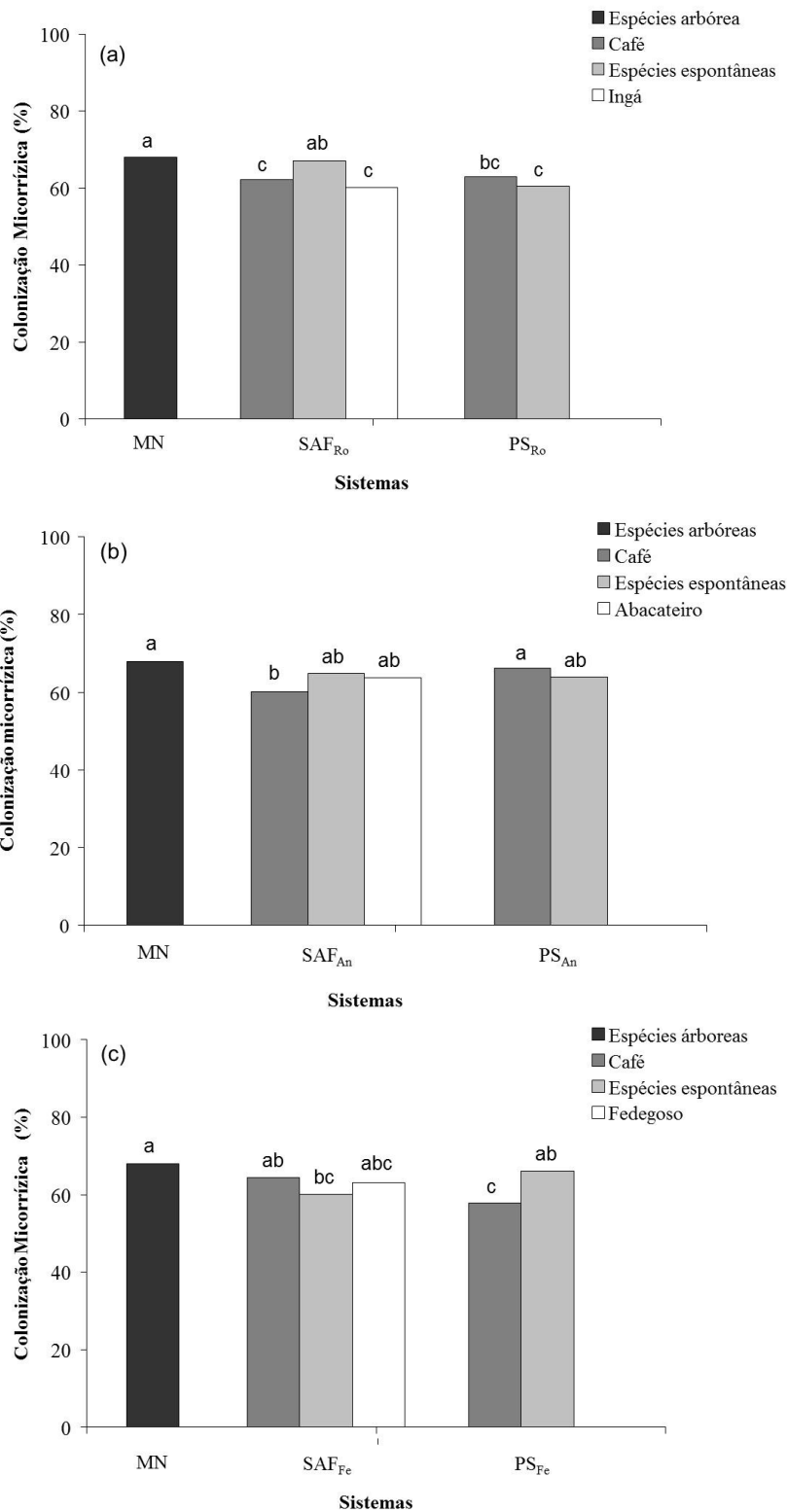
igual a MN, com exceção do cafeeiro com menor percentual de colonização micorrízica. O abacateiro apresentou percentual de colonização de 64%.

**Tabela 5.** Atributos biológicos do solo em cafezais em sistemas agroflorestais (SAFs) e a Pleno Sol (PS) nas propriedades familiares agroecológicas indenticadas como Ro, An e Fe, Araponga, MG

Atributos Físicos <sup>1</sup>	Profundidade (cm)	Sistemas <sup>2</sup>		
		MN	SAF <sub>Ro</sub>	PS <sub>Ro</sub>
Col. MZ (%)	0-20	63,4Aab	60,7Ab	65,1Aa
	20-40	61,5Aa	60,8Aa	60,8Aa
Nº esporos (g de solo)	0-20	10Aab	8Ab	12Aa
	20-40	8Ba	7Aa	4Bb
Raízes (g dm <sup>-3</sup> )	0-20	2,7Aa	2,9Aa	2,02Ab
	20-40	1,1Ba	0,6Bb	0,04Bc
		MN	SAF <sub>An</sub>	PS <sub>An</sub>
Col. MZ (%)	0-20	63,4Aa	61,4Aa	62,2Aa
	20-40	61,5Aa	60,3Aa	60,5Aa
Nº esporos (g de solo)	0-20	10Ab	12Aa	9Ab
	20-40	8Ba	6Bb	6Bb
Raízes (g dm <sup>-3</sup> )	0-20	2,7Ab	4,8Aa	4,4Aa
	20-40	1,1Ba	1,1Ba	0,7Bb
		MN	SAF <sub>Fe</sub>	PS <sub>Fe</sub>
Col. MZ (%)	0-20	63,4Aa	63,1Aa	62,6Aa
	20-40	61,5Aa	61,9Aa	61,6Aa
Nº esporos (g de solo)	0-20	10Aab	11Aa	8Ab
	20-40	8Ba	8Ba	7Aa
Raízes (g dm <sup>-3</sup> )	0-20	2,7Aa	1,9Ab	2,1Aab
	20-40	1,1Ba	0,5Bb	0,8Bab

<sup>1</sup>MN - Mata nativa, utilizada para comparação; <sup>2</sup> **atributos biológicos:** Col. MZ – Colonização micorrízica das raízes extraídas do solo; esporos dos fungos micorrízicos arbusculares. As médias seguidas pela mesma letra minúscula na linha (em cada propriedade) e maiúscula na coluna (profundidade) não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Na propriedade Fe (Figura 1c), as espécies vegetais presentes no SAF não apresentaram diferença no percentual de colonização; enquanto no PS, as espontâneas foram às espécies mais colonizadas pelos FMAs.



**Figura 1.** Percentual de colonização micorrízica das diferentes espécies vegetais nos sistemas Mata nativa (MN), Agroflorestal (SAF) e Pleno sol (PS) nas propriedades do Ro (a) An (b) e Fe (c). Médias seguidas pela mesma letra dentro e entre sistemas não difere entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

O número de esporos dos FMAs, na profundidade de 0-20 cm, variou de 6-12 esporos  $g^{-1}$  de solo (Tabelas 5). O número de esporos na MN foi similar aos valores encontrados nos agroecossistemas; apenas no SAF<sub>An</sub> esse número foi maior. Nas propriedades do An, o número de esporos nos SAF foi superior ao PS; na propriedade do Fe, eles foram iguais; no Ro, o PS foi superior.

Na profundidade de 20-40, o número de esporos (4-8 esporos  $g^{-1}$  de solo) reduziu em relação à camada de 0-20 cm, com exceção do SAF<sub>Ro</sub> e PS<sub>Fe</sub>, em que esse número foi similar. O número de esporos na MN foi superior ao SAF<sub>An</sub>, PS<sub>An</sub> e PS<sub>Ro</sub> e igual aos demais agroecossistemas.

Na profundidade de 0-20 cm, a quantidade de raízes (Tabela 5) na MN (2,7  $g\ dm^{-3}$ ) foi: menor que no SAF<sub>An</sub> (4,8  $g\ dm^{-3}$ ) e PS<sub>An</sub> (4,4  $g\ dm^{-3}$ ); maior que no SAF<sub>Fe</sub> (1,9  $g\ dm^{-3}$ ) e PS<sub>Ro</sub> (2,0  $g\ dm^{-3}$ ); e similar ao SAF<sub>Ro</sub> (2,9  $g\ dm^{-3}$ ) e PS<sub>Fe</sub> (2,1  $g\ dm^{-3}$ ). Na camada 20-40 cm, a quantidade de raízes na MN (1,1  $g\ dm^{-3}$ ) foi: maior que o SAF<sub>Ro</sub> (0,6  $g\ dm^{-3}$ ), PS<sub>Ro</sub> (0,04  $g\ dm^{-3}$ ), PS<sub>An</sub> (0,7  $g\ dm^{-3}$ ) e SAF<sub>Fe</sub> (0,5  $g\ dm^{-3}$ ); e igual ao SAF<sub>An</sub> (1,1  $g\ dm^{-3}$ ) e PS<sub>Fe</sub> (0,8  $g\ dm^{-3}$ ). Nos agroecossistemas dentro de cada propriedade e na camada de 0-20 cm, observou-se que a quantidade de raiz no SAF<sub>Ro</sub>, foi maior que no PS<sub>Ro</sub>. Já nas demais propriedades, não houve diferença entre agroecossistemas. Na camada de 20-40, o SAF<sub>Ro</sub> e o SAF<sub>An</sub> apresentaram peso de raiz superior aos PSs; enquanto o SAF<sub>Fe</sub> e PS<sub>Fe</sub> foram similares. Em profundidade, ocorreu redução no peso das raízes.

#### **5.3.4 Atributos do solo e os estoques de glomalina**

A glomalina total (GT) e glomalina facilmente extraível (GFE) correlacionaram-se positivamente com o P, CTC<sub>total</sub>, CTC<sub>efetiva</sub>, H+Al, Raízes, número de esporos e colonização micorrízica das espécies espontâneas e negativamente com ADA e Ds. Não houve correlação significativa com o pH, o  $Al^{3+}$ , a colonização micorrízica do cafeeiro e as raízes extraídas do solo. A SB correlacionou-se positivamente com a GT, mas não se correlacionou com a GFE. Com a argila ocorreu o inverso (Tabelas 6 e 7): a SB correlacionou-se positivamente com a GFE, mas não se correlacionou com a GT. Ocorreu correlação positiva entre o peso de raízes do solo e o número de esporos ( $r = 0,67$ ,  $p < 0,0001$ ) e negativa entre o número de esporos  $Al^{3+}$  ( $p < 0,0001$ ) e a ADA ( $p < 0,0001$ ).

## 5.4 Discussão

### 5.4.1 Atributos químicos

O manejo dos agroecossistemas aumentou o pH do solo. Isso pode estar associado à prática da calagem que neutraliza a acidez do solo e eleva a concentração de íons de reação básica ( $\text{Ca}^{2+}$  e  $\text{Mg}^{2+}$ ) (Raij, 1991). Ao compararmos o pH da camada superficial com o da subsuperficial, pelo fato de na última ser menor o efeito da calagem, ocorre aproximação do pH dos agroecossistemas e da MN. Diversos autores relatam a influência das práticas de manejo sob a elevação do pH do solo (Carneiro et al., 2004; Jantalia et al., 2007; Leite et al., 2010).

A maior SB encontrada nos agroecossistemas em relação a MN pode estar associada à adição de nutrientes, principalmente através da calagem, adubação orgânica e mineral; além da deposição de resíduos vegetais das árvores, no caso dos SAFs (Duarte, 2007). A adição de nutrientes via resíduos vegetais dos SAFs não foi suficiente para diferenciá-los dos PSs, visto que a adição de adubos orgânicos e minerais foi semelhante nos dois agroecossistemas. Na propriedade An, o contrário foi observado, pois o PS apresentou SB maior que o SAF, nas duas camadas. Isso pode ser compreendido pelo fato de o PS ficar em uma posição no relevo em que recebe material oriundo do SAF, tornando-se uma superfície de acúmulo.

Os teores muito baixos de P disponível nos agroecossistemas e na MN (Alvarez et al., 1999) são comuns nos solos tropicais (Novais & Smyth, 1999). Entretanto, os solos apresentam razoáveis teores de P total (Cardoso et al., 2003b; Xavier et al., 2010). Na Zona da Mata de Minas Gerais, os solos são em geral distróficos e álicos, na maior parte, devido ao profundo manto de intemperismo, com quase ausência de minerais primários facilmente intemperizáveis e relevo acidentado, o que torna esse ecossistema bastante vulnerável às perdas de nutrientes (Abrahão et al., 2000; Rezende & Resende, 1996). Nesse ambiente oligotrófico, as plantas precisam ser eficientes na utilização desse recurso, portanto, uma especial atenção deve ser dada à forma de manejo que favoreça a vida no solo, em especial aqueles organismos sabidamente eficientes na ciclagem de P, como as micorrizas. É necessário, também, favorecer a melhor exploração do solo pelo sistema radicular, como nos SAFs.

No caso da  $\text{CTC}_{\text{efetiva}}$  na MN, o seu valor foi quase que exclusivamente influenciado pelo  $\text{Al}^{3+}$ , enquanto nos agroecossistemas a SB contribuiu com o maior percentual dessa variável. Nos agroecossistemas, o aumento da  $\text{CTC}_{\text{efetiva}}$ ,

principalmente na camada superficial, foi consequência da adição de nutrientes externos.

Em todos os sistemas, o H+Al participou com a maior fração da CTC<sub>total</sub> (pH 7,0). Em profundidade, CTC<sub>total</sub> reduziu na MN. Já no SAF<sub>Ro</sub> e no PS<sub>Ro</sub>, foi igual aos demais agroecossistemas. O maior valor dessa variável na camada superficial pode ser atribuído à matéria orgânica do solo (MOS), pois a MOS contribui com o maior percentual da acidez potencial no solo. A matéria orgânica, presente em maior quantidade na MN, torna o solo grande reservatório de H<sup>+</sup> e carga negativa do solo (Van Raij, 1981; Rangel & Silva, 2007; Salton et al., 2008), portanto, ela aumenta a CTC total. Com isso, a diferença entre CTC<sub>efetiva</sub> e CTC<sub>total</sub> foi maior nas áreas com MN. Os valores da acidez potencial (H + Al) também variaram entre os sistemas, com os maiores valores observados na MN, conforme observado por Carneiro et al., 2010 e Portugal et al., 2010. A maior concentração de H+Al na MN, possivelmente, deve-se a maiores estoques de matéria orgânica (Rangel & Silva, 2007; Sousa et al., 2007).

Os menores valores de Al<sup>3+</sup> observados nos agroecossistemas estão relacionados à calagem das áreas, na camada de 0-20 cm, pois, na camada seguinte, em que o efeito do calcário é menor, os teores Al<sup>3+</sup> nos agroecossistemas aumentaram e ficaram próximos da MN. A calagem promove a elevação do pH do solo, pois o alumínio é precipitado como hidróxido (Raij, 1991; Sousa et al., 2007). A MOS também pode reduzir os teores de Al<sup>3+</sup>, como, por exemplo, nos SAFs, em que recebem constantemente um grande aporte de resíduos vegetais (Duarte, 2007), pois os ácidos orgânicos de baixo peso molecular presentes nesses resíduos podem reduzir a concentração do Al<sup>3+</sup> trocável do solo (Franchini, et al., 1999; Mendonça, 1995). De acordo com a classificação de Alvarez V. et al. (1999), os teores de Al<sup>3+</sup> foram considerados baixo nos agroecossistemas e alto na MN.

#### **5.4.2 Atributos físicos**

As áreas em estudo apresentaram elevada concentração de argila no solo, sendo classificadas, de acordo com Sociedade Brasileira de Ciência do Solo (Santos et al., 2005), como de textura argilosa a muito argilosa, para todas as áreas e profundidades.

Esses valores apresentaram pequenas variações, sobretudo entre os agroecossistemas e em profundidade, evidenciando que a concentração de argila é um atributo genético do solo (Coelho & Vidal-Torrado, 2003). Em especial, a diferença

textural em profundidade no SAF<sub>An</sub> pode ser fruto de processos de eluviação ocorridos no passado, principalmente antes da implantação do SAF.

A Ds não diferiu entre os agroecossistemas e entre estes e a MN, em nenhuma das profundidades avaliadas. Embora o manejo altere a estrutura do solo, devido à reorganização de partículas e quebra de agregados (Bergamin et al., 2010; Collares et al., 2006) em solos com estrutura muito estável, devido à presença de óxidos (Resende et al., 2007), de agroecossistemas perenes e não utilização de máquinas, as áreas sofreram poucos distúrbios na estrutura do solo (capítulo 4, desta tese).

Os baixos percentuais de argila dispersa em água indicam o elevado grau de flocculação da argila dos solos. Isso é uma característica genética da classe dos Latossolos em que essas áreas estão inseridas (Ferreira et al., 1999); além da estabilidade sob cultivo perene. Os maiores teores de argila dispersa, em alguns agroecossistemas, em comparação com MN, podem ser devido a pequenas variações entre os solos, ou à redução nos teores de matéria orgânica, que atua no solo como um agente cimentante das partículas unitárias (Prado & Centurion, 2001); ou mesmo a calagem, que pode aumentar a densidade de cargas negativas, proporcionando a repulsão entre as partículas de argila (Oliveira et al., 2008; Spera et al., 2008).

### **5.4.3 Atributos biológicos**

As espécies vegetais (arbóreas, arbustivas e espontâneas), presentes nas áreas de cafezais agroecológicos da Zona da Mata Mineira, apresentaram elevada taxa de colonização micorrízica das raízes, que possivelmente está associada ao não revolvimento, a perenidade dos sistemas e alta diversidade de espécies nas áreas (Jarecki & Lal 2005; Oehl et al., 2004; 2010). Os agroecossistemas, em geral, foram semelhantes a MN, corroborando com estudo de Theodoro et al. (2003). Esses resultados evidenciam a proximidade desses agroecossistemas com o sistema natural, quando avaliada a taxa de colonização radicular. Os cafezais agroecológicos apresentaram elevado percentual de colonização radicular, quando comparado com áreas de cafeeiros convencionais a pleno sol, com 15 a 51% (Moreira & Siqueira, 2006). Em geral, as espécies espontâneas e arbóreas presentes nos agroecossistemas foram importantes hospedeiras dos FMAs, proporcionando condições favoráveis à manutenção da biodiversidade, em especial dos FMAs. Este estudo ratifica o importante papel das espécies espontâneas na sobrevivência desse fungo, pois em alguns agroecossistemas essas espécies contribuíram com maior percentual de colonização micorrízica. Todavia,

os estudos que consideram essas espécies como componentes importantes do sistema são escassos. A literatura indica que a colonização apresenta grande variabilidade, principalmente nas áreas com cafezais (Theodoro et al., 2003). Em condições de campo, vários fatores interferem positiva ou negativamente na colonização, como os atributos do solo, a espécie vegetal (Lovato et al., 1992), a incidência de luz (Gehring, 2003), a disponibilidade de água (Entry et al., 2002) e o manejo dos agroecossistemas (Smith & Read, 2008). Portanto, é difícil estabelecer correlações entre determinadas condições edáficas e a colonização micorrízica, devido ao grande número de complexas interações envolvidas (Saggin Júnior & Siqueira, 1996). Entretanto, a adoção de práticas agroecológicas, como é o caso do SAFs e PSs na Zona da Mata, estão propiciando condições favoráveis para uma elevada taxa de colonização micorrízica das diferentes espécies vegetais manejadas na área.

A redução do número de esporos do FMAs em profundidade, na maioria dos sistemas (Tabelas 5), deve-se a maior quantidade de raízes na camada superficial e/ ou maior influência de fatores bióticos e abióticos nessa camada, podendo causar estresse ao fungo, levando-o a esporular (Cardoso et al., 2003a; Abbott & Robson, 1991). Quando os agroecossistemas foram comparados com a mata ou entre si, houve comportamento errático para o número de esporos, possivelmente devido a peculiaridades de cada agroecossistema, como o tipo de espécie espontânea ou arbórea predominante na área. Assim, na camada superficial, o SAF<sub>Ro</sub> apresentou número de esporos menor que o PS<sub>Ro</sub>, conforme observado por Cardoso et al. (2003a) (na mesma região). Já o SAF<sub>An</sub> e SAF<sub>Fe</sub> apresentaram valores maiores do que os PSs, conforme observado em alguns estudos sob condições semelhantes (Bonfim et al., 2010; Toro & Herrera, 1987). Na camada subsuperficial, o número de esporos nos agroecossistemas foram, em alguns casos, iguais e, em outros, maiores à MN.

#### **5.4.4 Atributos do solo e os estoques de glomalina**

A concentração de diferentes frações da glomalina apresentou correlação com diversos atributos físicos, químicos e biológicos do solo sob cultivo de café agroecológico, na Zona da Mata de Minas Gerais. Esse fato confirma a hipótese de que esses fatores podem estar envolvidos na regulação dos estoques de glomalina do solo (Oehl et al., 2010; Rillig et al., 2001; Treseder & Turner, 2007).



A  $CTC_{efetiva}$ , SB e  $CTC_{total}$  tiveram efeito positivo sobre os teores de glomalina, possivelmente por indicarem ambiente mais propício para o desenvolvimento dos organismos. De modo geral, a colonização micorrízica é inibida em condições de elevada fertilidade do solo e favorecida por uma baixa fertilidade, em que a colonização e a esporulação são máximas (Moreira & Siqueira, 2006). Entretanto, nas condições dos solos da Zona da Mata (Latosolos), que exibem baixo teor de nutrientes (Tabela 3), o aumento moderado da fertilidade pode beneficiar a relação fungo/planta e proporcionar aumento nos teores de glomalina no solo. Lovelock et al., (2004), em um estudo realizado na Costa Rica (Ultisols), observaram que o aumento na concentração de nutrientes como K, Ca e Mn promoveu aumento nos teores de glomalina do solo. Todavia, Rillig et al. (2003) observaram que apenas a concentração de cátions, como  $Ca^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$  e  $K^+$  no solo, não foi suficiente para explicar a variação nos estoques de glomalina.

Os teores de P disponíveis no solo correlacionaram-se positivamente com os teores de glomalina. Na literatura, é conhecido o efeito regulador desse elemento sobre a associação micorrízica. Sabe-se que, em solos com alta disponibilidade de P, a associação micorrízica é reduzida, principalmente em concentrações de P próximas do ótimo para o crescimento das plantas hospedeiras das micorrizas (Moreira & Siqueira, 2006). Em condições de baixos níveis desse nutriente no solo, como nas áreas em estudos ( $4,1 \text{ mg dm}^{-3}$ ), a pequena adição de P pode estimular o crescimento da planta e da associação micorrízica (Smith & Read, 2008), contribuindo para aumentar os teores de glomalina no solo. Portanto, a fertilidade do solo pode influenciar os teores dessa proteína no mesmo (Lovelock et al., 2004; Rillig et al., 2001). Em solos com maior disponibilidade de P (variação de  $20,4$  a  $232 \text{ mg kg}^{-1}$ ), Nichols & Wright (2005) não observaram correlação desse elemento com glomalina; enquanto, Lovelock et al. (2004) observaram que o aumento na concentração de P no solo promove redução nos teores dessa proteína. De acordo com Treseder & Turner (2007), os resultados envolvendo a disponibilidade de P e os teores de glomalina no solo ainda são controversos.

A correlação positiva da densidade de raiz e de esporos (FMAs) com a glomalina evidencia a importância da diversidade de espécies vegetais para o acúmulo dessa proteína, pois a diversidade de plantas hospedeiras e a abundância das MAs podem contribuir para o aumento dos estoques dela no solo (Treseder & Turner, 2007). Houve correlação positiva entre a densidade de raízes e de esporos micorrízicos. Assim, o número e a diversidade de espécies vegetais nos agroecossistemas podem

proporcionar aumento na quantidade de raiz no solo, e, conseqüentemente, aumentar o percentual de colonização, a quantidade de hifas, a densidade de esporos e os teores de glomalina, já que, 80% da glomalina do solo é parte da estrutura de hifas e esporos (Driver et al., 2005). Em diversos estudos, têm-se observado a correlação entre a densidade de esporos e a glomalina (Bai et al., 2009; Seguel et al., 2008). Para Purin et al., (2006), a colonização micorrízica das raízes extraídas das amostras de solo e do cafeeiro não se correlacionou com as frações da glomalina, possivelmente devido ao curto período de tempo que as raízes permanecem colonizadas (semanas), em comparação com o período de residência (anos) da glomalina no solo (Bai et al., 2009). A correlação positiva da colonização das espécies espontâneas com a glomalina pode ser uma das explicações para os elevados teores dessa proteína nessas áreas, evidenciase, neste estudo, a importância das espécies espontâneas para a qualidade do solo, já que a glomalina é importante na estruturação do mesmo (Hontoria et al., 2009; Nichols & Wright, 2005; Wright et al., 1999; 2007).

O H+Al correlacionou-se positivamente com a glomalina, possivelmente devido à associação dessa variável com a MOS. Dessa forma, pode estar ocorrendo apenas um efeito de co-variância entre o H+Al e a glomalina. Experimentos específicos devem ser conduzidos, a fim de obter mais detalhes dessa correlação.

Os teores de argila correlacionaram-se positivamente com a GFE. A relação entre essas duas variáveis pode estar na proteção física desta fração da glomalina pela argila (Nichols & Wright, 2005), ocasionando menor decomposição e maior acúmulo da GFE no solo.

A Ds e argila dispersa correlacionaram-se negativamente com as frações da glomalina no solo. Essas variáveis são frequentemente associadas aos efeitos prejudiciais às plantas e aos FMAs (Moreira & Siqueira, 2006). Os resultados observados neste estudo corroboram com a informação acima, pois variáveis como  $Al^{+3}$  e ADA apresentaram correlação negativa com a densidade de raízes no solo.

Apesar do pH do solo não ter apresentado correlação com a glomalina, Rillig et al. (2003) observaram efeito negativo do pH do solo sobre os teores dessa proteína. Halvorson & Gonzalez (2006) observaram elevados teores de glomalina em solos ácidos (pH 4,0) e com acidez intermediária (5,4). Os resultados observados por diversos estudos indicam que não se pode estabelecer um padrão para relação dos estoques de glomalina e pH do solo; portanto, trabalhos específicos que visem compreender essa relação são necessários.

## 5.5 Conclusões

Os resultados indicam que a inclusão de árvores ao processo produtivo promove a manutenção dos atributos físicos, químicos e biológicos do solo. Os SAFs, em relação aos atributos avaliados, não diferem dos sistemas a pleno solo, por tratarem de agroecossistemas com baixo input externo, conservador da estrutura do solo e da diversidade biológica. Alguns dos atributos físicos, químicos e biológicos podem interferir nos estoques de glomalina e, possivelmente, são reguladores dessa proteína no solo, destacando-se o P disponível, CTC<sub>total</sub>, a colonização das espécies espontâneas e a densidade de raízes e esporos. Em solos intemperizados de clima tropical, a manutenção dos elevados estoques de glomalina no solo pode ser atribuídos a processos diretos, como a estabilização por complexos organominerais, ou indiretos, por fatores que afetam as MAs e seus hospedeiros.

As controvérsias encontradas na literatura sugerem estudos adicionais para avaliar a influência específica de cada atributo do solo na dinâmica dessa proteína, principalmente a contribuição das espécies espontâneas nesse processo. As práticas agroecológicas contribuem para a conservação dos estoques de glomalina no solo.

## 5.6 Referências

- ABBOTT, L.K.; ROBSON, A.D. Factors influencing the occurrence of vesicular-arbuscular mycorrhizas. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 35: 121-150, 1991.
- ABRAHÃO, W.A.P.; FERNANDES FILHO, E.I.; MIRANDA, L.H.F.; RAMILO, G. A. I. Levantamento de solos e aptidão agrícola das terras do município de Ubá – MG. Viçosa, MG, Universidade Federal de Viçosa/Prefeitura de Ubá, 2000, 136p.
- AL-KARAKI, G.N. Growth of mycorrhizal tomato and mineral acquisition under salt stress. *Mycorrhiza*, 10: 51–54, 2000.
- ALVAREZ V.,V.H.; NOVAIS, R.F.; BARROS, N.F.; CANTARUTI, R.B.; LOPES, A.S. Interpretação dos resultados das análises de solos. In: RIBEIRO, A.C.; GUIMARÃES, P.T.G.; ALVAREZ V.,V.H. Recomendações para o uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais. Viçosa, MG, 1999, 359p.
- BAI, C.; HE, X.; TANG, H.; SHAN, B.; ZHAO, L.; Spatial distribution of arbuscular mycorrhizal fungi, glomalin and soil enzymes under the canopy of *Astragalus adsurgens* Pall. in the Mu Us sandland, China. *Soil Biology & Biochemistry*, 41: 941–947, 2009.
- BERGAMIN, A.C.; VITORINO, A.C.T.; FRANCHINI, J.C.; SOUZA, C.M.A.; SOUZA, F.R. Compactação em um Latossolo vermelho distroférico e suas relações com o crescimento radicular do milho. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 34: 681-691, 2010.

- BONFIM, J.A.; MATSUMOTO, S.N.; LIMA, J.M.; CÉSAR, F.R.C.F.; SANTOS, M.A.F. Fungos micorrízicos arbusculares (FMA) e aspectos fisiológicos em cafeeiros cultivados em sistema agroflorestal e a pleno sol. *Bragantia*, 69: 201-206, 2010.
- COLLARES, G.L.; REINERT, D.J.; REICHERT, J.M.; KAISER, D.R. Qualidade física do solo na produtividade da cultura do feijoeiro num Argissolo. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 41: 1663-1674, 2006.
- CARDOSO, I.M.; KUYPER, T.W. Mycorrhizas and tropical soil fertility. *Agriculture Ecosystems and Environment*, 116: 72–84, 2006.
- CARDOSO, I.M.; BODDINGTON, C.L.; JANSSEN, B.H.; OENEMA, O.; KUYPER, T.W. Distribution of mycorrhizal fungal spores in soils under agroforestry and monocultural coffee systems in Brazil. *Agroforestry Systems*, 58: 33–43, 2003a.
- CARDOSO I.M.; JANSSEN, B.H.; OENEMA, O.; KUYPER, T.W. Phosphorus pools in Oxisols under shaded and un shaded coffee systems on farmers' fields in Brazil. *Agroforestry Systems*, 58: 55–64, 2003b.
- CARNEIRO, M.A.C.; SOUZA, E.D.; REIS, E.F.; PEREIRA, H.S.; Azevedo, W.R.A. Atributos físicos, químicos e biológicos de solo de cerrado sob diferentes sistemas de uso e manejo. *Revista Brasileira de Ciência Solo*, 33: 147-157, 2009.
- CARNEIRO, R.G.; MENDES, I.C.; LOVATO, P.E.; CARVALHO, A.M.; VIVALDI, L.J. Indicadores biológicos associados ao ciclo do fósforo em solos de Cerrado sob plantio direto e plantio convencional. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 39: 661-669, 2004.
- CARVALHO, A.F. Água e radiação em sistemas agroflorestais com café no Território da Serra do Brigadeiro – MG. Universidade Federal de Viçosa, 2011. Tese (Doutorado em Solos e Nutrição de Plantas) Viçosa: UFV, 2011.
- COELHO, M.R.; VIDAL-TORRADO, P. Caracterização e gênese de perfis plúnticos desenvolvidos de arenito do Grupo Bauru. II - Mineralogia. *Revista Brasileira Ciência do Solo*, 27: 495-507, 2003.
- DRIVER, J.D.; HOLBEN, W.E.; RILLIG, M.C. Characterization of glomalin as a hyphal wall component of arbuscular mycorrhizal fungi. *Soil Biology & Biochemistry*, 37: 101–106, 2005.
- DUARTE, E.M.G. Ciclagem de nutrientes por árvores em sistema agroflorestal na Floresta Atlântica. Universidade Federal de Viçosa, 2007. Dissertação (Mestrado em Solos e Nutrição de Plantas) Viçosa: UFV, 2007, 115p.
- ELSEN, A.; GERVACIO, D.; SWENNEN, R.; DE WAELE, D. AMF-induced biocontrol against plant parasitic nematodes in *Musa* sp.: a systemic effect. *Mycorrhiza*, 18: 251–256, 2008.
- EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA. Manual de Métodos de Análise de Solo. Centro Nacional de Pesquisa de Solos – Rio de Janeiro, 1997, 212p.
- ENGEVIX, Caracterização do meio físico da área autorizada para criação do Parque Estadual da Serra do Brigadeiro. Instituto Estadual de Floresta, Bird/Pró-Floresta/SEPLA, 1995, 34 p.
- ENTRY, J.A.; RYGIIEWIEZ, P.T.; WATRUD, L.S.; DONNELLY, P.K. Influence of adverse soil conditions on the formation and function of arbuscular mycorrhizas. *Advances in Environmental Research*, 7: 123-138, 2002.

- FERREIRA, M.M.; FERNANDES, B.; CURI, N. Mineralogia da fração argila e estrutura de Latossolos da região Sudeste do Brasil. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 23: 507-514, 1999.
- FERNANDES, J. M. Taxonomia e etnobotânica de Leguminosae Adans. em fragmentos florestais e sistemas agroflorestais na Zona da Mata Mineira. Universidade Federal de Viçosa, 2007. Dissertação (Mestrado em Botânica) Viçosa: UFV, 2007, 223p.
- FRANCHINI, J.C.; MIYAZAWA, M.; PAVAN, M.A.; MALAVOLTA, E. Dinâmica de íons em solo ácido lixiviado com extratos de resíduos de adubos verdes e soluções puras de ácidos orgânicos. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 34: 2267-2276, 1999.
- FREITAS, H.R.; CARDOSO, I.M.; JUCKSCH, I. Legislação ambiental e uso da terra: o caso da Zona da Mata de Minas Gerais. *Revista Brasileira de Ciência do Solo (Boletim Informativo)*, 29: 22-27, 2004.
- FRIESE, C.F.; ALLEN, M.F. The spread of VA mycorrhizal fungal hyphae in the soil: inoculum types and external hyphal architecture. *Mycologia*, 83: 409-418, 1991.
- GEHRING, C.A. Growth responses to arbuscular mycorrhizae by rain forest seedlings vary with light intensity and tree species. *Plant Ecology*, 167: 127-139, 2003.
- GERDEMANN, J.N.; NICHOLSON, T.H. Spores of mycorrhizal endogene species extracted from soil by wet sieving and decanting. *Transactions of the British Mycological Society*, 46: 235-244, 1963.
- GIOVANETTI, M.; MOSSE, B. An evaluation of techniques for measuring vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi infection in roots. *New Phytologist*, 84: 489-500, 1980.
- GOLFARI, L. Zoneamento Ecológico do Estado de Minas Gerais para reflorestamento. Série Técnica, 3. CPFRC, Belo Horizonte, BR. 1975.
- HALVORSON, J.J.; GONZALEZ, J.M. Bradford reactive soil protein in Appalachian soils: distribution and response to incubation, extraction reagent and tannins. *Plant Soil*, 286: 339-356, 2006.
- HONTORIA, C.; VELASQUEZ, R.; BENITO, M.; ALMOROX, J.; MOLINER, A. Bradford-reactive soil proteins and aggregate stability under abandoned versus tilled olive groves in a semi-arid calcisol. *Soil Biology & Biochemistry*, 41: 1583-1585, 2009.
- JANTALIA, C.P.; RESCK, D.V.S.; ALVES, B.J.R.; ZOTARELLI, L.; URQUIAGA, S.; BODDEY, R. M. Tillage effect on C stocks of a clayey Oxisol under a soybean-based crop rotation in the Brazilian Cerrado region. *Soil & Tillage Research*, 95: 97-109, 2007.
- JARECKI, M.K.; LAL, R. Soil organic carbon sequestration rates in two long-term no-till experiments in Ohio. *Soil Science*, 170: 280-291, 2005.
- KER, J.C. Mineralogia, sorção e dessorção de fosfato, magnetização e elementos traços de Latossolos do Brasil. Universidade de Viçosa, 1995. Tese (Doutorado em Solos e Nutrição de Plantas) Viçosa: UFV, 1995, 181p.
- KOHLER, F.; CARAVACA, F.; ROLDÁN, A. An AM fungus and a PGPR intensify the adverse effects of salinity on the stability of rhizosphere soil aggregates of *Lactuca sativa*. *Soil Biology & Biochemistry*, 42: 429-434, 2010.
- LEITE, F.C.; SANDRA GALVÃO, R.S.; NETO, M.R.H.; ARAÚJO, F.S.; IWATA, B.F. Atributos químicos e estoques de carbono em Latossolo sob plantio direto no

- cerrado do Piauí. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, 4: 1273-1280, 2010.
- LOVATO, P.E.; GUILLEMIN, J.P.; GIANINAZZI, S. Application of commercial arbuscular endomycorrhizal fungal inoculants to the establishment of micropropagated grapevine rootstock and pineapple plants. *Agronomie*, 12: 873-880, 1992.
- LOVELOCK, C.E.; WRIGHT, S.F.; CLARK, D.A.; RUESS, R.W. Soil stocks of glomalin produced by arbuscular mycorrhizal fungi across a tropical rain forest landscape. *Journal of Ecology*, 92: 278–287, 2004.
- LUTGEN, E.R.; MUIR-CLAIRMONT, D.; GRAHAM, J.; RILLIG, M.C. Seasonality of arbuscular mycorrhizal hyphae and glomalin in western Montana grassland. *Plant and Soil*, 257: 71–83, 2003.
- MENDONÇA, E.S. Oxidação da matéria orgânica e sua relação com diferentes formas de alumínio de Latossolos. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 19: 25-30, 1995.
- MERTENS, L. The role of mycorrhizal trees in an agroforestry coffee farm in the Zona da Mata of Minas Gerais, Brazil. Wageningen University, 2010. Dissertation (Thesis Soil Quality) Wageningen: Wur, 2010, 81p.
- MOREIRA, F.M.S; SIQUEIRA, J.O. *Microbiologia e Bioquímica do Solo*. Lavras: UFLA, 2006, 729p.
- MUNYANZIZA, E.; KEHRI, H.K.; BAGYARAJ, D.J. Agricultural intensification, soil biodiversity and agro-ecosystem function in the tropics: the role of mycorrhiza in crops and trees. *Applied Soil Ecology*, 6: 77-85, 1997.
- NICHOLS, K.A.; WRIGHT, S.F. Comparison of glomalin and humic acid in eight native US soils. *Soil Science*, 170: 985–997, 2005.
- NOVAIS, R.F.; SMITH, T.J. *Fósforo em solo e planta em condições tropicais*. Viçosa: UFV-DPS. 1999, 399p.
- 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 & Biochemistry*, 42: 724-738, 2010.
- OEHL, F.; SIEVERDING, E.; INEICHEN, K.; MADER, P.; WIEMKEN, A.; BOLLER, T. Distinct sporulation dynamics of arbuscular mycorrhizal fungal communities from different agroecosystems in long-term microcosms. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 134: 257–268, 2009.
- OEHL, F.; SIEVERDING, E. Pacispora, a new vesicular arbuscular mycorrhizal fungal genus in the Glomeromycetes. *Journal of Applied Botany and Food Quality*, 78: 72- 82, 2004.
- OLIVEIRA, J.T.; MOREAU, A.M.S.S. PAIVA, A.Q.; MENEZES, A.A.; COSTA, O. V. Características físicas e carbono orgânico de solos sob diferentes tipos de uso da terra. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 32: 2821-2829, 2008.
- PORTUGAL, A.F.; DEL' ARCO, O.; COSTA, V.; COSTA, L.M. Propriedades físicas e químicas do solo em áreas com sistemas produtivos e mata na região da zona da mata mineira. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 34: 575-585, 2010.
- POZO, M.J.; AZCÓN-AGUILAR, C. Unraveling mycorrhiza-induced resistance. *Current Opinion in Plant Biology*, 10: 393–398, 2007.

- PRADO, R.M.; CENTURION, J.F. Alterações na cor e no grau de floculação de um Latossolo Vermelho-Escuro sob cultivo contínuo de cana-de-açúcar. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 36: 197-203, 2001.
- PURIN, S.; KLAUBERG FILHO, O.; STURMER, S.L. Mycorrhizae activity and diversity in conventional and organic apple orchards from Brazil. *Soil Biology & Biochemistry*, 38: 1831-1839, 2006.
- RAIJ, B. van. Fertilidade do solo e adubação. Piracicaba: Agronômica Ceres, Associação Brasileira para a Pesquisa da Potassa e do Fosfato, 1991, 343p.
- RANGEL, O.J.P.; SILVA, C.A. Estoques de carbono e nitrogênio e frações orgânicas de Latossolo submetido a diferentes sistemas de uso e manejo. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 31: 1609-1623, 2007.
- RESENDE, M.; CURI, N.; REZENDE, S.B.; CORRÊA, G.F. *Pedologia: Base para distinção de ambientes 5* (ed.). Lavras: Editora UFLA, 2007, 322p.
- REZENDE, S.B.; RESENDE, M. Solos dos mares de morros: Ocupação e uso. In: ALVAREZ V.,V.H.; FONTES, L.E.F.; FONTES, M.P.F. (eds.). *Os solos nos grandes domínios morfoclimáticos do Brasil e o desenvolvimento sustentável*. Viçosa, MG, Sociedade Brasileira de Ciência do Solo/Universidade Federal de Viçosa, 1996. 261-289p.
- RILLIG, M.C.; MUMMEY, D.L. Mycorrhizas and soil structure. *New Phytologist*, 171: 41-53, 2006.
- RILLIG, M.C. Arbuscular mycorrhizae and terrestrial ecosystem processes. *Ecology Letters*, 7: 740-754, 2004.
- RILLIG, M.C.; RAMSEY, P.W. MORRIS, S.; PAUL, E.A. Glomalin, an arbuscular-mycorrhizal fungal soil protein, responds to land-use change. *Plant Soil*, 253: 293-299, 2003.
- RILLIG, M.C.; WRIGHT, S.F.; NICHOLS, K.A.; SCHMIDT, W.F.; TORN, M.S. Large contribution of arbuscular mycorrhizal fungi to soil carbon pools in tropical forest soils. *Plant Soil*, 233: 167-177, 2001.
- ROLIM, F.A.; RIBEIRO, G.A. Levantamento do potencial turístico do Parque Estadual da Serra do Brigadeiro - PESB com o suporte em geoprocessamento. In: X SBSR. Foz do Iguaçu, Anais..., Paraná, PR, 2001, 967-969p.
- RUFYKIRI, G.S.; DECLERCK, S.; DUFEY, J.E.; DELVAUX, B. Arbuscular mycorrhizal fungi might alleviate aluminium toxicity in banana plants. *New Phytologist*, 148: 343-352, 2000.
- RUIZ, H.A. Dispersão física do solo para análise granulométrica por agitação lenta. In: Congresso Brasileiro de Ciência do Solo, 30, 2005, Recife. Resumos expandidos. Recife: SBCS, 2005a. (CD-ROM).
- RUIZ, H.A. Incremento da exatidão da análise granulométrica do solo por meio da coleta da suspensão (silte + argila). *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 29: 297-300, 2005b.
- SAGGIN JÚNIOR, O.J.; SIQUEIRA, J.O. Micorrizas arbusculares em cafeeiro. In: SIQUEIRA, J.O. (ed.). *Avanços em fundamentos e aplicações de micorrizas*. Lavras: UFLA, 1996, 202-254p.
- SALTON, J.C.; MIELNICZUK, J.; BAYER, C.; BOENI, M.; CONCEIÇÃO, P.C.; FABRÍCIO, A.C.; MACEDO, M.C.M.; BROCH, D.L. Agregação e estabilidade de agregados do solo em sistemas agropecuários em Mato Grosso do Sul. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 32: 11-21, 2008.

- SANTOS, R.D.; LEMOS, R.C.; SANTOS, H.G.; KER, J.C.; ANJOS, L.H.C. Manual de descrição e coleta de solo no campo. Viçosa, MG, 2005, 91p.
- SAS INSTITUTE. SAS/STAT: users guide, release 9.1. SAS Institute Inc., Cary, . 2002-2003.
- SEGUEL, A.; RUBIO, R.; CARRILLO, R.; ESPINOSA, A.; BORIE, F. Niveles de glomalina y su relación con características químicas y biológicas del suelo (andisol) en un relicto de bosque nativo del sur de Chile. *BOSQUE*, 29: 11-22, 2008.
- SIQUEIRA, L.C. Levantamento florístico e etnobotânico do estrato arbóreo em sistemas naturais e agroflorestais, Araponga, Minas Gerais. Universidade Federal de Viçosa, 2008. Dissertação (Mestrado em Botânica) Viçosa: UFV, 2008, 118p.
- SMITH, S.E.; READ, D.J. Mycorrhizal symbiosis. New York: Academic Press. 2008, 769p.
- SOUZA, D.M.G.; MIRANDA, L.N.; OLIVEIRA, S.A. Acidez do solo e sua correção. In: NOVAIS, R.F.; ALVAREZ V.,V.H.; BARROS, N.F.; FONTES, R.L.F.; CANTARUTTI, R.B.; NEVES, J.C.L. Fertilidade do solo. Viçosa, MG, Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2007, 991p.
- SOUZA, H.N.; CARDOSO, I.M.; FERNANDES, J.M.; GARCIA, F.C.P.; BONFIM, V.R.; SANTOS, A.C.; CARVALHO, A.F.; MENDONÇA, E.S. Selection of native trees for intercropping with coffee in the Atlantic Rainforest biome. *Agroforestry Systems*, 80: 1-16, 2010.
- SPERA, S.T.; DENARDIN, J.E.; ESCOSTEGUY, P.A.V.; SANTOS, H.P.; FIGUEROA, E.A. Dispersão de argila em microagregados de solo incubado com calcário/Clay dispersion in microaggregates of soil incubated with limestone. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 32: 2613-2620, 2008.
- THEODORO, V.C.A.; ALVARENGA, M.I.N.; GUIMARÃES, R.J.; MOURÃO JÚNIOR, M. Carbono da biomassa microbiana e micorriza em solo sob mata nativa e agroecossistemas cafeeiros. *Acta Scientiarum: Agronomy*, 25: 147-153, 2003.
- TISDALL, J.M.; OADES, J.M. Organic matter and water stable aggregates in soil. *Journal of Soil Science*, 33: 141-163, 1982.
- TORO, M.; HERRERA, R. Existence of mycorrhizal spores in two different coffee plantations. In: North American Conference on Mycorrhizae, 7, Gainesville, Proceedings. Gainesville, Institute of Food and Agricultural Sciences, 1987, 60p.
- TRESEDER, K.K.; TURNER, K.M. Glomalin in Ecosystems. *Science Society American Journal*, 71: 1257-1266, 2007.
- TRESEDER, K.K.; CROSS, A. Global Distributions of Arbuscular Mycorrhizal Fungi. *Ecosystems*, 9: 305-316, 2006.
- VAN RAIJ, B. Mecanismos de interação entre solos e nutrientes. In: VAN RAIJ, B. (ed.). Avaliação da fertilidade do solo. Piracicaba, Instituto da Potassa e Fosfato, 1981, 17-31p.
- VIERHEILIG, H.; COUGHLAN, A.P.; WYSS, U.; PICHÉ, Y. Ink and vinegar, a simple technique for arbuscular mycorrhizal fungi. *Applied and Environmental Microbiology*, 64: 5004-5007, 1998.
- XAVIER, F.A.S.; ALMEIDA, E.F.; CARDOSO, I.M.; MENDONÇA, E.S. Soil phosphorus distribution in sequentially extracted fractions in tropical coffee-agroecosystems in the Atlantic Forest biome, Southeastern Brazil. *Nutrient Cycling Agroecosystems*, 5: 1-14, 2010.



- WRIGHT, S.F. GREEN, V.S.; CAVIGELLI, M.A. Glomalin in aggregate size classes from three different farming systems. *Soil & Tillage Research*, 94: 546–549, 2007.
- WRIGHT, S.F.; STARR, J.L.; PALTINEANU, I.C. Changes in aggregate stability and concentration of glomalin during tillage management transition. *Soil Science Society. American Journal*, 63: 1825-1829, 1999.
- WRIGHT, S.F.; UPADHYAYA. A. Extraction of an abundant and unusual protein from soil and comparison with hyphal protein of arbuscular mycorrhizal fungi. *Soil Science*, 161: 575–586, 1996.
- ZHU, Y.G.; MILLER, R.M. Carbon cycling by arbuscular mycorrhizal fungi in soil-plant systems. *Trends in Plant Science*, 8: 407-409, 2003.

## CAPÍTULO 6

### **Rede micelial de micorrizas e a troca de sinais que induzem a defesa entre plantas:**

#### **Um ensaio metodológico**

**Resumo** - Os fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) formam uma rede micelial no solo que pode ser um canal de troca de informações entre plantas conectadas. Objetivou-se, neste estudo, ajustar uma metodologia para demonstrar que plantas conectadas por hifas de FMAs trocam sinais via rede micelial, que induz a defesa indireta da planta contra o ataque de herbívoros. Para tanto, foi elaborado um sistema de vaso duplo conectado, em que se estabeleceram dois compartimentos isolados, onde o único contato entre as plantas foi através das hifas externas dos FMAs. Em seguida, foi determinada pelo teste de escolha a resposta do *Phytoseiulus persimilis* a duas fontes simultâneas de odores de plantas com ou sem ácaros (*Tetranychus urticae*), micorrizadas ou não. Nos testes de escolha, utilizou-se o olfatômetro com o tubo em Y. Os dados foram analisados no Modelo Linear Generalizado (GLM) com a distribuição de Poisson, com a fonte de odor e a repetição como fatores, bem como suas interações. O modelo foi sequencialmente simplificado usando a remoção dos fatores e interações não significativas, com o objetivo de obter um modelo mínimo adequado. Os ensaios contendo apenas uma repetição foram submetidos ao teste binomial. A técnica do vaso duplo conectado é adequada para observar a indução de defesa indireta em plantas conectadas via rede micelial dos FMAs. Além da troca de sinais via rede micelial, parece haver troca de sinais através dos exsudados radiculares.

**Palavras chave:** Inimigos naturais, micorrizas arbusculares (MAs), controle biológico

## 6.1 Introdução

As plantas interagem simultaneamente com múltiplos organismos no ambiente em que vive, tanto acima quanto abaixo do solo (Whitfield, 2007) e possuem diversos mecanismos para responder a mudanças bióticas e abióticas do ambiente (Dicke et al., 2003). O ataque de patógenos ou pragas, por exemplo, pode ativar um efetivo sistema de defesa que se baseia na combinação de defesas constitutivas (parede celular) e induzidas, que são acionadas após a injúria (Jung et al., 2009). No caso da última, a defesa pode ser transmitida a plantas vizinhas através de sinais químicos (Agrawal, 2000; Shulaev et al., 1997). A tradução das informações vindas das plantas vizinhas promove na planta receptora, mesmo antes do ataque, a produção e aumento na concentração de compostos tóxicos e repelentes na folha (defesa direta) ou promove a atração de inimigos naturais, através da liberação de compostos voláteis no ambiente (defesa indireta) (Bruin et al., 1995; Baldwin et al., 2006). A emissão de voláteis químicos tem sido referida como a habilidade das plantas em “falar” para emitir a informação de possível ataque (Dicke et al., 2003).

Na maioria dos estudos, a comunicação via atmosfera é considerada o principal meio para a troca de informação entre plantas (Dicke et al., 2003; Karban et al., 2006; Peng et al., 2005), porém a transmissão dos sinais químicos através desse meio pode estar sujeita a interferências, como às condições atmosféricas e as restrições físicas. Nesse sentido, a associação das plantas com os fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) pode representar uma linha estável de comunicação entre as diferentes espécies vegetais (Whitfield, 2007). Diversos trabalhos têm demonstrado, tanto em campo quanto em condições controladas, a existência e a funcionalidade desta rede de hifas, formada pelo micélio externo dos FMAs (Dolch & Tschamtkke, 2000; Tschamtkke et al., 2001). A baixa especificidade desses fungos em se associarem com seus hospedeiros é o principal argumento para a formação das conexões miceliais que interligam as plantas (Selosse et al., 2006). Essas conexões são canais de transferência de fotoassimilados, água e nutriente, resultando em implicações ecológicas de importância ainda pouco estudadas (Rillig et al., 1999; Simard & Dural, 2004; Selosse et al., 2006), mas também, podem trocar sinais de alerta que ativam os sistemas de defesa da planta (Song et al., 2010). Esse efeito pode ser fundamental para manutenção de comunidades de espécies vegetais, em que a transmissão desses sinais pode ser compartilhada entre os indivíduos da comunidade, potencializando ou amplificando o alcance do sinal, refletindo no

aumento da liberação de compostos voláteis e na atração mais eficiente de inimigos naturais.

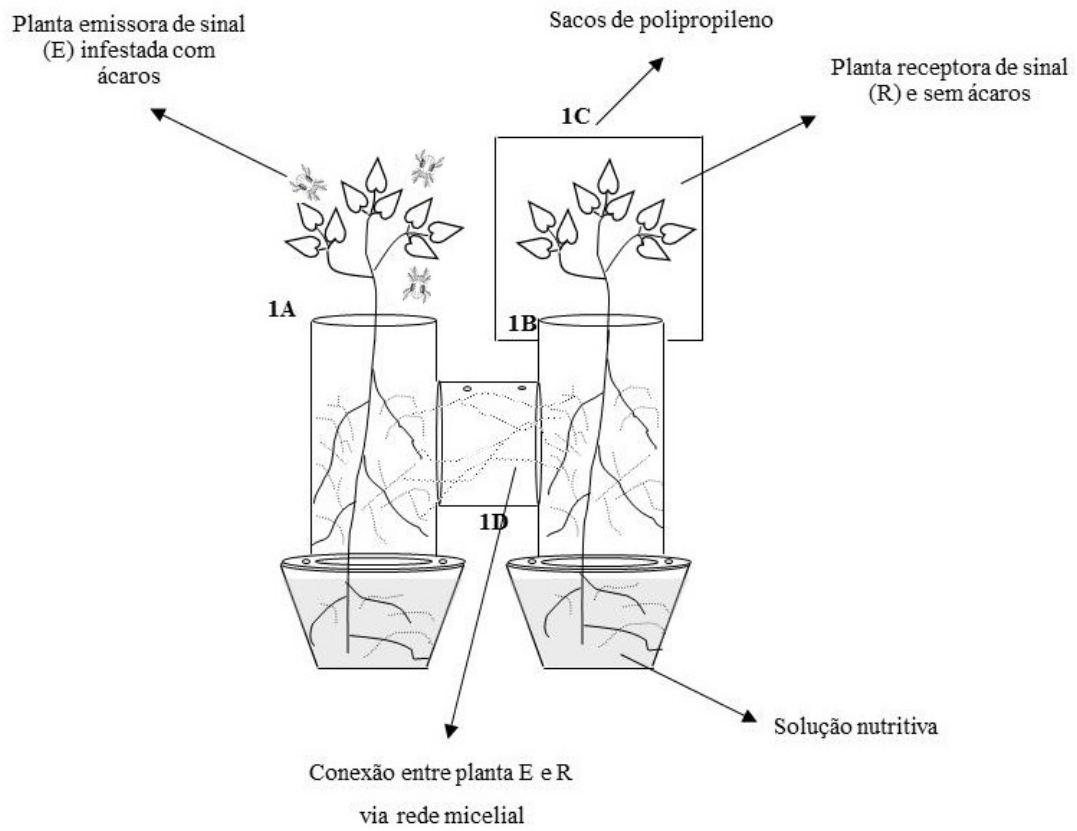
Além da contribuição na defesa da planta via transferência de sinais, a colonização do sistema radicular das plantas com os FMAs também parece conferir maior tolerância ao ataque de herbívoros (Hoffmann et al., 2009; 2011; Nishida et al., 2010), devido ao fato das micorrizas proporcionarem melhor nutrição mineral às plantas, que fornecem aos herbívoros um alimento mais rico, tornando esses indivíduos maiores, mais nutritivos e mais atrativos para os predadores (Bennett et al., 2009; Hoffmann et al., 2009; 2011). De acordo com Guerrieri et al. (2004), plantas micorrizadas apresentaram maior atratividade para parasitoides (*Aphidius ervi*) de afídeos (*Macrosiphum euphorbiae*), em comparação com aquelas não micorrizadas. Entretanto, outros estudos afirmam que a associação micorrízica reduz a população de herbívoros na planta (Gange et al. 2003; Hempel et al. 2009). A controvérsia encontrada nesses estudos pode ser atribuída à associação da planta com diferentes espécies dos FMAs, pois a associação com determinada espécie desse fungo está relacionada ao retorno nutricional que o mesmo proporciona a planta, principalmente no que diz respeito ao fornecimento de fósforo (Kiers et al., 2011).

Desse modo, as micorrizas são chaves nas relações que ocorrem no solo e podem ser essenciais para funcionamento dos ecossistemas, determinando a diversidade de plantas e a resiliência dos agroecossistemas terrestres (Van der Heijden & Scheublin, 2007). Logo, a comprovação da transferência de sinais que ativa a defesa das plantas conectadas via rede micelial (Song et al., 2010) é importante na compreensão dos processos envolvidos no controle biológico de pragas, compreensão esta necessária no desenho e manejo de agroecossistemas sustentáveis. Com esse estudo objetivou-se demonstrar através de experimentação, a conexão entre plantas por hifas dos FMAs e a possibilidade de transferência de sinal entre plantas, que induzem a defesa indireta contra o ataque de herbívoros.

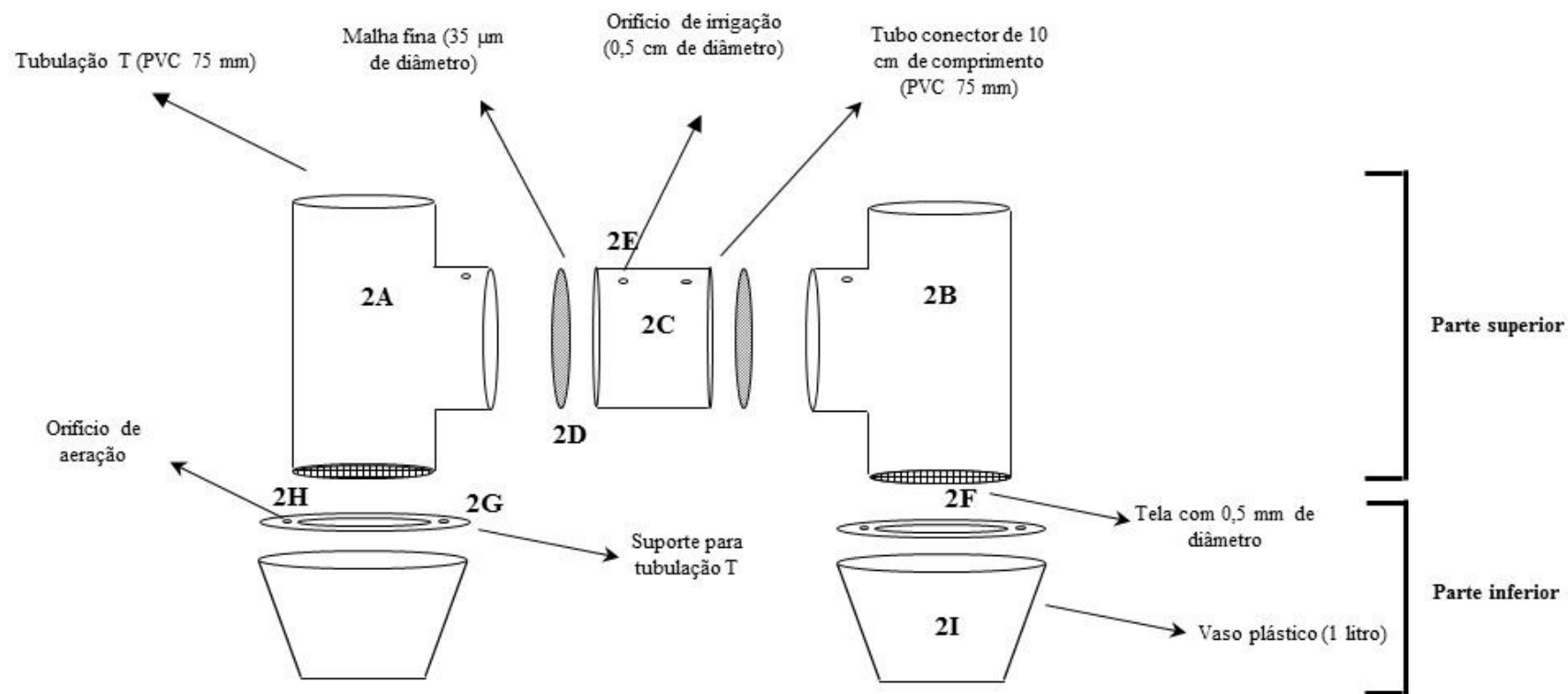
## **6.2 Material e Métodos**

### **6.2.1 Vasos duplos conectados**

Utilizou-se o sistema de vasos duplos conectados (Figura 1) cujos componentes foram apresentados, com mais detalhes, na Figura 2. Para melhor compreensão do sistema, o mesmo foi dividido em duas partes, definidas como superior e inferior.



**Figura 1.** Ilustração geral do sistema de vaso duplo conectado.



**Figura 2.** Ilustração detalhada do sistema de vaso duplo conectado.

### **6.2.1.1 Parte superior do vaso duplo conectado**

Os vasos superiores foram constituídos por duas tubulações tipo T de PVC de 75 mm de diâmetro (Figura 2A e 2B), interligadas por um tubo de PVC (75 mm) de 10 cm de comprimento (Figura 2C). Nas extremidades do tubo de 10 cm, foi colocada uma malha fina de 35 µm de abertura, com intuito de restringir a passagem das raízes (Figura 2D). E ainda, nestes foram posicionados orifícios de irrigação com 0,5 cm de diâmetro (Figura 2E). Todo o sistema foi preenchido com 1,2 kg de areia lavada e esterilizada, e, para evitar a passagem da areia para parte inferior do vaso duplo conectado, foi colocada uma malha grossa de 0,5 mm de diâmetro, na extremidade inferior das tubulações tipo T (Figura 2F).

### **6.2.1.2 Parte inferior do vaso duplo conectado**

A parte inferior foi constituída pelo suporte das tubulações tipo T (Figura 2G), com orifícios de aeração (Figura 2H) e vasos plásticos de 1000 ml, onde foi adicionada a solução nutritiva (Figura 2I).

### **6.2.2 Solução nutritiva**

Nos potes de 1000 mL (Figura 2I) foram adicionados 800 mL de solução nutritiva. A concentração da solução nutritiva ( $\text{mg L}^{-1}$ ) foi a seguinte: Ca ( $\text{NO}_3$ )<sub>2</sub>.4H<sub>2</sub>O (354), KNO<sub>3</sub> (101), NH<sub>4</sub>H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (37), MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O (185), KCl (149), NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub> (69), Fe-EDTA (35), H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> (2,86), MnCl<sub>2</sub>.4H<sub>2</sub>O (1,81), CuSO<sub>4</sub>.5H<sub>2</sub>O (0,16), ZnSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O (0,22), (NH<sub>4</sub>)<sub>6</sub>Mo<sub>7</sub>O<sub>24</sub>.4H<sub>2</sub>O (0,04). Esta foi renovada duas vezes por semana.

### **6.2.3 Experimento preliminar**

Para avaliar a funcionalidade do sistema proposto, principalmente no que diz respeito ao tempo necessário para o estabelecimento da rede micelial, instalou-se um experimento preliminar em casa de vegetação. Em um dos compartimentos (uma das tubulações tipo T dos vasos duplos conectados, Figura 2A) foi adicionado o inóculo. Aos 5, 10, 15, 20, 25 e 30 dias após a germinação das sementes, avaliou-se a presença de estruturas características dos FMAs nas raízes das plantas de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.), no compartimento que não recebeu o inóculo (Figura 2B), e

ainda, foi calculado a distância média percorrida pela hifa dos FMAs, de acordo com a fórmula:

$$\text{Distância percorrida pela hifa dos FMAs (cm dia}^{-1}\text{)} = \frac{\text{Colonização de compartimento oposto ao inoculado com os FMAs (dias)}}{\text{Distância entre compartimentos (cm)}}$$

Para evidenciar essas estruturas, os fragmentos de raiz sofreram clareamento pelo aquecimento em solução de KOH a 10%. Em seguida, foram coradas de acordo com a metodologia adaptada por Vierheilig et al. (1998). A quantificação foi realizada pelo método da interseção, onde se observou a presença de estruturas fúngicas na região do córtex radicular, com auxílio de um microscópio estereoscópico (Giovanetti & Mosse, 1980). Os testes foram realizados em duplicata e em cada tempo foi adicionado um controle, o qual não recebeu inóculo micorrízico.

#### **6.2.4 Transferência de sinais**

O experimento foi conduzido em câmara climatizada (25°C e 70% UR), com fotoperíodo de 16 horas de luz. A espécie utilizada no experimento foi o feijão (*Phaseolus vulgaris* L.). As sementes foram esterilizadas superficialmente com hipoclorito de sódio (1%) por três minutos (Nishida et al., 2010). Após essa etapa, foram colocadas oito sementes por sistema de vaso duplo conectado, sendo quatro em cada tubulação tipo T. No décimo dia após a germinação, realizou-se o desbaste, deixando duas plântulas por compartimento.

A irrigação foi realizada diariamente com 100 mL de água, sendo 20 mL desse volume aplicado no orifício de irrigação (Figura 2E). A umidade do sistema foi mantida a 80% da capacidade de campo.

#### **6.2.5 Inoculação micorrízica**

Adicionou-se 10 g de uma mistura das espécies *Glomus etunicatum*, *G. intraradices* e *G. claroideum* com 700 unidades formadoras de micorrizas por grama de inóculo (Inoq® Top Endo-Mycorrhiza – Servaplant). Nos tratamentos com micorrizas, o inóculo foi adicionado nos dois lados do vaso duplo conectado, de acordo com a definição dos tratamentos. As parcelas não inoculadas receberam 10 g do inóculo esterilizado (121°C por 20 minutos) e 15 mL do lixiviado do mesmo (Cardoso et al., 2004). Optou-se por fazer a inoculação nos dois compartimentos do



vaso duplo conectado, já que encontro das hifas culmina na fusão das mesmas. Com o crescimento da hifa nos dois sentidos reduz-se a distância a ser percorrida pelas hifas e, com isso, reduz-se também o tempo para o estabelecimento da conexão entre as plantas (Jakobsen, 2004).

Ao final do período experimental, em algumas amostras do compartimento conector dos vasos duplos (Figura 2C) foi realizado a análise de extração e quantificação do micélio externo dos FMAs de acordo com a metodologia de Boddington et al. (1999).

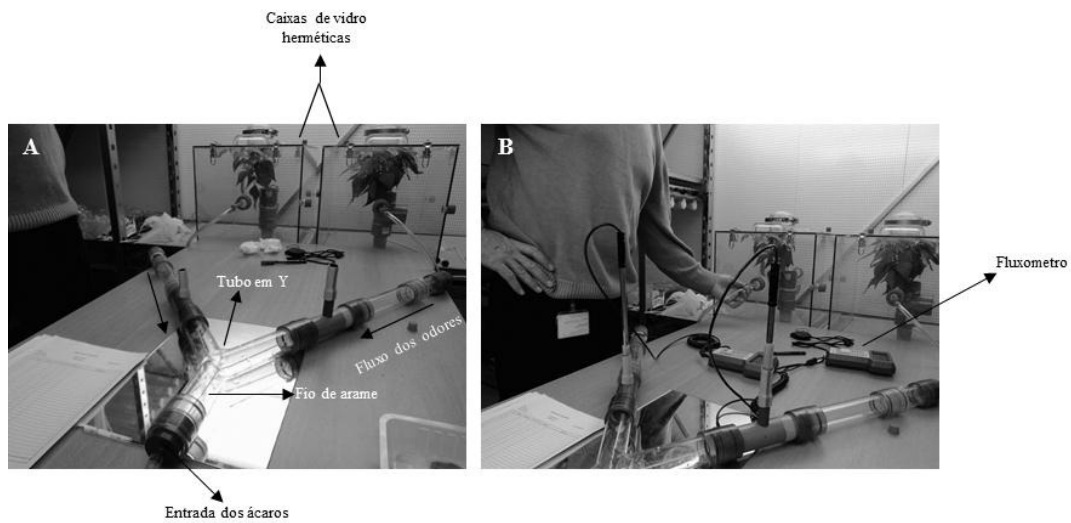
Os tratamentos foram  $(2 \times 2) \times 4$ , sendo duas plantas com micorriza ( $M^+$ ) e sem micorrizas ( $M^-$ ) e duas plantas com ácaros ( $A^+$ ) e sem ácaros ( $A^-$ ), totalizando quatro combinações  $M^+A^+$ ,  $M^+A^-$ ,  $M^-A^+$ ,  $M^-A^-$ , com quatro repetições.

### 6.2.6 Teste do olfatômetro

No trigésimo dia após a germinação das sementes, adicionou-se 150 fêmeas de *Tetranychus urticae* (ácaro herbívoro) em uma das plantas do vaso duplo conectado (Figura 1A). Estas plantas foram denominadas “plantas emissoras do sinal”. Os ácaros herbívoros ficaram em contato com as plantas emissoras por 72 horas. As plantas receptoras do sinal no compartimento adjacente do vaso duplo conectado (Figura 1B) foram isoladas com saco plástico de politereftalato de etileno (PET, Figura 1C) (Stewart-Jones & Poppy, 2006). Nos sacos plásticos contendo as plantas receptoras promoveu-se a circulação forçada de ar, através da injeção de ar com um compressor e orifícios de saída. Após as 72 horas, avaliou-se no olfatômetro Y (Sabelis & van Baan, 1983; Janssen et al., 1999) a atratividade das plantas, isoladas pelo PET, ao ácaro predador *Phytoseiulus persimilis*.

O olfatômetro é formado por um tubo de vidro em forma de Y (27 cm comprimento e 3,5 cm de diâmetro), com um fio de arame fino no seu interior, por onde o ácaro movimentou-se. Ao final de cada haste similar do tubo em Y, conectou-se uma mangueira que levava a uma câmara dividida em dois compartimentos isolados um do outro. Em cada compartimento, foi colocado uma planta a ser testada (consideradas fontes simultâneas de odores). A base do tubo foi conectada a uma bomba de ar que produziu um fluxo de ar dos braços para a base. O fluxo de ar de ambos os braços foi mensurado e calibrado com auxílio de válvulas e fluxômetros. Quando a velocidade do ar em ambos os braços foi igual ( $0,47 \text{ m s}^{-1}$ ), os odores

formaram dois campos separados na base do tubo em Y (Figura 3, Sabelis & van Baan, 1983).



**Figura 3.** Componentes do olfatômetro (A) e calibração do fluxo de ar no sistema (B).

O teste de atratividade foi determinado pela escolha do ácaro predador *P. persimilis* por uma das duas fontes simultâneas de odores de plantas. Os testes foram realizados utilizando os pares de plantas sem ácaros ou com ácaros (*T. urticae*), micorrizadas ou não micorrizadas. Os testes realizados foram:  $M^+A^-$  versus  $M^+A^+$  (teste A);  $M^-A^+$  versus  $M^+A^+$  (teste B),  $M^-A^-$  versus  $M^+A^-$  (teste C),  $M^-A^-$  versus  $M^-A^+$  (teste D) e  $M^-A^-$  versus  $M^+A^+$  (teste E). Assim, todas as combinações possíveis foram testadas, mas duas a duas.

Para realizar o teste, 20 ácaros predadores (*P. persimilis*), um de cada vez, foi colocado sobre o arame ao final da haste simples do tubo em Y. Cada ácaro decidiu qual a direção seguir (em direção a uma ou outra planta). Observou-se o comportamento de cada ácaro predador até o final dos braços do tubo em Y. Os ácaros que não chegaram ao final do percurso em cinco minutos foram retirados e substituídos por outro, até totalizar 20 ácaros que tenham chegado ao final do tubo (Figura 3). Os testes (preferência de 20 ácaros predadores para cada conjunto) A, B e C foram repetidos apenas uma vez. O teste D foi repetido duas vezes e o teste E três vezes. Cada teste deveria ter sido repetido pelo menos quatro vezes. Foi observado a micorrização ou não das plantas, seguindo procedimento descrito anteriormente.

### 6.2.7 Análise estatística

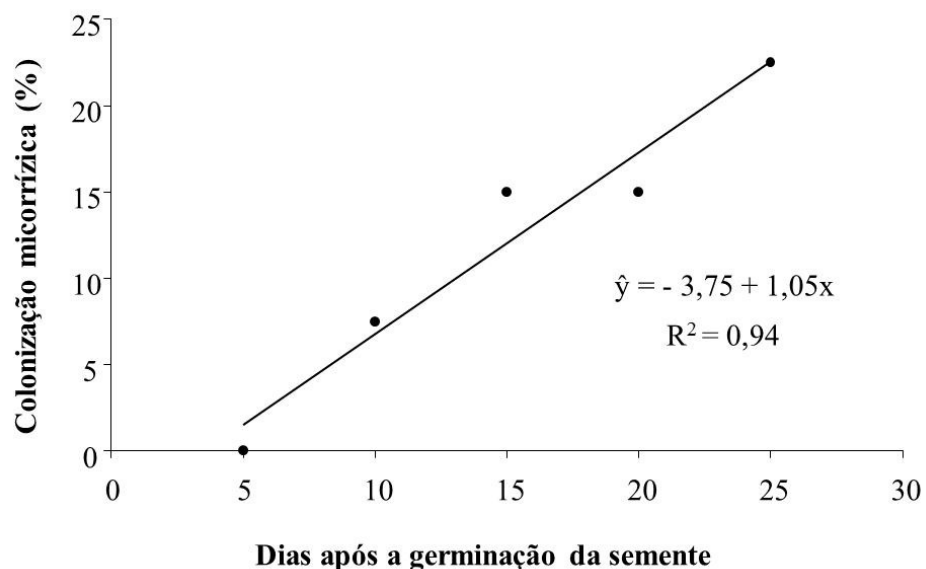
Os dados foram analisados no Modelo Linear Generalizado (GLM) com a distribuição de Poisson (Crawley, 2007), com a fonte de odor e a repetição como fatores, bem como suas interações. O modelo foi sequencialmente simplificado, usando a remoção dos fatores e interações não significativas, com objetivo de obter um modelo mínimo adequado (Crawley, 2007). E, ainda, os ensaios, contendo apenas uma repetição, foram submetidos ao teste binomial.

## 6.3 Resultados

### 6.3.1 Experimento preliminar

A taxa de colonização micorrízica, do compartimento oposta a que recebeu a inoculação, aumentou linearmente, com aumento dos dias, após a emergência das sementes, sendo que, aos 25 dias, essa taxa foi de 22,5% (Figura 4).

A distância percorrida pelas hifas foi de aproximadamente 10 cm em 25 dias ou 0,4 cm dia<sup>-1</sup>, uma vez que os dois sistemas radiculares foram separados por telas (ver Figura 2).

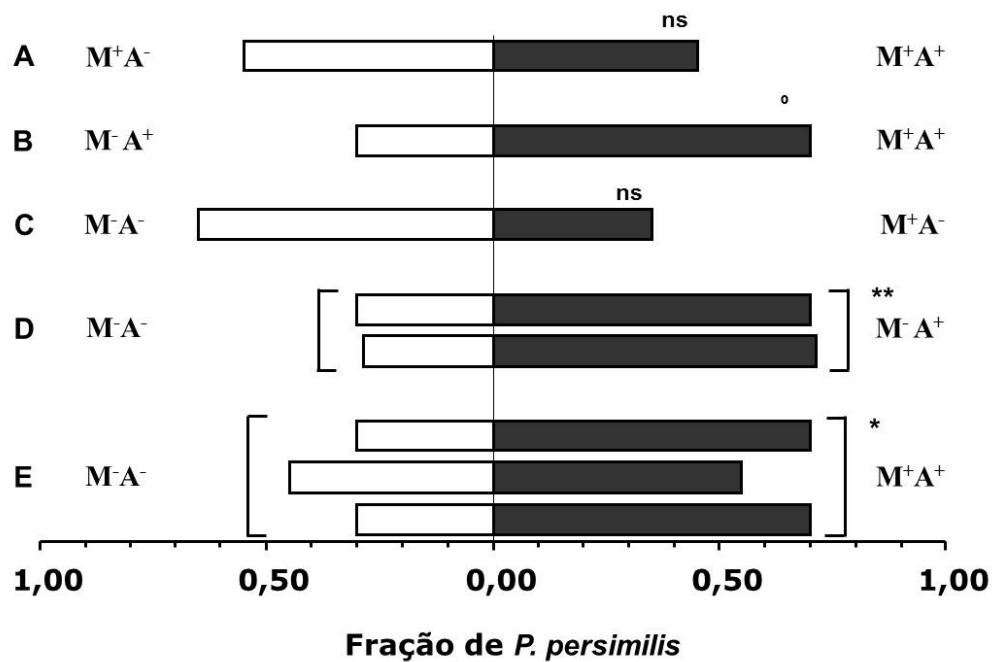


**Figura 4.** Percentagem de colonização micorrízica após a germinação da semente de *phaseolus vulgaris* em experimento conduzido em condições controladas.

### 6.3.2 Experimento principal

Todas as raízes das plantas de feijão que receberam inoculação estavam colonizadas, mas como baixa colonização. Entretanto, a percentagem de colonização não foi determinada. No tubo conector (Figura 2C) entre os dois compartimentos do vaso duplo observou-se apenas a presença de hifas dos FMAs.

Na Figura 5, encontra-se o resultado dos testes (A, B, C, D e E) realizados no olfatômetro.



**Figura 5.** Escolha de fêmeas *Phytoseiulus persimilis* quando oferecidos voláteis de plantas de feijão micorrizadas (M<sup>+</sup>) e não micorrizadas (M<sup>-</sup>), sem ácaros (A<sup>-</sup>) ou infestadas com *Tetranychus urticae* (A<sup>+</sup>). As barras seguidas por “0” são significativas a 10%, “e” por e “ns” não significativa pelo teste Binomial; aquelas seguidas por “\*” são significativas a 5% e “\*\*” a 1% pelo teste Chi<sup>2</sup>. Frações referem-se a relação da quantidade de ácaro que escolheu um ou outra planta em relação ao total de ácaros testados (=20).

No teste A, observou-se que não houve diferença estatística na atratividade dos ácaros predadores pelas plantas micorrizadas atacadas ou não com ácaros herbívoros. Todavia, no teste B verificou-se que as plantas associadas micorrizadas, quando atacadas por ácaros herbívoros, foram mais atrativas (Binomial, p=0,058) para os ácaros predadores. No caso do teste C, a presença das micorrizas nas

plantas não atacadas por ácaros herbívoros não mostrou efeito sob a atratividade dos ácaros predadores (Figura 5C).

As plantas não micorrizadas e com ácaros herbívoros mostraram-se mais atrativas para os ácaros predadores (teste D,  $\text{Chi}^2 = -7,27$ ;  $p > 0,007$ ), assim como as plantas micorrizadas e atacadas por ácaros herbívoros, onde a atratividade para os ácaros predadores foi maior do que aquelas não micorrizadas e sem ácaros herbívoros (teste E,  $\text{Chi}^2 = -5,48$ ;  $p > 0,019$ ).

## **6.4 Discussão**

### **6.4.1 Experimento preliminar**

As plantas estabeleceram conexão via rede micelial entre os dois compartimentos do VDC, em 25 dias após a emergência. A conexão entre as plantas foi comprovada, pois houve raízes de feijão colonizadas pelos fungos micorrízicos arbusculares (FMAs), no compartimento oposto aquele onde se adicionou o inóculo. O tempo e a distância percorrida pelas hifas neste estudo estão de acordo com trabalhos da literatura (Moreira & Siqueira, 2006), portanto, esses são suficientes para que ocorra o estabelecimento da associação, o crescimento e ramificação das hifas externas no solo. A colonização micorrízica das raízes do feijoeiro foi considerada baixa. Al-Askar & Rashad (2010) observaram uma taxa de colonização nas raízes dessa espécie de aproximadamente 73%, em 49 dias após a semeadura. A explicação para a baixa colonização pode estar no curto tempo de desenvolvimento do experimento, insuficiente para uma maior colonização radicular. Segundo Silveira & Cardoso (2004), a taxa de colonização micorrízica do feijoeiro foi de 24%, aos 35 dias após a semeadura, e de 70%, aos 50 dias.

### **6.4.2 Experimento principal**

A colonização micorrízica das plantas de feijão foi suficiente para observar diferenças entre plantas micorrizadas e não micorrizadas.

Nos testes de preferência, utilizando o olfatômetro, as plantas micorrizadas com ou sem ácaros herbívoros foram igualmente atraídas pelos ácaros predadores (testes A). Isso indica que nas plantas micorrizadas os danos causados por esses herbívoros são menores, sendo menos atrativas para os ácaros predadores que não conseguem distinguir entre plantas com ácaro e aquelas sem. Isso porque as

micorrizas podem alterar a composição química das folhas, ocasionando, segundo alguns autores, uma menor herbivoria (Bennett & Bever 2007; Gange et al., 2003; Hempel et al. 2009) e, segundo outros autores, maior herbivoria (Guerrieri et al., 2004; Hoffmann et al., 2009). A menor ou maior herbivoria depende do grau de especificidade entre planta e herbívoro, sendo que as micorrizas podem proporcionar efeito positivo ou negativo sob à população dos herbívoros (Gange et al., 2003). Os herbívoros generalistas são afetados negativamente, enquanto os especialistas são beneficiados pelas micorrizas (Borowicz 1997; Gange & West 1994; Goverde et al. 2000; Rabin & Pacovsky 1985). Isso porque as plantas colonizadas com os FMAs produzem compostos químicos nas folhas, em particular a aucubina e o catalpol, os quais têm efeito negativo sob os herbívoros generalistas e são importantes componentes da alimentação dos herbívoros especialistas (Gange et al., 2002). Os resultados encontrados no presente estudo parecem corroborar com esses estudos, pois no teste A (Figura 5) o ataque dos ácaros generalistas *T. urticae* nas plantas micorrizadas não as fizeram mais atrativas para ácaros predadores, em comparação com as plantas sem o ácaro herbívoro. Entretanto, esse efeito das MAs sobre os ácaros herbívoros parece depender da espécie desse fungo, que coloniza o sistema radicular da planta. As plantas colonizadas com *Gigaspora margarita*, por exemplo, apresentaram menor quantidade de ovos de ácaros herbívoros do que aquelas colonizadas por *Glomus etunicatum* e *Glomus intraradices* (Nishida et al., 2010).

Os resultados evidenciaram que na presença de ácaros herbívoros, as plantas micorrizadas são mais atrativas do que aquelas não micorrizadas (teste E), talvez porque em plantas micorrizadas a eficiência da predação aumenta, pois as micorrizas melhoram a qualidade nutricional das plantas, que por consequência melhora a qualidade nutricional dos herbívoros, tornando-os mais atrativos para os predadores (Bennett et al., 2006; Hoffmann et al., 2011). Além disso, as micorrizas podem proporcionar alterações na defesa da planta e ocasionar profundos efeitos na dinâmica da interação planta-herbívoro (Bennett et al., 2006). Podem, ainda, amplificar a eficiência da defesa indireta da planta, pois aumenta a percepção dos inimigos naturais. Assim, mesmo quando em baixa densidade, os herbívoros serão percebidos pelos inimigos naturais (Guerriri et al., 2004). Entretanto, o efeito das MAs é dependente da intensidade da indução de defesa pelos ácaros herbívoros (Nishida et al., 2010).

O sistema de sinalização da planta foi ativado pelos herbívoros e não pelas micorrizas, já que a colonização micorrízica das plantas não promoveu a atração dos ácaros predadores (testes C), mas sim a presença dos herbívoros (testes D), corroborando com o estudo de Mohr et al. (1998), que afirmam que os fungos micorrízicos podem suplantam as defesas dos seus hospedeiros. Entretanto, esses fungos, ao colonizarem as plantas, podem promover significativas alterações nos compostos químicos foliares (Smith & Read, 2008), proporcionando modificações no desempenho dos herbívoros (Gange et al., 2003).

A maior atração dos ácaros predadores pelas plantas não micorrizadas e com ácaros herbívoros do que por aquelas sem ácaros herbívoros (testes D) indica que a técnica do vaso duplo conectado permite que as plantas troquem sinais, sem a presença da hifa fúngica, possivelmente através de exsudados radiculares liberados na solução do solo, como relatado por alguns autores (Dicke & Dijkman, 2001; Guerrieri et al., 2002). Entretanto, esses sinais, assim como observado por Song et al. (2010), foram transmitidos também via rede micelial provocando a indução da defesa das plantas, como evidenciados pelos testes B e E (Figura 5).

Apesar da coerência com a literatura, os resultados aqui apresentados não são conclusivos, isso porque os ensaios A, B, C e D não foram realizados com um número adequado de repetições. O experimento foi montado na Universidade de Amsterdam e o período permitido de permanência do autor na Holanda, assim como problemas que levaram ao atraso da montagem do experimento impediram a realização de todas as repetições.

## **6.5 Conclusão**

A técnica do vaso duplo conectado é adequada para observar a transferência de sinais químicos via rede micelial dos FMAs, que culmina na indução de defesa indireta nas plantas receptoras, apesar da possível troca de sinais através dos exsudados radiculares. A rede micelial formada entre as plantas parece potencializar a troca de sinais, proporcionando maior atratividade dos inimigos naturais.

## **6.6 Referências**

AGRAWAL, A.A. Communication between plants: this time it's real. *Trends in Ecology Evolution*, 15: 446, 2000.

- AL-ASKAR, A.A.; RASHAD, Y.M. Arbuscular mycorrhizal fungi: A biocontrol agente against common bean *Fusarium* root rot disease. *Plant Pathology Journal*, 9: 31-38, 2010.
- BALDWIN, I.T.; HALITSCHKE, R.; PASCHOLD, A.; VON DAHL, C.C.; PRESTON, C.A. Volatile signaling in plant-plant interactions: “talking trees” in the genomics era. *Science*, 311: 812–815, 2006.
- BENNETT, A.E.; BEVER, J.D.; BOWERS, M.D. Arbuscular mycorrhizal fungal species suppress inducible plant responses and alter defensive strategies following herbivory. *Oecologia*, 160: 771–779, 2009.
- BENNETT, A.E.; BEVER, J.D. Mycorrhizal species differentially alter plant growth and response to herbivory. *Ecology*, 88: 210–218, 2007.
- BENNETT, A.E.; ALERS-GARCIA, J.; BEVER, D.J. Three-Way Interactions among Mutualistic Mycorrhizal Fungi, Plants, and Plant Enemies: Hypotheses and Synthesis. *The American Naturalist*. 167: 141-152, 2006.
- BODDINGTON, C.L.; BASSETT, E.E.; JAKOBSEN, I.; DODD, J.C. Comparison of techniques for the extraction and quantification of extra-radial mycelium of arbuscular mycorrhizal fungi soils. *Soil Biology and Biochemistry*, 31: 479-482, 1999.
- BOROWICZ, V.A.A. Fungal root symbiont modifies plant resistance to an insect herbivore. *Oecologia*, 112: 534–542, 1997.
- BRUIN, J. SABELIS, M.W.; DICKE, M. Do plants tap SOS signals from their infested neighbours? *Trends in Ecology & Evolution*, 10: 167–170, 1995.
- CARDOSO, I.M.; BODDINGTON, C.L.; JANSSEN, B.H.; OENEMA, O.; KUYPER, T.W. Double pot and double compartment: Integrating two approaches to study nutrient uptake by arbuscular mycorrhizal fungi. *Plant and Soil*, 260: 301–310, 2004.
- CRAWLEY, M.J. *The R book*. JOHN WILEY & SONS, Chichester, UK, 2007, 877p.
- DICKE, M.; AGRAWAL, A.A.; BRUIN, J. Plants talk, but are they deaf? *Trends Plant Science*, 8: 403–405, 2003.
- DICKE, M.; DIJKMAN, H. Within-plant circulation of systemic elicitor of induced defence and release from roots of elicitor that affects neighbouring plants. *Biochemical Systematics and Ecology*, 29: 1075–1087, 2001.
- DOLCH, R.; TSCHARNTKE, T. Defoliation of alders (*Alnus glutinosa*) affects herbivory by leaf beetles on undamaged neighbours. *Oecologia*, 125: 504–511, 2000.
- GANGE, A.C.; BROWN, V.K.; APLIN, D.M. Multitrophic links between arbuscular mycorrhizal fungi and insect parasitoids. *Ecology Letter*, 6: 1051–1055, 2003.
- GANGE, A.C.; STAGG, P.G.; WARD, L.K. Arbuscular mycorrhizal fungi affect phytophagous insect specialism. *Ecology Letter*, 5: 11–15, 2002.
- GANGE A. C.; WEST H. M. Interactions between arbuscular mycorrhizal fungi and foliar-feeding insects in *Plantago lanceolata* L. *New Phytologist*, 128:79–87, 1994.
- GIOVANETTI, M.; MOSSE, B. An evaluation of techniques for measuring vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi infection in roots. *New Phytologist*, 84: 489-500, 1980.



- GOVERDE M.; VAN DER HEIJDEN M.G.A., WIEMKEN A.; SANDERS I.R.; ERHARDT A. Arbuscular mycorrhizal fungi influence life history traits of a lepidopteran herbivore. *Oecologia*, 125: 362–369, 2000.
- GUERRIERI, E.; LINGUA, G.; DIGILIO, M.C.; MASSA, N.; BERTA, G. Do interactions between plant roots and the rhizosphere affect parasitoid behaviour? *Ecological Entomology*, 29: 753–756, 2004.
- GUERRIERI, E.; POPPY, G.M.; POWELL, W.; RAO, R.; PENNACCHIO, F. Plant-to-plant communication mediating in-flight orientation of *Aphidius ervi*. *Journal of Chemical Ecology*, 28: 1703–1715, 2002.
- HEMPEL, S.; STEIN, C.; UNSICKER, S.; RENKER, C.; AUGÉ, H.; WEISSER, W.; BUSCOT, F. Specific bottom-up effects of arbuscular mycorrhizal fungi across a plant–herbivore–parasitoid system. *Oecologia*, 160: 267–277, 2009.
- HOFFMANN, D.; VIERHEILIG, H.; SCHAUSBERGER, P. Mycorrhiza-induced trophic cascade enhances fitness and population growth of an acarine predator. *Oecologia*, 166: 141–149, 2011.
- HOFFMANN, D.; VIERHEILIG, H.; SCHAUSBERGER, P. Arbuscular mycorrhizal symbiosis increases host plant acceptance and population growth rates of the two-spotted spider mite *Tetranychus urticae*. *Oecologia*, 58: 663–671, 2009.
- JAKOBSEN, I. Hyphal fusion to plant species connections – giant mycelia and community nutrient flow. *New Phytologist*, 164: 1–4, 2004.
- JANSSEN, A. PALLINI, A.; VENZON, M.; SABELIS, M.W. Absence of odour-mediated avoidance of heterospecific competitors by predatory mite *Phytoseiulus persimilis*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 92: 73–82, 1999.
- JUNG, H.W.; TSCHAPLINSKI, T.J.; WANG, L.; GLAZEBROOK, J.; GREENBERG, J. T. Priming in systemic plant immunity. *Science*, 324: 89–91, 2009.
- KARBAN, R.; SHIOJIRI, K.; HUNTZINGER, M.; MCCALL, A.C. Damage-induced resistance in sagebrush: volatiles are key to intra- and interplant communication. *Ecology*, 87: 922–930, 2006.
- KIERS, E.T.; DUHAMEL, M.; BEESETTY, Y.; MENSAH, J.A.; FRANKEN, O.; VERBRUGGEN, E.; FELLBAUM, C.R.; KOWALCHUK, G.A.; HART, M.M.; BAGO, A.; PALMER, T.M.; WEST, S.A.; VANDENKOORNHUYSE, P.; JANSÁ, J.; BÜCKING, H. Reciprocal rewards stabilize cooperation in the mycorrhizal symbiosis. *Science*, 333 :880–882, 2011.
- MOREIRA, F.M.S.; SIQUEIRA, J.O. *Microbiologia e Bioquímica do Solo*. Lavras: UFLA, 2006, 729p.
- MOHR, U.; LANGE, J.; BOLLER, T.; WIEMKEN, A.; VOGELI-LANGE, R. Plant defence genes are induced in the pathogenic interaction between bean roots and *Fusarium solani*, but not in the symbiotic interaction with the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus mosseae*. *New Phytologist*, 138: 589–598, 1998.
- NISHIDA, T.; KATAYAMA, N.; IZUMI, N.; OHGUSHI, T. Arbuscular mycorrhizal fungi species-specifically affect induced plant responses to a spider mite. *Population Ecology*, 52: 507–515, 2010.
- PENG, J.Y.; LI Z. H.; XIANG, H.; HUANG, J.H.; JIA, S.H.; MIAO, X.X. HUANG, Y. P. Preliminary studies on differential defense responses induced during plant communication. *Cell Research*, 15: 187–192, 2005.

- RABIN, L.B.; PACOVSKY, R.S. Reduced larva growth of two lepidoptera (Noctuidae) on excised leaves of soybean infected with a mycorrhizal fungus. *Journal Economic Entomology*, 78: 1358–1363, 1985.
- RILLIG, M.C.; WRIGHT, S.F.; ALLEN, M.F.; FIELD, C.B. Rise in carbon dioxide changes soil structure. *Nature*, 400: 628–635, 1999.
- SABELIS, M.W.; VAN DE BAAN, H.E. Location of distant spider mite colonies by phytoseiid predators: Demonstration of specific kairomones emitted by *Tetranychus urticae* and *Panony chusulmi*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 33: 303–314, 1983.
- SELOSSE, M.A.; RICHARD, F.; HE, X.; SIMARD, S.W. Mycorrhizal networks: des liaisons dangereuses? *Trends in Ecology & Evolution*, 21: 621–628, 2006.
- SHULAEV, V.; SILVERMAN, P.; RASKIN, I. Airborne signalling by methyl salicylate in plant pathogen resistance. *Nature*, 385: 718–721, 1997.
- SILVEIRA, A.P.D.; CARDOSO, E.J.B.N. Arbuscular mycorrhiza and kinetic parameters of phosphorus absorption by bean plants. *Scientia Agricola*, 61: 203–209, 2004.
- SIMARD, S.W.; DURALL, D.M. Mycorrhizal networks: a review of their extent, function, and importance. *Canadian Journal Botany*, 82: 1140–1165, 2004.
- SMITH, S.E; READ, D.J. Mycorrhizal symbiosis. New York: Academic Press. 2008, 769p.
- SONG, Y.Y.; ZENG, R.S.; XU, J.F.; LI, J.; SHEN, X.; YIHDEGO, W. G. Interplant Communication of tomato plants through underground common mycorrhizal networks. *Plos one*, 5:e13324, 2010.
- STEWART-JONES, A.; POPPY, G.M. Comparison of Glass Vessels and Plastic Bags for Enclosing Living Plant Parts for Headspace Analysis. *Journal Chemistry Ecology*, 32: 845–864, 2006.
- TSCHARNTKE, T.; THIESSEN, S.; DOLCH, R.; BOLAND, W. Herbivory, induced resistance, and interplant signal transfer in *Alnus glutinosa*. *Biochemical Systematics and Ecology*, 29: 1025–1047, 2001.
- VAN DER HEIJDEN, M.G.A.; SCHEUBLIN, T.R. Functional traits in mycorrhizal ecology: their use for predicting the impact of arbuscular mycorrhizal fungal communities on plant growth and ecosystem functioning. *New Phytologist*, 174: 244–250, 2007.
- VIERHEILIG, H.; COUGHLAN, A.P.; WYSS, U.; PICHÉ, Y. Ink and vinegar, a simple technique for arbuscular mycorrhizal fungi. *Applied and Environmental Microbiology*, 64: 5004–5007, 1998.
- WHITFIELD, J. Underground networking. *Nature*, 449: 136–138, 2007.

## CAPÍTULO 7

### Considerações finais

A Zona da Mata (Minas Gerais) é uma região que historicamente tem sofrido intensa degradação dos recursos naturais. Em geral, nesse ambiente o solo são lixiviados e com elevada saturação por alumínio, sendo a ocorrência de solo eutrófico associada às partes mais baixas do relevo (Rezende & Resende, 1996). Isso acontece, principalmente, devido ao profundo manto de intemperismo e ao tipo de relevo forte ondulado (Mar de Morros) que favorece a perda de nutrientes (Rezende & Resende, 1996).

Nessa região, a fragmentação da propriedade rural é acompanhada de uma distribuição desigual de recursos, onde a maior parte dos trabalhadores rurais não tem acesso a terra, a não ser por meio da meação e do arrendamento, e os pequenos agricultores, por sua vez, não possuem terra suficiente para a reprodução da unidade familiar (Alves, 2006). As pequenas propriedades familiares dedicam-se, principalmente, ao cultivo de cafezais, praticada em solos da encosta dos morros. Há então a necessidade de um manejo adequado do solo, de forma a não causar a deterioração de sua qualidade (Cardoso et al., 2001), comprometendo a viabilização produtiva da região. Nesse contexto, a implantação de sistemas agroflorestais (SAFs) com café é uma alternativa viável para a região, pois auxilia na conservação do solo (Carvalho & Ferreira Neto; Franco, 2000). Além disto de permitir a obtenção de outros produtos (banana, abacate, madeira etc.), e promove aumento na biodiversidade local (Fagundes, 2008; Siqueira, 2006).

Em 1994, os agricultores familiares agroecológicos do município de Araponga, Zona da Mata Mineira, buscando a sustentabilidade ambiental iniciaram a experimentação de sistemas agroflorestais com café (Cardoso et al., 2001), objetivando melhorar a qualidade do solo e a diversificação da produção. Paralelo a experimentação com SAFs, os agricultores também melhoraram o manejo dos cafezais a pleno sol, utilizando práticas, por exemplo, que melhoram a cobertura do solo. Ao longo de 18 anos, com diversos estudos realizados nesses agroecossistemas, surgiu a necessidade de avaliar a multifuncionalidade de organismos chave, como os

fungos micorrízicos arbusculares (FMAs), uma vez que esses microssimbiontes desempenham funções primordiais para perpetuação desses agroecossistemas.

Nossas hipóteses de que (i) o manejo das áreas sob SAF ou a Pleno Sol proporciona diferenças nos estoques de glomalina no solo foi rejeitada, pois os agroecossistemas (agroecológicos a pleno sol ou em SAFs) apresentaram comportamento semelhante, ou seja, não houve predomínio de um determinado agroecossistema em relação ao outro. Entretanto, ainda é preciso comparar os sistemas agroecológicos com os sistemas convencionais, que caracterizam-se por utilizar elevadas quantidades de insumos externos (adubos, agrotóxicos etc.), manter baixa biodiversidade na área e não priorizar o aporte de matéria orgânica no solo. As hipóteses de que (ii) os agroecossistemas com cafezais da Zona de Mata de Minas Gerais apresentam elevados estoques de glomalina e que os teores desta proteína (iii) reduzem com a profundidade foi confirmada, porém a variação temporal em curto prazo da fração facilmente extraível da glomalina (GFE) foi rejeitada (a GFE foi estável durante o período avaliado). Como também, as hipóteses de que (iv) os FMAs aportam quantidades significativas de C e N orgânico no solo na forma de glomalina; (v) os agregados de maior diâmetro apresentam maiores teores de glomalina (O DMP é o índice de estabilidade de agregados que melhor correlaciona-se com os estoques de glomalina do solo); e (vi) alguns atributos físicos, químicos e biológicos do solo interferem nos teores de glomalina (Esses atributos, possivelmente, são reguladores dessa proteína no solo, destacando-se o P disponível,  $CTC_{total}$ , a colonização das espécies espontâneas, a densidade de raízes e esporos) foram confirmadas.

Os objetivos do estudo foram alcançados e, com isso, foi possível verificar que os agroecossistemas da Zona da Mata de Minas Gerais apresentam elevados estoques de glomalina, porém com pequena variabilidade entre esses sistemas e entre épocas. Os estoques dessa proteína reduzem em profundidade, sendo que os agroecossistemas proporcionam alteração dos seus estoques até a camada de 40 cm. Nessas áreas de estudo, o C e N da glomalina representam 4,5% do COT e 7,1% do NT do solo, respectivamente.

Ao avaliar a influência das MAs na transferência de sinais entre plantas, verificou-se que a técnica do vaso duplo conectado é adequada para observar a indução de defesa indireta em plantas conectadas via rede micelial dos FMAs, apesar da possível troca de sinais através dos exsudados radiculares. A rede micelial dos

FMA parece potencializar a troca de sinais entre plantas conectadas, entretanto os resultados não permitem conclusões definitivas, pois os testes não foram realizados com repetições suficientes.

### 7.1 Perspectivas de futuros estudos

O estudo da multifuncionalidade dos FMAs nas áreas de cafezais agroecológicos e mata nativa da Zona da Mata de Minas Gerais serviu como o primeiro passo para compreensão da contribuição desses microsimbiontes na sustentabilidade dos agroecossistemas. Entretanto para o estudo aqui iniciado precisa ser aprofundado para responder questões como (i) como a produção de glomalina afeta a disponibilidade de P no solo? (ii) qual a dinâmica da glomalina em áreas da Zona da Mata de Minas Gerais sob cultivo anual e sob café convencional? (iii) a transferência de sinais químicos pode ocorrer entre espécies diferentes?

### 7.2 Referências

- ALVES, M.A. “Conquista da terra”: (re) produção social e (re) construção histórica entre agricultores familiares do município de Araponga – MG. *Mana*, 12: 269-283, 2006
- CARDOSO, I.M.; GUIJT, I.; FRANCO, F.S.; CARVALHO, A.F.; FERREIRA NETO, O.S. Continual learning for agroforestry system design: university, NGO and farmer partnership in Minas Gerais, Brazil. *Agricultural Systems*, 69: 235–257, 2001.
- CARVALHO, A.F.; FERREIRA NETO, P.S. Evolving leaning in designing agroecological farming systems with smal-scaler farmers in Zona da Mata, Brazil. In: GUIJT, I.; BERDEGUÉ, J.A.; LOEVINSOHN, M.; HALL, F.(Ed.). *Deepening the basis of rural resource management.*, The Hague: ISNAR, 2000, 73-88p.
- FERNANDES, J.M. Taxonomia e etnobotânica de Leguminosae Adans. em fragmentos florestais e sistemas agroflorestais na Zona da Mata Mineira. Universidade Federal de Viçosa, 2007. Dissertação (Mestrado em Botânica) Viçosa: UFV, 2007, 223p.
- FRANCO, F.S. sistemas Agroflorestais: uma contribuição para a conservação dos recursos naturais da Zona da Mata de Minas Gerais. Universidade Federal de Viçosa, 2000. Tese (Doutorado em Ciência Florestal), Viçosa: UFV, 2000, 147p.
- REZENDE, S.B.; RESENDE, M. Solos dos mares de morros: Ocupação e uso. In: ALVAREZ V.,V.H.; FONTES, L.E.F.; FONTES, M.P.F. Os solos nos grandes domínios morfoclimáticos do Brasil e o desenvolvimento sustentável. Viçosa, MG, Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 1996, 261-289p.
- SIQUEIRA, L.C. Levantamento florístico e etnobotânico do estrato arbóreo em sistemas naturais e agroflorestais, Araponga, Minas Gerais. Universidade

Federal de Viçosa, 2008. Dissertação (Mestrado em Botânica), Viçosa: UFV, 2008, 118p.

SONG, Y.Y.; ZENG, R.S.; XU, J.F.; LI, J.; SHEN, X.; YIHDEGO, W.G. Interplant Communication of tomato plants through underground common mycorrhizal networks. Plos one, 5:e13324, 2010.