

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS – CCA
PÓS-GRADUAÇÃO EM AGROECOSSISTEMAS

ELAINE DOS SANTOS HEBERLE

Ocorrência e Estrutura de Comunidades de Fungos Micorrízicos
Arbusculares na Cultura da Mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) após
Cultivo de Plantas de Cobertura

FLORIANÓPOLIS
2014

ELAINE DOS SANTOS HEBERLE

Ocorrência e Estrutura de Comunidades de Fungos Micorrízicos
Arbusculares na Cultura da Mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) após
Cultivo de Plantas de Cobertura

Dissertação apresentada como requisito
parcial à obtenção do título de Mestre em
Agroecossistemas, Programa de Pós-
Graduação em Agroecossistemas, Centro
de Ciências Agrárias, Universidade
Federal de Santa Catarina.

Orientador: Cláudio Roberto Fonseca
Sousa Soares

FLORIANÓPOLIS
2014

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Heberle, Elaine dos Santos

Ocorrência e Estrutura de Comunidades de Fungos
Micorrízicos Arbusculares na Cultura da Mandioca (Manihot
esculenta Crantz) após Cultivo de Plantas de Cobertura /
Elaine dos Santos Heberle ; orientador, Cláudio Roberto
Fonseca Sousa Soares ; coorientador, Paulo Emílio Lovato. -
Florianópolis, SC, 2014.
75 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa
Catarina, Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-
Graduação em Agroecossistemas.

Inclui referências

1. Agroecossistemas. 2. cultura de cobertura. 3.
conservação do solo. 4. simbiose. 5. micorrizas. I.
Soares, Cláudio Roberto Fonseca Sousa. II. Lovato, Paulo
Emílio. III. Universidade Federal de Santa Catarina.
Programa de Pós-Graduação em Agroecossistemas. IV. Título.

“Ocorrência e Estrutura de Comunidades de Fungos Micorrízicos Arbusculares na Cultura da Mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) após Cultivo de Plantas de Cobertura”

Por

Elaine dos Santos Heberle

Dissertação julgada adequada, em 29 de abril de 2014, e aprovada em sua forma final, pelo Orientador e Membros da Banca Examinadora, para obtenção do título de Mestre em Agroecossistemas. Área de Concentração Agroecologia, no Programa de Pós-Graduação em Agroecossistemas, Centro de Ciências Agrárias/UFSC.



Prof. Dr. Ademar Antonio Cazella (Coordenador do Programa)

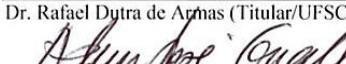
Banca Examinadora:



Dr. Cláudio Roberto Fonseca de Sousa Soares, (Presidente/Orientador)



Dr. Rafael Dutra de Armas (Titular/UFSC)

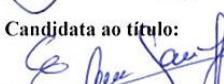


Dr. Admar José Giacchini (Externo/UFSC)



Dr. Sidney Luiz Stürmer (Externo/FURB)

Candidata ao título:



Elaine dos Santos Heberle

Florianópolis, 29 de abril de 2014.

AGRADECIMENTO

À Universidade Federal Santa Catarina e ao programa de Pós-graduação em Agroecossistemas.

À Capes pela concessão da bolsa.

Ao professor Cláudio Roberto Fonseca Sousa Soares pela orientação e paciência.

Aos coorientadores Paulo Emílio Lovato e Luiz Augusto Martins Peruch.

Ao professore Sidney Luiz Stürmer a todos os outros professores que de alguma forma participaram desse processo.

Ao professor Rafael Dutra de Armas, que sem sua ajuda e paciência, tudo seria muito mais complicado, e a sua esposa Kelly Justin pelos momentos de descontração e amizade.

Aos meus pais, Osvaldo dos Santos e Vera Lúcia Pacheco, por tudo!

Ao meu namorado, parceiro e amigo Daniel Alexandre Heberle, que tem o amor suficiente para me “aturar”.

Aos amigos, Vilmar Müller Junior e José Henrique Picoli, por ajudarem nos trabalhos de campo, aos momentos de risadas e “insolação”.

À EPAGRI, pela participação e apoio aos trabalhos práticos.

Aos colaboradores, estagiários e amigos do Laboratório de Solos do Departamento de Engenharia Rural da UFSC.

E a todos os outros amigos, e a toda família pela alegria, paciência e entenderem a minha ausência.

Obrigada!

“O essencial é invisível para os olhos...”.

Antoine de Saint-Exupéry

RESUMO

HEBERLE, Elaine dos Santos. Ocorrência e Estrutura de Comunidades de Fungos Micorrízicos Arbusculares na Cultura da Mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) após Cultivo de Plantas de Cobertura. 2014. 70 p. Dissertação (Mestrado em Agroecossistemas – Área: Agroecologia) – Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-graduação em Agroecossistemas, 2014.

A mandioca é uma importante fonte alimentar, especialmente nos países em desenvolvimento, por ser cultivada em pequenas áreas e em solos com baixa disponibilidade nutricional. Esta espécie possui relação estreita com fungos micorrízicos arbusculares (FMA), que ampliam a extensão das raízes pela projeção de suas hifas, o que favorece a absorção de nutrientes do solo. Na cultura da mandioca o preparo do solo afeta as propriedades químicas, físicas, e biológicas do solo, além disso, a utilização de espécies diferentes de plantas de cobertura influenciam as comunidades fúngicas do solo. Além disso, a morfologia da mandioca, suas raízes com grande diâmetro, quanto à parte área que gera pouca cobertura de solo, podem afetar negativamente a conservação do solo. Estas características interferem diretamente no estabelecimento e no desenvolvimento da cultura, conseqüentemente afetando a produção das raízes. O objetivo deste trabalho foi avaliar a influência das plantas de cobertura na ocorrência e estrutura de comunidades de FMA e a contribuição destes para a cultura da mandioca. Para isso foi conduzido na estação experimental da EPAGRI no município de Urussanga-SC, um experimento a campo com delineamento em blocos casualizados, constituído de seis tratamentos e quatro repetições. Os tratamentos correspondem ao cultivo das plantas de cobertura: Aveia (*Avena sativa* L.), Ervilhaca (*Vicia sativa* L.) e Nabo forrageiro (*Raphanus sativus* L.), e os consórcios (A+E e A+E+N) e testemunha roçada a cada 15 dias. Após 110 dias de cultivo das plantas de cobertura, foi realizado o plantio da mandioca. Amostras de solo foram coletadas no momento do plantio da

mandioca, e suas raízes coletadas aos 33 e 110 dias após o plantio. As avaliações compreenderam em quantificar o total de esporos de FMA; potencial de inoculo micorrizico (NMP); colonização radicular da mandioca; estrutura de comunidades de FMA por PCR-DGGE; P em tecido vegetal; estande e rendimento. O tratamento com aveia apresentou aumento no número de esporos em relação aos demais, já o tratamento A+E+N, apresentou o NMP seis vezes superior ao tratamento com ervilhaca. A colonização micorrízica da mandioca foi alta nos 33 DAP, obtendo diferença estatística nos tratamentos com Aveia e A+E. Na avaliação da estrutura de comunidades de FMA em raízes de mandioca, pode-se observar um aumento da similaridade dos tratamentos consorciados, e evidenciando agrupamentos no tempo 33 e 110 DAP. Contudo, a estrutura de comunidades de FMA no solo teve um comportamento heterogêneo e não responsivo aos tratamentos. As variáveis, estande, teor de P no tecido vegetal e rendimento não apresentaram diferenças entre os tratamentos de plantas de cobertura. Embora os parâmetros de rendimento, estande e teor de P no tecido vegetal, bem como a estrutura de comunidade de FMA, não tenham apresentado diferenças entre os tratamentos, outros parâmetros como potencial de inoculo e taxa de colonização de FMA, demonstraram resposta positiva das plantas de cobertura no aumento da eficiência da simbiose de FMA com raízes de mandioca. A variável tempo foi a mais relevante no aumento da similaridade da estrutura de comunidades fúngicas presentes nas raízes de mandioca, evidenciando que um ciclo de cultivo das plantas de cobertura no cultivo da mandioca, pode não ser suficiente para obter resposta significativa nas variáveis P no tecido vegetal e no rendimento da cultura.

Palavras-chave: cultura de cobertura, conservação do solo, simbiose, micorrizas, aveia, ervilhaca, nabo.

ABSTRACT

HEBERLE, Elaine dos Santos. Occurrence and structure of arbuscular mycorrhizal fungi communities in the Culture of Cassava (*Manihot esculenta* Crantz) after Growing Plant Coverage. 2014. 70 p. Dissertação (Mestrado em Agroecossistemas – Área: Agroecologia) – Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-graduação em Agroecossistemas, 2014.

Cassava is an important food source, especially in developing countries, to be grown in small areas and in soils with low nutrient availability. This species has a close relationship with mycorrhizal fungi (AMF), which extend the length of the roots by the projection of their hyphae, which favors the absorption of nutrients from the soil. In cassava soil preparation affects the physical, chemical, and biological properties of the soil, in addition, the use of different plant species cover influence fungal communities of the soil. In addition, the morphology of cassava roots with large diameter and shoots that generates little ground cover, may adversely affect soil conservation. These characteristics directly affect the establishment and development of culture, thus affecting the production of roots. The objective of this study was to evaluate the influence of cover crops on the occurrence and structure of AMF communities and their contribution to the culture of cassava. For that was conducted at the experimental station of the city of EPAGRI Urussanga-SC, in a field experiment in a randomized blocks with six treatments and four replications. The treatments correspond to the cultivation of cover crops: oats (*Avena sativa* L.), vetch (*Vicia sativa* L.) and forage turnip (*Raphanus sativus* L.), and consortia (A + E and A + E + N) and witness mowing every 15 days. After 110 days of cultivation of cover crops, planting cassava was conducted. Soil samples were collected at planting cassava and roots collected at 33 and 110 days after planting. The evaluations to quantify the total AMF spore; mycorrhizal inoculum potential (NMP); root colonization; structure of AMF communities by PCR-DGGE; P in shoots; stands and yields. Treatment with oats showed an increase in the number of spores in relation to other, longer treatment A + E + N, NMP presented six times more than the treatment vetch. The mycorrhizal colonization of cassava was high at 33 DAP, giving a statistical difference in the treatments with oats and A + E. In the evaluation of the structure of AMF communities in roots

of cassava, one can observe an increase in the similarity of intercropping treatments and reveal clusters in time 33 and 110 DAP. However, the structure of AMF communities in soil had a heterogeneous behavior and not responsive to treatment. Variables, both P concentration in shoots and yield did not differ among treatments of cover crops. Although the performance parameters, stand and P content in plant tissue, and the structure of the FMA community, have not presented differences between treatments, other parameters such as potential inoculum and colonization rate of AMF, showed positive response of plants coverage on increasing the efficiency of the symbiosis with AMF cassava roots. The variable was the most important in increasing the similarity of the structure of fungal communities present in cassava roots, showing that a cycle of growing cover crops in cassava cultivation, may not be sufficient to obtain a significant response in the tissue P variables vegetable and crop yield.

Palavras-chave: *cover crop, soil conservation, symbiosis, mycorrhizae, oats, vetch, turnip.*

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 – Mapa de localização da estação experimental onde foi realizada a implantação do experimento de avaliação dos efeitos das plantas de cobertura na ocorrência dos FMA no cultivo da mandioca. . 36
- Figura 2 - Gráfico Ombrotérmico dos valores de precipitação e temperatura da média histórica e do período inicial do experimento, no município de Urussanga, SC. 37
- Figura 3 – Fotos ilustrativas da área experimental com as plantas de cobertura em desenvolvimento (A); Desenvolvimento da mandioca sobre parcela com planta de cobertura já roçada aos 33DAP* (B); Raiz de mandioca colonizada por fungos micorrízicos(C). 39
- Figura 4 - Dendograma gerado a partir da PCR-DGGE de 24 amostras de solo (Anexo A) , coletadas aos 110 dias após o plantio das plantas de cobertura. Agrupamento hierárquico obtido a partir do coeficiente de *Jaccard* e modelo de agrupamento por UPGMA. A nomenclatura das amostras refere-se aos tratamentos de plantas de cobertura e a numeração corresponde às repetições. 48
- Figura 5 - Diagrama de Venn, calculado a partir da matriz presença e ausência gerada pelo coeficiente de similaridade de *Jaccard* das amostras de solo, considerando plantas de cobertura solteiras (A) e consorciadas (B). 50
- Figura 6 - Dendograma gerado a partir da PCR-DGGE (Anexo B) de 12 amostras de raízes de mandioca, coletadas aos 33 e 110 dias após o plantio das manivas. Agrupamento hierárquico obtido a partir do coeficiente de *Jaccard* e modelo de agrupamento por UPGMA. A nomenclatura das amostras refere-se aos tratamentos de plantas de cobertura e a numeração corresponde aos períodos de coleta. 51
- Figura 7 - Diagrama de Venn obtido através dos dados de presença e ausência da análise do dendograma (figura 06) das amostras de raiz de mandioca, considerando o período após o plantio (33; e 110 DAP), e as plantas de cobertura solteiras e consorciadas separadamente. 52

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Histórico da área experimental, informações de culturas anteriores, adubação e análise química/física do solo.	38
Tabela 2 - Número de propágulos infectivos de fungos micorrízicos arbusculares e colonização micorrízica da mandioca após cultivo de plantas de cobertura.....	46
Tabela 3 - Altura e Diâmetro do caule das plantas de mandioca. Estande avaliado aos 33 dias após o plantio.	53
Tabela 4 - Quantidade em g kg-1 de Fósforo do tecido vegetal, oriundos de folhas de mandioca.	54
Tabela 5 - Rendimento da cultura de mandioca, ao final de 10 meses de cultivo.....	55

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	19
2. REFERENCIAL TEÓRICO.....	23
2.1. A CULTURA DA MANDIOCA	23
2.2. FUNGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES: CARACTERIZAÇÃO E IMPORTÂNCIA PARA A CULTURA DA MANDIOCA.....	29
3. OBJETIVOS.....	35
3.1. OBJETIVO GERAL	35
3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	35
4. METODOLOGIA	36
4.1. HISTÓRICO, CARACTERIZAÇÃO E PREPARO DA ÁREA ..	36
4.2. CONDUÇÃO EXPERIMENTAL E AVALIAÇÕES.....	39
4.3. AVALIAÇÃO DA COLONIZAÇÃO MICORRÍZICA	40
4.4. NÚMERO MAIS PROVÁVEL	40
4.5. TOTAL E CARACTERIZAÇÃO DE ESPOROS	41
4.6. ESTRUTURA DE COMUNIDADES DE FMA (PCR-DGGE) ...	41
4.7. ANÁLISE DE FÓSFORO DO TECIDO VEGETAL.....	43
4.8. ANÁLISE ESTATÍSTICA	43
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	45
5.1. OCORRÊNCIA DE FMA EM CULTIVO DE MANDIOCA	45
5.2. ESTRUTURA DE COMUNIDADES DE FMA NO SOLO E RAIZ DE MANDIOCA	48
5.3. ESTANDE, TEOR DE FÓSFORO FOLIAR E RENDIMENTO NA CULTURA DA MANDIOCA.....	53
6. CONCLUSÕES.....	56
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	57
ANEXOS	73

1. INTRODUÇÃO

A cultura da mandioca ou aipim é muito difundida em todo o território nacional, dada pela característica da cultura em adaptar-se as condições de variabilidade, tanto em solo quanto clima que o país dispõe. Esta cultura está fortemente vinculada à segurança alimentar, pois sua forma de consumo é variada, sendo obtidos produtos a partir do beneficiamento das farinhas, ou mesmo por meio do consumo das raízes. Além disso, todas as partes da planta como folhas, talos e os resíduos de seu beneficiamento podem ser aproveitados para alimentação animal, adubação e controle de pragas (IBGE, 2010; ALVES et al., 2009).

O cultivo da mandioca é especialmente praticado por comunidades tradicionais e apresenta grande importância na sobrevivência da população de baixa renda e de agricultores familiares, não apenas na região Centro-Sul do Brasil, mas em todo o país. O uso constante por essas comunidades pode ser influenciado, tanto pela forma de propagação e multiplicação da planta, que após cada cultivo há a disponibilidade do material propagativo para um novo plantio (manivas), como pela rusticidade e adaptação da planta às variações ambientais. O plantio dessa espécie é realizado a partir de manivas, ou seja, segmentos caulinares plantados horizontalmente no período das estações chuvosas (MATTOS et al., 2006). Essas manivas formam de uma a 10 raízes tuberosas, com diferentes formas, comprimentos e cores de película, características que diferem as variedades de mandioca (CARVALHO & FUKUDA, 2006).

As folhas da mandioca apresentam duração de um a dois meses, dependendo da variedade e do clima. A morfologia das folhas, assim como o espaçamento e a queda durante período de dormência, acarretam maior exposição do solo às intempéries, o que aumenta os riscos de erosão (CARVALHO & FUKUDA, 2006). Além disso, durante o plantio e a colheita, ocorre o revolvimento do solo, propiciando erosão hídrica e perda da capacidade produtiva (FARIAS, 2000; SOUZA & SOUZA, 2006).

Em estudo realizado por Margolis (1991), que comparou diferentes sistemas de manejo no cultivo da mandioca, as perdas de solo chegam a 49 Mg ha⁻¹ ano⁻¹, enquanto que em estudo desenvolvido (PRADO & NÓBREGA, 2005), as perdas de solo foram superiores a 20 Mg ha⁻¹ ano⁻¹ no cultivo da mandioca.

Alternativamente, o uso de plantas de cobertura é uma opção que contribui para a conservação do solo, tendo em vista a menor exposição

do mesmo e conseqüentemente, menor riscos de erosão e perdas de nutrientes por lixiviação.

Para Derpsch et al., (1991) e Alvarenga et al., (2001), a utilização de plantas de cobertura é uma alternativa importante de proteção do solo, uma vez que o protegem do impacto direto da chuva. Cruz (2006) utilizou diferentes plantas de cobertura e avaliou a perda de solo, concluindo que quanto maior a velocidade de cobertura menor a perda de solo. Nesse estudo, com uso de *Crotalaria juncea*, a perda foi de 1.9 Mg ha⁻¹ ano⁻¹, enquanto que no solo exposto a perda foi de 7 Mg ha⁻¹ ano⁻¹. Dias (2012), encontrou resultados similares ao comparar plantas de cobertura, observando que com o uso de leguminosa (*Canavalia ensiformis* (L.) DC) a perda foi de 0,72 Mg ha⁻¹ ano⁻¹, e com solo exposto a perda foi de 7,6 Mg ha⁻¹ ano⁻¹.

As plantas de cobertura, além de protegerem o solo, desempenham importante papel na multiplicação de propágulos de fungos micorrízicos arbusculares (FMA). Esses microrganismos são biotróficos obrigatórios, os quais precisam estabelecer simbiose com plantas para concluir seu ciclo de vida. Estes fungos também desempenham papel importante na absorção de P de algumas comunidades vegetais (MOREIRA & SIQUEIRA, 2006). A característica multiplicadora das plantas de cobertura surge como uma alternativa no estabelecimento dessas comunidades de FMA para as culturas em sucessão (GOMIDE et al., 2009).

A colonização micorrízica tem como principal efeito a ampliação do volume de solo explorado. A capacidade das micorrizas em fazer com que as plantas absorvam nutrientes como já mencionado, está na sua morfologia. As hifas, sendo estruturas filamentosas, penetram nas raízes e se estendem no solo, ocupando espaços não alcançados pelas raízes da planta (MIRANDA, 1997; SIQUEIRA et al., 2010). Este aspecto é muito importante para espécies vegetais que apresentam sistema radicular pouco desenvolvido, como a mandioca, ocasionando uma elevada dependência desta cultura aos FMA (COLOZZI & NOGUEIRA, 2007). Assim, qualquer alteração na dinâmica da população destes fungos pode comprometer o estabelecimento da simbiose e, conseqüentemente, reduzir a produtividade desta cultura (MIRANDA & MIRANDA, 1997).

Esta problemática torna-se mais evidente a partir das práticas culturais adotadas no cultivo da mandioca, como o sistema de preparo e a adubação, e os quais afetam as propriedades químicas, físicas e conseqüentemente, biológicas do solo. Estas alterações interferem

diretamente no estabelecimento e no desenvolvimento da cultura, e conseqüentemente na produção e qualidade das raízes. Os microrganismos estão envolvidos em vários processos de transformação do solo, principalmente referente a cultivos orgânicos. Dentre esses processos estão à decomposição e ressíntese da matéria orgânica, ciclagem de nutrientes, as transformações bioquímicas, fixação biológica do nitrogênio, a ação contra os patógenos e a produção de substâncias promotoras ou inibidoras de crescimento, entre outros (AMBROSANO et al., 2005).

Os fatores da cultura da mandioca como a morfologia das raízes e o manejo, podem afetar a conservação do solo e o sistema de produção. A utilização do manejo com princípios agroecológicos e o cultivo orgânico na cultura da mandioca, vem ganhando importância, em que o aporte de nutrientes considera a dinâmica da matéria orgânica, adubação verde, plantas de cobertura e a rotação de culturas (DEVIDE, 2010; CARVALHO & FUKUDA, 2006). Uma pesquisa que comparou sistemas de cultivo orgânico e convencional, constatou que a intensificação do uso da terra, além de causar uma redução na abundância de esporos, afetou a diversidade de espécies de FMA, onde a abundância de espécies foi maior no sistema de cultivo orgânico comparada ao convencional (OEHL et al., 2004).

Estudos que abordem a relação das plantas simbiotes com os FMA, principalmente as agriculturáveis, como no caso da mandioca, são indispensáveis. A aplicação de técnicas que avaliem o potencial de inoculo (NMP), contagem de esporos, colonização micorrizica, entre outras são fundamentais para estimar as comunidades microbiológicas de um solo (MOREIRA et al., 2010).

A utilização de técnicas moleculares surgiu como um acréscimo na avaliação do estudo de microrganismos. Essas técnicas permitem o reconhecimento de elementos empregados no manejo do solo que eventualmente interferem nas comunidades microbianas. Estas técnicas ainda podem ser utilizadas para caracterizar e detalhar a estrutura e sucessão de microrganismos em solos agrícolas, até mesmo os microrganismos não cultiváveis (SAYLER & LAYTON, 1990; HUGENHOLTZ et al., 1998). Além disso, essas técnicas se tornam um vantajoso instrumento para a obtenção de perfis da comunidade microbiana, visto que toda célula possui informação genética, e que nessas células ocorre um elevado número de cópias daquela informação que é estável e apresenta regiões conservadas, além de estar previamente disponíveis, sem que o organismo tenha sido cultivado (HEAD; SAUNDERS; PICKUP, 1998; SAYLER & LAYTON, 1990).

Dentre as técnicas moleculares, uma é a DGGE (electroforese em gel de gradiente desnaturante), que é utilizada como uma técnica “fingerprinting” capaz de analisar o perfil da diversidade de uma comunidade de microrganismos. Esta diversidade microbiana tem se apresentado como um importante indicador da qualidade do solo. As técnicas de biologia molecular permitem compreender singularmente e de forma sensível a diversidade estrutural e funcional dos microrganismos no solo (ZILLI et al., 2003). Apesar destes benefícios, são inexistentes trabalhos avaliando os sistemas de manejo na estrutura de comunidade de FMA na cultura da mandioca.

Portanto, a finalidade desse trabalho é avaliar a influência das plantas de cobertura, sobre a ocorrência, colonização e estrutura de comunidades de FMA, bem como a influência destes sobre a nutrição mineral e produção da mandioca em sistema de cultivo orgânico.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1. A CULTURA DA MANDIOCA

A mandioca, aipim ou macaxeira como é popularmente conhecida, pertence à ordem Malpighiales, família Euphorbiaceae, e gênero *Manihot*, que possui 98 espécies, tendo como centro de origem a América do Sul. Algumas espécies silvestres de mandioca, popularmente chamadas de maniçobas, serviram por muito tempo como fonte de látex em regiões como o nordeste do Brasil. Espécies de mandioca têm sido utilizadas para forragens, confecção de cercas e como alimento da fauna silvestre. Contudo, a principal espécie cultivada para a alimentação humana em todo o mundo é a *Manihot esculenta* Crantz, rica em carboidratos, servindo como excelente fonte alimentar, principalmente em países em desenvolvimento, sendo utilizada como um dos principais alimentos de milhões de pessoas (CARVALHO, 2006). A espécie pode ser cultivada em pequenas áreas, com diferentes características climáticas e tipos de solo, e empregando-se baixo nível tecnológico (EMBRAPA, 2011).

A mandioca cultivada pode ainda ser classificada em mandioca mansa (ou doce) e brava (ou amarga), denominação esta referente à quantidade de glicosídeos cianogênicos que a espécie possui. Estas substâncias são degradadas pela enzima linamarase, e a partir desta reação ocorre a liberação do ácido cianídrico – HCN (ALVES, 2006). Os teores de HCN para considerar uma mandioca mansa (também conhecida como de mesa) destinada para o consumo humano e de animais, precisa estar abaixo de 100 mg kg^{-1} . Para teores acima deste valor as mandiocas são consideradas bravas (ou amargas) e são destinadas ao beneficiamento para produção de farinhas e outros derivados (EMBRAPA, 2008; ALVES, 2006).

Além do grande valor socioeconômico, a mandioca possui grande importância nutricional por ser uma planta nativa domesticada e que ganhou espaço na alimentação de muitos grupos étnicos (SOUZA et al., 2006; ALVES, 2009), principalmente dos colonizadores que, no estado de Santa Catarina, é representado pelos pequenos produtores rurais (OTSUBO, 2004). O cultivo da mandioca, por tratar-se de uma cultura rústica que adapta-se a diferentes ambientes, não apresenta exigência quanto ao uso intensivo de agroquímicos, e nem depende de sementes, além da sua adaptação em locais com poucos recursos hídricos. Estas características não despertaram o interesse das vertentes da “agricultura

moderna”, sendo esta cultura mais representada nos países em desenvolvimento (SOUZA et al., 2006).

A cultura da mandioca está difundida em todo o mundo, sendo que cada região apresenta especificidade no processo de produção, consumo e beneficiamento. O cultivo desta espécie não está ligado exclusivamente ao consumo familiar, muitas vezes faz parte da renda familiar, com a produção de farinha, biscoitos e bolos. Além disso, sua versatilidade despertou o interesse também da indústria têxtil, de celulose e alguns produtos farmacêuticos (LEONEL, 2005; SOUZA & HARDT, 2002; NASSAR & ORTIZ, 2010).

A produção mundial da mandioca coloca o continente Africano no primeiro lugar de produção com 121,4 milhões de Mg. Neste ranking a Ásia aparece em segundo lugar com 74,8 milhões de Mg, ficando a América do sul com 33,3 milhões de Mg, sendo o Brasil o maior produtor do continente com 24,5 milhões de Mg (GROXKO, 2012; FAO, 2010). A região sul do Brasil, que compreende os estados de Santa Catarina, Paraná e o Rio Grande do Sul, produziram até o momento 5.588 Mg ha⁻¹ (22,85 % da produção nacional), 3.893 Mg ha⁻¹ (15,92%) e 1.177 Mg ha⁻¹ (4,81%), respectivamente (IBGE, 2013). Segundo dados do IBGE (2013), houve uma queda na produção nacional e também nas áreas destinadas a esta cultura. O estado de Santa Catarina também acompanhou esta queda, sendo estimada uma produção 27 % menor que o ano de 2012.

A produção do estado de Santa Catarina se destina principalmente ao beneficiamento de farinhas, polvilhos, féculas, e para alimentação animal. A queda das áreas cultivadas e da produção da mandioca no estado sofre influência de alguns fatores, como o clima (estiagem na fase inicial da cultura), a escassez de mão de obra e a baixa rentabilidade financeira para os pequenos produtores. A redução dessa produção, no decorrer dos anos, pode diminuir consideravelmente a oferta e qualidade das manivas, dificultando a retomada do plantio (CEPA, 2002; IBGE, 2013).

Contudo, com a preocupação na segurança alimentar e a busca por alimentos saudáveis, fatores como a origem dos produtos (características étnicas) e sustentabilidade das atividades (questão ambiental e econômica), projetou expectativas para o setor dos produtos orgânicos e de origem na agricultura familiar. A mandioca neste momento ocupa o terceiro lugar entre as culturas básicas mais importantes no mundo, complementando a alimentação da população. Desta forma, os projetos que envolvem a importância dessa raiz na

alimentação, como fonte de nutrientes, e subsídio na renda para pequenos produtores, são imprescindíveis (FAO, 2012).

Visando o menor impacto para o meio ambiente e o melhor rendimento da produção, o cultivo da mandioca ganhou atenção da vertente “orgânica”, apesar da pouca diferença visível em relação à qualidade de raízes produzidas neste sistema comparado ao sistema convencional. O cultivo orgânico, por ter como princípios a produção de alimentos saudáveis (IN nº 46, de 06 de outubro de 2011 do MAPA), preconiza a não utilização de pesticidas, proteção ao meio ambiente e a justiça social dos trabalhadores e consumidores, além de poder ser rastreado e ter incremento do valor de venda do produto final (DEVIDE, 2010).

A produção orgânica tem como base a adoção de artifícios ecológicos de menor impacto aos envolvidos no processo de produção, utilizando-se dos recursos naturais como: manejo integrado de pragas, simbiose com microrganismos, uso de adubação com dejetos (suínos, aves, bovino), rotação de culturas, plantas de cobertura e outros métodos (SOUZA & SOUZA, 2006; MOREIRA et al., 2008). Nos processos ecológicos como a ciclagem de nutrientes do solo, os microrganismos tem participação essencial, e a utilização da adubação orgânica é significativa para atividade dos microrganismos do solo, dentre eles os FMA (MARSHALL, 2000; NANNIPIERI et al., 2003; FERNANDES et al., 2005). A adubação orgânica fornece substratos energéticos que podem ser degradados pela microbiota edáfica, aumentando as atividades microbiológicas existente no solo (BETTIOL et al., 2002; FERNANDES et al., 2005).

Alguns fatores morfológicos da cultura da mandioca tais como sistema radicular pouco ramificado e baixa produção de biomassa, podem afetar a conservação do solo e o sistema de produção. Portanto, o manejo com princípios ecológicos vem ganhando importância, onde o aporte de nutrientes deve ser baseado na dinâmica e na manutenção de níveis elevados de matéria orgânica, adubação verde e rotação de culturas, que elevam os níveis de nitrogênio e ciclaram minerais de camadas profundas do solo para a superfície, disponibilizando-os (DEVIDE, 2010).

No sistema produtivo da cultura da mandioca tem sido preconizado o manejo conservacionista, dado às características da cultura quanto à morfologia das suas raízes, caule e folhas. As plantas variam quanto à forma de reprodução; quando sexuada (sementes) apresentam uma raiz primária e profunda, e quando propagadas assexuadamente (clones), as raízes se originam dos bordos da estaca

(maniva), das cicatrizes de estípula e gemas. A morfologia das raízes pode afetar a conservação do solo. Durante o plantio e a colheita, ocorre o revolvimento do solo, ocasionando erosão hídrica e perda da capacidade produtiva. Além disso, a cultura extrai e exporta grandes quantidades de nutrientes, tudo que produz (raízes, folhas e manivas) é retirado da área e não é reincorporada como resíduo, havendo a necessidade de reposição dos nutrientes exportados (FARIAS, 2000; SOUZA & SOUZA, 2006). As folhas são decíduas durando até dois meses, além de serem espaçadas, o que acarreta uma exposição maior do solo, expondo-o às intempéries, aumentando os riscos de erosão (CARVALHO & FUKUDA, 2006)

Embora o manejo conservacionista seja preconizado, esta forma de cultivo não é aplicada pela maioria dos produtores, pois a cultura é produtiva mesmo em condições adversas de solo e clima, sendo produzida por populações desprovidas de recursos técnicos e econômicos. Isso ocasiona um aumento de área cultivada em solos poucos produtivos com baixo teor de nutrientes e em áreas de declive e com déficit hídrico, ocasionando maior impacto aos recursos do solo (SOUZA et al., 2006). Entretanto, ao apresentar esta adaptação em condições adversas, sua produtividade ainda é baixa, dada pela pouca tecnologia investida, pouca exploração do seu potencial genético e seu cultivo em locais com manejo inadequado (GOMES & SILVA, 2006).

Arismendi (2001), descreve os dois elementos mais limitantes para a cultura da mandioca, o nitrogênio e o fósforo. Para obter um bom rendimento, valores de N-P-K devem estar em torno de 80, 114 e 80 kg/ha respectivamente. Em solos de cultivo de mandioca com baixa concentração de P, a produção pode ser afetada (SIEVERDING, 1991).

Para que a mandioca atinja alta produção é necessário considerar no cultivo todo o perfil do solo e não somente a camada arável, pois o sistema radicular atinge camadas mais profundas, de aproximadamente 1 metro. Outra característica para uma boa produção é a adubação adequada, tendo o fósforo com principal macronutriente (FARIAS, 2000). A mandioca por não absorver o fósforo do solo em grandes quantidades, e normalmente ser cultivada em solos pobres em nutrientes, torna-se mais exigente em adubação fosfatada (ALVES, 2003). Para que se tenha o manejo adequado dos solos atrelado à rentabilidade de uma cultura, é necessário que este manejo leve em conta aspectos de classificação física, química, físico-química, mineralógica e microbiológica do solo (RAIJ, 2011).

Importância das Plantas de Cobertura para a Cultura da Mandioca

Diante da problemática ambiental e de produtividade do cultivo da mandioca, a utilização de plantas de cobertura tornar-se uma alternativa importante, visto que seu uso mantém o solo protegido dos impactos da chuva e raios solares, além de melhorar o ambiente para os organismos edáficos que são importantes para a cadeia trófica e ciclagem de nutrientes, influenciando as características físicas e químicas do solo (DERPSCH, 1991; RAIJ, 2011, ALVARENGA et al., 2001).

Além dos benefícios para produtores, como mencionado no item 2.1, plantas de cobertura contribuem para a manutenção da biota do solo, sendo utilizado como substrato e abrigo para macro e microrganismos, dos quais podemos destacar grupos envolvidos nos processos biogeoquímicos (BORGES, 2003). Comunidades de organismos que habitam o solo realizam atividades imprescindíveis para a manutenção e sobrevivência das comunidades vegetais e animais (MOREIRA, 2002). Além disso, ocorre a incorporação de material orgânico ao solo e também a ciclagem de nutrientes (EMBRAPA, 2002). As plantas de cobertura, além de protegerem o solo, desempenham importante papel na multiplicação de propágulos de fungos micorrízicos arbusculares (FMA) (KARASAWA & TAKEBE, 2012).

A utilização de plantas de cobertura surge como uma alternativa menos impactante para o sistema de cultivo da mandioca. Apesar disso, a escolha da cultura de cobertura mais adequada no cultivo de mandioca precisa ser estudada, pois existem diferentes funções entre famílias botânicas comumente utilizadas para esta prática, podendo afetar a dinâmica dos microrganismos como os fungos micorrízicos. Para uma planta de cobertura satisfazer a exigência em relação à dinâmica do reaproveitamento do material vegetal, ou seja, ciclagem de nutrientes, ela precisa ser facilmente estabelecida, ter crescimento acelerado, cobrir o solo rapidamente, produzir boa quantidade de biomassa (fonte importante de material orgânico), suportar e não ser hospedeira de doenças, ser facilmente eliminada quando exigido, e viável economicamente (LOPES & ALVES, 2006; AMADO et al., 2001; SILVA et al., 2006).

Algumas plantas são consideradas enriquecedoras de nitrogênio, principalmente as leguminosas ricas em compostos orgânicos nitrogenados, como a *Ervilhaca* spp. Além disso, as leguminosas apresentam uma rápida taxa de mineralização, contrapondo às gramíneas que proporcionam grandes quantidades de resíduos (palha) e permanecem no solo por mais tempo (ALVARENGA et al., 2001;

CHAVES, 2001). As leguminosas são essencialmente utilizadas como plantas de cobertura, e comumente consorciadas, possuem características específicas como seu crescimento rápido, boa produção de biomassa e sistema radicular ramificado e profundo tornando-as fundamentais neste processo (CHAVES, 2001). O cultivo da mandioca normalmente ocorre em solos pouco férteis e com baixo aporte em nitrogênio, trazendo o uso de leguminosas como plantas de cobertura, importante para a cultura (CALEGARI et al., 1993).

Além das consideráveis melhorias nos sistemas de produção, as plantas de cobertura como as gramíneas, melhoram a quantidade dos compostos orgânicos dado pela relação C/N e maiores teores de lignina, gerando efeitos a longo prazo, além de elevada capacidade de perfilhamento (CHAVES, 2001; BORTOLUZZI, 2000). Devido a característica do sistema radicular volumoso e raízes finas, as gramíneas são normalmente usadas como multiplicadoras de FMA (GAIAD, 2000). As leguminosas e gramíneas são as que exercem melhor o papel de multiplicadoras dos FMA. Contudo, existem espécies vegetais não micotróficas, como as crucíferas, que são pouco eficientes como simbiote. Com isso, a adoção de determinadas espécies de plantas de cobertura podem interferir na esporulação dos FMA no solo (GOMIDE et al., 2009).

As plantas de cobertura são utilizadas solteiras ou em consórcio entre gramíneas, leguminosas e crucíferas. Porém o consórcio é comumente empregado visando maximizar os benefícios proporcionados, caracterizado pela quantidade de fitomassa produzida, pela característica radicular das espécies, pela relação C/N do material vegetal e seu manejo. Mesmo a relação C/N sendo inerente às espécies vegetais, esta determina a velocidade de decomposição em particular, onde temos as leguminosas e gramíneas com decomposição mais rápida comparada as crucíferas (CHAVES, 2001; ALVARENGA et al., 2001; DONEDA et al., 2012).

As crucíferas são largamente empregadas em rotações de cultura, tendo o nabo forrageiro um dos principais representantes como planta de cobertura. O mesmo possui rápida ciclagem de nutrientes, especialmente o nitrogênio e o fósforo, boa cobertura do solo e produção de biomassa satisfatória. Adicionalmente pode incorporar até 60 kg ha⁻¹ de N-Total acumulado, quando comparado à Aveia, que em média chega a 30 kg ha⁻¹ (CHAVES, 2001). Um determinante na dinâmica dos microrganismos é a presença de material orgânico por servir de fonte de energia. Assim a

utilização de plantas que gerem esse material se torna eficaz na manutenção da microbiota do solo (CALEGARI et al., 1993).

2.2. FUNGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES: CARACTERIZAÇÃO E IMPORTÂNCIA PARA A CULTURA DA MANDIOCA

Os fungos micorrízicos arbusculares (FMA), pertencentes à classe dos Glomeromycetes, estão presentes em grande número nos solos. Sua diversidade e a dinâmica reprodutiva está fortemente ligada à heterogeneidade das comunidades vegetais. Estes glomeromicetos são biotróficos obrigatórios, e assim precisam estabelecer simbiose com raízes de plantas combinantes para concluir o ciclo de vida. Neste ciclo o “microsimbionte” (fungo) torna-se dependente do “macrosimbionte” (planta). Tal especialidade é um atributo da evolução desta simbiose (SOUZA et al., 2008). A alteração da dinâmica desses FMA pode comprometer a colonização micorrízica da cultura em sucessão, podendo ocasionar a redução da produtividade.

A relação de simbiose mutualística entre FMA e plantas é denominada micorriza arbusculare (MA) e ocorre com a maioria das famílias botânicas (SOUZA et al., 2008). Uma vez que a planta é micorrizada, ela amplia a extensão de suas raízes através da estrutura própria desses fungos, as hifas, acarretando em um “alongamento” radicular e ampliando a faixa de alcance das raízes (MOREIRA & SIQUEIRA, 2006). Esses FMA possuem micélio asseptado (cenocítico) permitindo imediata movimentação citoplasmática promovendo a condução de nutrientes. Iniciam-se então diversas alterações metabólicas, nas quais as plantas beneficiam-se dos fungos pela absorção de nutrientes do solo, contribuindo para sua nutrição e adaptação. Já os fungos, por sua vez, recebem das plantas energia para sua manutenção e multiplicação (COLOZZI & NOGUEIRA, 2007; MIRANDA, 1997; SOUZA et al., 2008).

A diversidade taxonômica dos FMA é avaliada com coletas de solos onde é realizada a contagem e identificação direta dos esporos. Porém, um ponto desfavorável está ligado à dinâmica das espécies, como a não esporulação na época da coleta, estando ainda associadas às plantas simbiontes. Métodos que utilizam culturas “armadilhas” são uma alternativa vantajosa para induzir a esporulação, e permite conferir a atividade da comunidade dos FMA. Esta capacidade de colonizar pode ser aferida com técnicas como a do Número Mais Provável (NMP) (BAGYARAJ & STÜRMER, 2010).

A identificação de espécies de FMA é feita, por exemplo, através de estruturas subcelulares e pelas características morfológicas dos esporos (BAGYARAJ & STÜRMER, 2010). Essa identificação considera algumas características, como parede do esporo, parede germinativa e estrutura de germinação. Contudo, pelas dificuldades em se estabelecer um sistema taxonômico, e ainda pela diversidade de organismos muitas vezes dificultando a sua identificação, tem-se recorrido à análises moleculares utilizando técnicas de sequenciamento do material genético para a sua identificação (MOREIRA et al., 2008).

A diversidade e a estrutura das comunidades de FMA presentes no solo são influenciadas pelas plantas simbióticas (GOMIDE et al., 2009), podendo haver uma pressão de seleção destas sobre os FMA em função dos vários mecanismos bioquímicos de reconhecimento entre os organismos envolvidos, que conferem certo grau de especificidade a esse tipo de simbiose (VANDENKOORNHUYSE et al., 2003).

Os avanços nos estudos na área de biologia molecular possibilita a identificação da estruturas de comunidades presentes nos ambientes. Algumas técnicas como a PCR (Reação da polimerase em cadeia) e a DGGE (electroforese em gel de gradiente desnaturante) utilizam a informação genética dos organismos, e através da amplificação, replicação e posterior separação das bases já amplificadas, são capazes de proporcionar uma avaliação das comunidades de microrganismos específicos (ZILLI et al., 2003; MUYZER & SMALLA, 1998).

As técnicas utilizam certas regiões do DNA, sendo estas compostas por fragmentos conservados e específicos, permitindo a avaliação de diferentes estruturas de comunidades e níveis taxonômicos utilizando primers característicos (LARENA et al., 1999; MITCHELL & ZUCCARO, 2006). A principal finalidade da PCR é produzir uma quantidade considerável de um segmento do DNA, e é necessário seguir algumas etapas como: extração do DNA; escolha do segmento através de primers específicos; amplificação e leitura do produto amplificado (FUNGARO, 2000). A técnica de DGGE permite a separação dos produtos de PCR, as fitas de DNA (amplicons), de acordo com as sequencias de pares de bases. Tal separação é possível tendo como base as ligações dos nucleotídeos adenina (A) e timina (T), e a ligação entre citosina (C) e guanina (G), com duas e três pontes de hidrogênio, respectivamente (ABOIM et al., 2004; ARAÚJO, 2010).

A utilização dessas técnicas no estudo de microrganismos é muito vantajosa, pois através delas é possível estabelecer perfis genéticos de comunidade de microrganismos, através da separação das sequências

das bases dos fragmentos amplificados, o que permite uma avaliação espacial e temporal da comunidade de microrganismos no ambiente (ZILLI et al., 2003; FUNGARO, 2000). Avio et al. (2013), avaliaram as comunidades de FMA em solo e raiz (alfafa e milho), submetidos a dois sistemas de preparo do solo (plantio direto e convencional), que receberam adubação de N. Os resultados de PCR e DGGE mostraram que a comunidade de FMA foi afetada pela adubação e pelo sistema de manejo, tanto no solo quanto nas raízes das plantas analisadas. Esses estudos podem ajudar na estratégias de manejo agrícola, e na otimização da relação entre culturas e simbiontes de FMA.

As comunidades vegetais apresentam relação direta com FMA, atuando como multiplicadoras. Entretanto, esta relação é variável entre a espécie vegetal e alguns grupos de fungos micorrízicos, apresentando respostas diferentes para a cultura em sucessão. Ocorre uma relação de dependência entre fungo e planta (HEIJDEN et al., 1998), fatores determinantes como a existência de plantas não micotróficas como, por exemplo, o nabo forrageiro, afeta diretamente comunidades de FMA (GOMIDE et al., 2009), e ainda pode reduzir o número de propágulos de FMA, e comprometer a produção de culturas em sucessão.

Alguns fatores a se considerar quanto à relação entre plantas, comunidades e diversidade de FMA, são a variação espacial, a idade, o tempo de cultivo, as plantas simbiontes e as estratégias de sobrevivência desses fungos. Como já comentado, há espécies vegetais que podem ser ou não micotróficas. Dentre elas, as leguminosas e as gramíneas estão entre as que exercem melhor o papel de multiplicadoras, contrapondo a espécies como o nabo forrageiro, considerado pouco eficiente como planta simbiote, aspectos que interferem na colonização e esporulação dos FMA (GOMIDE et al., 2009).

Uma característica de todas as plantas é a liberação e deposição de compostos orgânicos por suas raízes, podendo ser simples ou complexos. Alguns desses compostos também são utilizados e produzidos por microrganismos. Tais compostos são muito diversos e não específicos, tendo forte relação com a diversidade dos microrganismos que ficam próximos à rizosfera (MOREIRA, 2002). Algumas plantas como as leguminosas produzem alguns metabólitos que desempenham diferentes efeitos sobre os fungos micorrízicos (BENEDETTI et al., 2005). Assim, as diferentes respostas das plantas entre sua relação com FMA, evidencia que comunidades de fungos micorrízicos afetam comunidades vegetais, possuindo uma relação simultânea (HEIJDEN et al., 1998).

A variedade de plantas com que os glomeromicetos (FMA) conseguem se associar favorece a ocorrência generalizada desses fungos em ecossistemas, mesmo desenvolvendo algumas especificidades. Contudo, a baixa diversidade dos glomeromicetos pode estar associada à forma de reprodução clonal e a não seletividade, uma vez que diferentes espécies podem se desenvolver num único simbiote vegetal (MOREIRA, et al., 2008; SMITH & READ, 2008).

Ao se utilizar plantas de cobertura proporciona-se uma variedade de espécies vegetais que irão servir de simbiote para os fungos e influenciar no número de propágulos e na diversidade dos FMA. Numa avaliação realizada por Jasper et al., (1991) em três tipos de solo que possuíam diferentes vegetações (floresta, semiárido e pastagem), verificou-se que solos com diferentes formações tem influência sobre a estrutura de comunidade de FMA, e que esta é afetada também pela permanência de plantas perenes.

Desta forma, a diversidade das comunidades de fungos micorrízicos pode ser influenciada pelo cultivo e cobertura vegetal na entressafra. Áreas cultivadas com milho, por exemplo, apresentaram maiores valores de colonização de FMA nas raízes (ANGELINI, 2012). A prática de rotação e consorciação de culturas contribui para o desenvolvimento e multiplicação dos fungos micorrízicos arbusculares (FMA), uma vez que estes fungos modificam a resposta da mandioca à calagem e adubação fosfatada, aumentando o efeito de tais insumos no crescimento das plantas (MIRANDA et al., 2005).

O sistema radicular da mandioca possui como característica raízes com grandes diâmetros e pouco abundantes, o que acarreta pouca área superficial específica, o que dificulta a assimilação de nutrientes e água, mas favorece a associação e aumenta a dependência aos fungos micorrízicos (BALOTA et al., 1997; ARISMENDI, 2001). Outro fator que faz com que a mandioca necessite dessa simbiose com os fungos micorrízicos arbusculares é a particularidade que estes apresentam, pois se associam geralmente com plantas que apresentam um sistema radicular limitado e pouco ramificado, como é o caso da mandioca, principalmente nas fases iniciais da cultura, pois a baixa densidade de raízes pode comprometer a absorção de P. Não ha uma diferença significativa da resposta em cultivares de mandioca quanto à colonização de FMA. Contudo, a porcentagem dessa colonização é evidenciada nos primeiros três meses após o plantio (SIEVERDING, 1991).

A cultura da mandioca possui ampla especificidade micorrízica com os fungos micorrízicos, e por ser uma planta micorrízica favorece a multiplicação dos fungos no solo (MIRANDA, 1997; OTSUBO, 2004). Como já mencionado, outro benefício para os fungos na associação com as comunidades vegetais, é o fornecimento de energia para seu crescimento e reprodução através de fotossintatos produzidos pelas plantas (SOUZA et al., 2008), sendo que a mandioca apresenta alta taxa metabólica desses compostos (fotossintatos).

Portanto, considerada uma planta micorrízica, a mandioca associa-se com os FMA sendo estes importantes para todas as regiões, principalmente as destinadas a cultivos. Naturalmente, em qualquer ambiente quase todas as espécies de plantas são colonizadas por fungos, que potencialmente são capazes de absorver o fósforo dos solos (SIQUEIRA, 1994). Assim, para um percentual expressivo do desenvolvimento e da produtividade de uma cultura é imprescindível à presença dos fungos micorrízicos e da sua colonização nas raízes. Porém, esta simbiose é variável quanto ao nível de fertilidade do solo, das espécies de fungos existentes e da necessidade dos fungos micorrízicos da cultura (MIRANDA, 1997). Plantas de mandioca micorrizadas cultivadas em casa de vegetação, submetidas a três concentrações de P (baixa $<20\mu\text{g/g}$ solo, média $20\text{-}100\mu\text{g/g}$ solo e alta $>20\mu\text{g/g}$ solo), apresentaram desenvolvimento superior àquelas submetidas às mesmas concentrações de P, porém não micorrizadas (SIEVERDING, 1991).

Cultivos de mandioca submetidos à rotação de cultura apresentam uma relação marcante entre meses de cultivo e colonização de FMA, comparado ao monocultivo, onde a colonização efetiva acontece somente no primeiro mês após o plantio. Porém, quando submetida à rotação de culturas, essa colonização pode ser efetiva até os 5 meses subsequentes (SIEVERDING, 1991). As espécies vegetais apresentam distinções importantes, especialmente as que servem de simbioses aos FMA, sendo distintas entre si. A competência em selecionar tais fungos pode afetar a comunidade e multiplicação dos FMA (BRUNDRETT, 1991). Por exemplo, em áreas de cultivo em pousio, as quantidades de propágulos de FMA foram menores em relação às áreas cultivadas com mandioca (SIEVERDING, 1991).

Em estudos considerando pré-cultivos que influenciam fungos micorrízicos na produção de mandioca, foram identificadas 16 espécies de FMA, onde algumas dessas espécies sofreram expressiva alteração na distribuição relativa aos dois ciclos de cultivo. Sendo assim, a identificação e escolha de plantas de cobertura precisa considerar as

relações quanto ao potencial de inóculo e colonização dos FMA, favorecendo a cultura subsequente (SOUZA, 1999). Oehl et al., (2004), conferiram que algumas espécies de FMA presentes em ecossistemas naturais permanecem quando submetidas ao sistema de cultivo orgânico. Contudo, sofrem diminuição quando mantido o sistema convencional, indicando a importância nos estudos que considere um sistema de manejo menos impactante.

Deste modo, está bem evidenciada a importância da associação entre plantas e FMA, onde a influência das plantas de coberturas tem papel fundamental na produção satisfatória em cultivos em sucessão. Visto a ampla ocorrência desses FMA em ecossistemas (BAGYARAJ & STÜRMER, 2010), é imprescindível o uso de técnicas capazes de avaliar a ocorrência e a diversidade desses fungos nos ambientes de cultivo da mandioca.

3. OBJETIVOS

3.1. OBJETIVO GERAL

Avaliar a influência de plantas de cobertura na ocorrência e estrutura de comunidades de Fungos Micorrízicos Arbusculares (FMA) e a contribuição destas no rendimento da cultura da mandioca em sistema de cultivo orgânico em sucessão.

3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

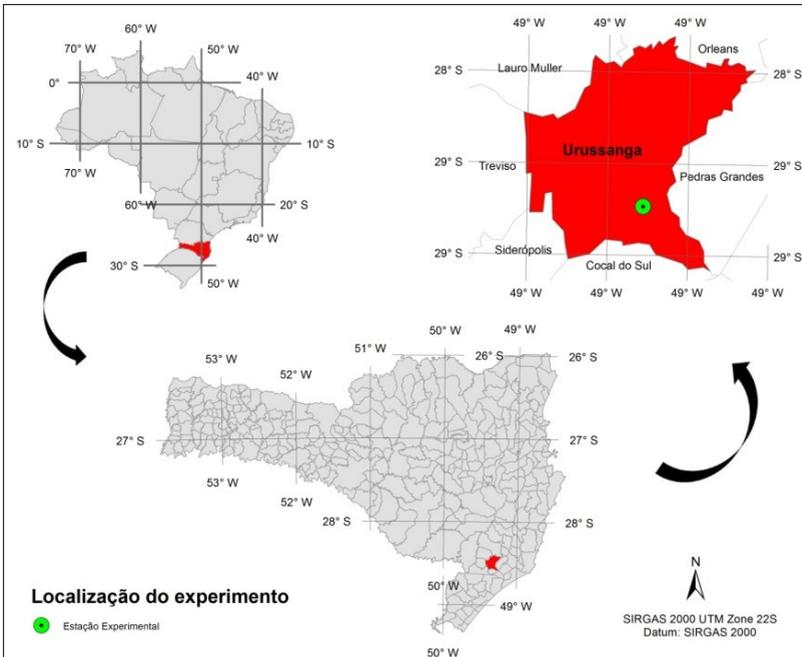
- ✓ Avaliar a ocorrência de FMA pela contagem de esporos, potencial de inóculo e colonização micorrízica em plantas de mandioca após cultivo de plantas de cobertura.
- ✓ Analisar o teor de fósforo (P) no tecido vegetal (folhas) das plantas de mandioca.
- ✓ Avaliar a estrutura de comunidades de FMA através de PCR-DGGE em amostras de solo e raízes de mandioca.

4. METODOLOGIA

4.1. HISTÓRICO, CARACTERIZAÇÃO E PREPARO DA ÁREA

Para a realização deste estudo, foi selecionada uma área localizada na Estação Experimental da Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina – EPAGRI, locada no município de Urussanga, no litoral Sul Catarinense ($28^{\circ}32.118'S$ e $49^{\circ}18.999'O$) (Figura 1), fazendo parte do projeto de Desenvolvimento da Cadeia Produtiva da Mandioca na Região Centro-Sul do Brasil, coordenado pela Epagri-Urussanga.

Figura 1 – Mapa de localização da estação experimental onde foi realizada a implantação do experimento de avaliação dos efeitos das plantas de cobertura na ocorrência dos FMA no cultivo da mandioca.



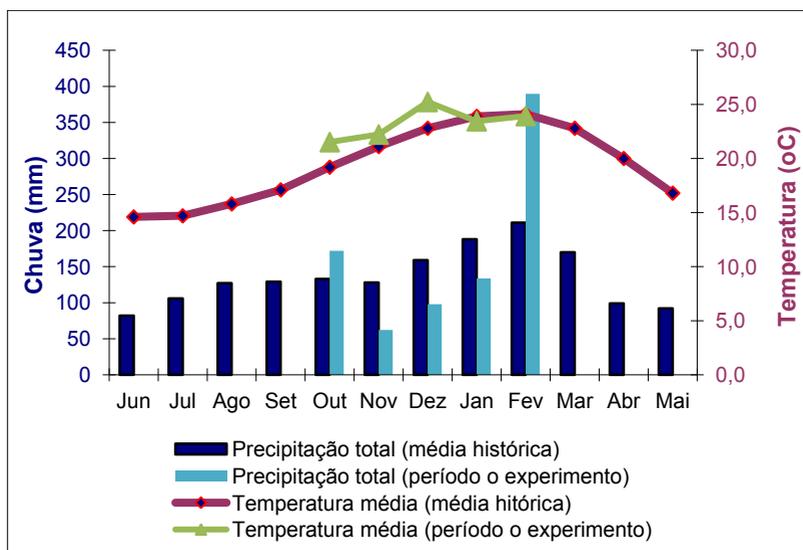
Nos últimos sete anos a área em estudo foi utilizada sob manejo orgânico, com o cultivo de diferentes espécies. Informações destas espécies, de adubação e quantidade de N-P-K aplicada na forma de

composto natural (esterco de galinha) e cama de aviário, assim como resultados de análise química do solo dos últimos sete anos, são apresentados na tabela 1, sendo a adubação realizada na linha de plantio e a quantidade aplicada aferida para cada cultura.

O presente trabalho foi realizado no período de 16/7/2012 a 16/08/2013 em Argissolo Vermelho-Amarelo distrófico (epieutrófico), apresentando os seguintes atributos físico-químicos: 330 g kg⁻¹ de argila; 17 g kg⁻¹ de matéria orgânica; pH_{H2O} 6,1; Índice SMP 6,5; 147,9 mg kg⁻¹ de P disponível e 241,1 mg kg⁻¹ de K trocável (ambos extraídos por Mehlich⁻¹); 0,0 cmol_c kg⁻¹ Al trocável, 3,2 cmol_c kg⁻¹ de Ca trocável e 1,5 cmol_c kg⁻¹ de Mg trocável (ambos extraídos por KCl 1 mol L⁻¹). Determinou-se também o P disponível pelo método da resina trocadora (TEDESCO, 1995), obtendo-se valor médio de 56,90 mg kg⁻¹.

Os dados de precipitação e temperatura média da série histórica e dados dos meses iniciais da implantação do experimento estão representados na figura 2.

Figura 2 - Gráfico Ombrotérmico dos valores de precipitação e temperatura da média histórica e do período inicial do experimento, no município de Urussanga, SC.



Fonte: Dados EPAGRI/Urussanga (SC)

Tabela 1 - Histórico da área experimental, informações de culturas anteriores, adubação e análise química/física do solo.

Ano	Cultura	Tipo de adubação natural	N-P-K aplicado (kg ha ⁻¹)	Análise química
2006	Tomate	Composto orgânico (esterco de ave)	147- 209 - 149	22 g kg ⁻¹ MO**, pH _{H2O} 5,8; Índice SMP***6,5; 28,5 mg kg ⁻¹ de P disponível e 160 mg kg ⁻¹ de K trocável (ambos extraídos por Mehlich1); 0,0 cmol _c kg ⁻¹ Al trocável, 7,7cmol _c kg ⁻¹ de Ca trocável e 1,3cmol _c kg ⁻¹ de Mg trocável (ambos extraídos por KCl 1 mol L ⁻¹)
	Brássica	Composto orgânico (esterco de ave) + cama de aviário	450 - 401 - 232	
2007	Adubos Verdes* Mandioca	Composto orgânico (esterco de ave)	450 - 401 - 232	NR
2008	Tomate	NI	NI	22 g kg ⁻¹ MO; pH _{H2O} 5,9; Índice SMP 6,2; 78,3 mg kg ⁻¹ de P disponível e 314 mg kg ⁻¹ de K trocável (ambos extraídos por Mehlich1); 0,0 cmol _c kg ⁻¹ Al trocável, 5,4cmol _c kg ⁻¹ de Ca trocável e 2,5cmol _c kg ⁻¹ de Mg trocável (ambos extraídos por KCl 1 mol L ⁻¹).
	Milho	NI	NI	
2009	Tomate Batata	Cama de Aviário	398 - 457 - 238 200 - 380 - 280	NR
2010	Tomate	Composto orgânico (esterco de ave)	396 - 1260 - 208	23 g kg ⁻¹ MO; pH _{H2O} 5,5; Índice SMP 6,1; 17,5 mg kg ⁻¹ de P disponível e 222 mg kg ⁻¹ de K trocável (ambos extraídos por Mehlich1); 0,0 cmol _c kg ⁻¹ Al trocável, 6,6cmol _c kg ⁻¹ de Ca trocável e 0,0cmol _c kg ⁻¹ de Mg trocável (ambos extraídos por KCl 1 mol L ⁻¹)
	Brassicac		264 - 840 - 138	
2011	Tomate Batata	Composto orgânico (esterco de ave)	264 - 840 - 138 264 - 840 - 138	NR
2012	Adubos verdes	IE	IE	17 g kg ⁻¹ MO; pH _{H2O} 6,1; Índice SMP 6,5; 147,9 mg kg ⁻¹ de P disponível e 241,1 mg kg ⁻¹ de K trocável (ambos extraídos por Mehlich1); 0,0 cmol _c kg ⁻¹ Al trocável, 3,2 cmol _c kg ⁻¹ de Ca trocável e 1,5 cmol _c kg ⁻¹ de Mg trocável (ambos extraídos por KCl 1 mol L ⁻¹)
	Mandioca			

NR: Análise química não realizada.

NI: Não informado

IE: Implantação do experimento

*Adubos Verdes: coquetel de Aveia; Ervilhaca e Nabo forrageiro.

** Matéria Orgânica.

*** Medida de acidez potencial do solo.

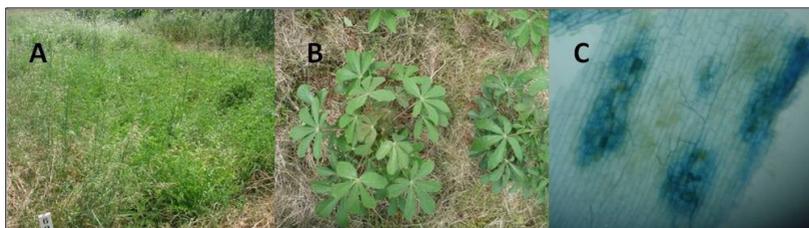
Na implantação do experimento a área foi preparada com aração e gradagem, e não foi realizada correção de adubação, visto que a análise de solo realizada antes do plantio das plantas de cobertura não demonstrou a recomendação. O delineamento experimental foi em blocos casualizados, com quatro repetições, no qual foram testados seis tratamentos de plantas de cobertura, incluindo: Aveia (A); Ervilhaca (E); Nabo (N); e consórcio com Aveia+Ervilhaca (A+E) e Aveia+Ervilhaca+Nabo (A+E+N), além de um tratamento controle. As parcelas foram roçadas (com roçadeira mecânica) a cada 15 dias.

O preparo da área com as plantas de cobertura foi realizado em Julho de 2012 em parcelas com área de 19,45 m². Os tratamentos solteiros com Aveia, Ervilhaca e Nabo receberam 120, 140 e 20 g de sementes por parcela⁻¹ respectivamente, enquanto os tratamentos em consórcio receberam 30, 40 e 10 g de sementes por parcela⁻¹, respectivamente.

4.2. CONDUÇÃO EXPERIMENTAL E AVALIAÇÕES

Após 110 dias do plantio das plantas de cobertura (Figura 3A), estas foram roçadas e iniciou-se em 03/11/2012 o plantio das manivas de mandioca (genótipo Oriental), as quais possuíam 15 cm de comprimento e apresentavam de 3 a 4 gemas. O espaçamento entre linhas e entre plantas foi de 0,90 m, com cinco fileiras e seis manivas por linha. Nesse mesmo período foram coletadas amostras compostas de solo na camada de 0-10 cm de profundidade para a avaliação da ocorrência de fungos micorrízicos arbusculares (FMA), conforme metodologia descrita posteriormente.

Figura 3 – Fotos ilustrativas da área experimental com as plantas de cobertura em desenvolvimento (A); Desenvolvimento da mandioca sobre parcela com planta de cobertura já roçada aos 33DAP* (B); Raiz de mandioca colonizada por fungos micorrízicos(C).



*Dias após o plantio.

Posteriormente aos 33 dias do plantio das manivas de mandioca (Figura 3B), avaliou-se o estande inicial das plantas, considerando altura e diâmetro do caule, obtendo os valores médios de 11,3 cm e 0,4 cm, respectivamente. Neste período realizou-se a coleta de raízes de mandioca para avaliação da colonização micorrízica e da estrutura de comunidades de FMA por PCR-DGGE, descritos a seguir.

Os trabalhos na área do experimento foram encerrados em 16/08/2013, com a coleta dos dados de rendimento da mandioca, considerando quatro plantas por área total da parcela, e a identificação de plantas espontâneas presentes nas parcelas.

4.3. AVALIAÇÃO DA COLONIZAÇÃO MICORRÍZICA

Para a avaliação da colonização micorrízica na mandioca, foram coletadas amostras de raízes das plantas nos intervalos de 33 e 110 dias após o plantio (DAP), nas datas de 06/12/2012 e 21/02/2013, respectivamente. O período de coleta foi definido pela fisiologia das raízes. Sua emergência inicia-se aos 5 a 7 DAP em raízes adventícias. As raízes começam a ser substituídas por raízes fibrosas entre os 15 e 90 DAP. A partir dos 75 DAP algumas raízes já começam a se transformar em raízes de reserva e apresentam de 10 a 15 % de matéria seca, passam a ficar mais espessas (ALVES, 2006), o que pode afetar o método de descoloração.

Raízes finas de uma plântula de mandioca de cada parcela foram coletadas aleatoriamente desconsiderando as plantas presentes na bordadura, e acondicionadas em sacos de papel pardo e mantidas em caixa térmicas resfriadas até o transporte ao laboratório. Em seguida, as raízes foram lavadas em água corrente e mantidas em solução FAA 70% (Formaldeído 37%-50 mL; Etanol 70%-50 mL e Ácido Acético Glacial 900 mL) (JOHANSEN, 1940). Para a determinação da porcentagem de colonização micorrízica utilizou-se o método de intersecção das linhas cruzadas proposto por Giovanetti & Mosse (1980), após o clareamento e coloração das raízes proposto por Koske & Gemma (1989) (Figura 3C).

4.4. NÚMERO MAIS PROVÁVEL

A avaliação do Número Mais Provável (NMP) consistiu da coleta de solo das parcelas após o plantio das plantas de cobertura como já mencionado no item 4.2, e antes do plantio da mandioca, de modo a determinar a influência do pré-cultivo das plantas de cobertura sobre o

potencial de inóculo de FMA presentes no solo. Para isto, amostras de solo de cada parcela foram coletadas e peneiradas em malha de 2 mm, separadas em 60 mL de solo, sendo este diluído e homogeneizando em 540 mL de solo inerte (solo autoclavado) em séries decimais (10^1 a 10^5), utilizando-se cinco repetições para cada diluição obtida. Os solos foram acondicionados em tubetes de 100 mL, e em seguida semeados com sorgo (*Sorghum bicolor*) e mantidos em casa de vegetação por 45 dias (BAGYARAJ & STÜRMER, 2010).

Assim, para determinação do NMP, foram avaliados os seis tratamentos de plantas de cobertura, além de um tratamento referência em que já se conhecia a quantidade existente de esporos. Consistiu da utilização de solo-inóculo de *Rhizophagus clarus* contendo 953 esporos 50 mL solo^{-1} , isolado este pertencente à coleção de FMA do Laboratório de Microbiologia do Solo da UFSC.

Ao final do período de 45 dias as raízes de sorgo foram avaliadas quanto a presença ou ausência de colonização micorrízica, através do método de clareamento e coloração das raízes (KOSKE & GEMMA, 1989), sendo estes resultados utilizados para a determinação do NMP conforme descrito por Alexander (1982).

4.5. TOTAL E CARACTERIZAÇÃO DE ESPOROS

Para a determinação do total de esporos e identificação taxonômica, foram coletadas amostras de 50 g de solo, após o plantio das plantas de cobertura e antes do plantio da mandioca. Tanto para determinar o total de esporos e quanto para caracterização utilizou-se o método de peneiramento úmido e centrifugação em sacarose, e a contagem através de placa canelada e lupa (GERDEMANN & NICOLSON, 1963).

4.6. ESTRUTURA DE COMUNIDADES DE FMA (PCR-DGGE)

As coletas de materiais para a avaliação da estrutura de comunidades de FMA no solo ocorreu posteriormente ao plantio e roçada das plantas de cobertura. Foram coletadas amostras compostas de solo da camada de 0-10 cm de forma aleatória, e armazenadas em sacos plásticos mantidos em caixa térmica refrigerada até a chegada ao laboratório. Também foram coletadas amostras aleatórias de raízes da mandioca aos 33 e 110 DAP, foram acondicionadas em sacos de papel pardo e mantidas em caixa térmicas resfriadas até o transporte ao

laboratório. Em seguida foram mantidas em freezer -80°C até o início das análises de PCR-DGGE.

Para extração do DNA total das amostras de solo foi utilizado o Kit de extração PowerSoil[®] DNA Isolation (MOBIO Laboratories, Inc., Carlsbad, CA, USA), de acordo com as instruções do fabricante.

Previamente a extração do DNA total das amostras de raízes foi realizada a esterilização superficial das mesmas, mergulhando-as por 1 min em álcool 70 %, 3 min em hipoclorito de sódio (2,5 % de cloro ativo) (V/V), 1 min em álcool 70 %, e lavadas por duas vezes por 1 min em água destilada estéril (COOMBS & FRANCO, 2003).

Posteriormente, cerca de 0,5 g das raízes tratadas foram maceradas com auxílio de almofariz e pilão de porcelana em nitrogênio líquido. O material foi acondicionado em tubos de 1,5 mL e o DNA extraído pelo método de CTAB 2% (DOYLE & DOYLE, 1990).

E ambas as extrações, a qualidade do DNA extraído foi verificada em gel de eletroforese horizontal com 1 % de agarose, utilizando-se o tampão TAE 1X (Tris-Acetato-EDTA), depois de corado com “Sybr Green” (Life Technologies, São Paulo, Brasil). A concentração e pureza do DNA foi avaliada em espectrofotômetro Thermo Scientific Nanodrop 1000 (Thermo Fisher Scientific, Wilmington, USA).

A partir do DNA extraído, tanto das amostras de solo quanto de raízes, foram feitas as amplificações parciais do gene rDNA 28S, com a utilização dos iniciadores específicos para fungos, LR1 (5'GCA TAT CAA TAA GCG GAG GA3') e LR2 (5'GTC GTT TAA AGC CAT TAC GTC3') (TROUVELOT et al., 1999; VAN TUINEN et al., 1998), seguida de nova amplificação com iniciadores específicos para FMA, FLR3 (5' TTG AAA GGG AAA CGA TTG AAG T 3') e FLR4 (5' TAC GTC AAC ATC CTT AAC GAA 3') (GOLLOTTE et al., 2003).

A amplificação foi feita em solução tampão para Taq DNA polimerase, contendo $0,2 \text{ mmol L}^{-1}$ dNTPs, 3 mmol L^{-1} MgCl_2 , 1 U DNA polimerase Taq (Invitrogen, São Paulo, Brasil), 10 mmol L^{-1} dos primers LR1 e LR2, 10 ng do DNA extraído (GOLLOTTE et al, 2003). As condições de amplificação da PCR foram 5 min a 94°C ; 35 ciclos de 1 min a 93°C , 1 min a 58°C e 1 min a 72°C , e extensão final por 10 min a 72°C .

A concentração dos produtos da PCR (amplicons) foi determinada em espectrofotômetro (Nanovue Plus, GE, Wisconsin, USA) e 10 ng do produto da primeira PCR utilizado para a segunda PCR com os iniciadores FLR3 e FLR4, com a mesma continuação e

concentração dos reagentes da primeira reação, bem como mesmos ciclos de tempo e temperatura.

Quantidades iguais de amplicons da segunda reação de PCR (300 ng) foram analisadas através de eletroforese em gel com 8% (m/V) de acrilamida:bisacrilamida (37,5:1, m:m), contendo um gradiente de 15 a 55% de formamida e uréia (ØVREÅS et al., 1997). A eletroforese foi realizada à 200 V e 60 °C constantes, por 4h e 30 min, utilizando-se um sistema “DCode” (BioRad, Hercules, CA, USA), e tampão TAE 1X. O DNA foi corado com Sybr Green (Life Technologies, São Paulo, Brasil) e a aquisição das imagens dos géis foi feita em foto documentador GelLogic220Pro (Carestream Health, New York, USA).

A estrutura das comunidades de FMA foi avaliada com o programa *Gel Compar II* (BioSystematica, Wales, UK), a partir da análise de agrupamento hierárquico, utilizando coeficiente de *Jaccard*, e o modelo de agrupamento por UPGMA. A matriz de presença e ausência de amplicons, gerada pelo coeficiente de *Jaccard*, foi utilizada para os cálculos do diagrama de Venn, disponibilizado (online) por Bioinformatics & Evolutionary Genomics-Bélgica (<http://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/Venn/>).

4.7. ANÁLISE DE FÓSFORO DO TECIDO VEGETAL

O material vegetal coletado para análise de fósforo foliar corresponde ao período definido para a avaliação da colonização radicular. Foram coletadas folhas aos 33 e 110 DAP da mandioca. As folhas coletadas foram das mesmas plantas utilizadas para avaliação da colonização radicular e análise molecular, como forma de evitar a perda de unidades experimentais para as próximas coletas. A seleção das folhas levou em consideração as quatro folhas mais jovens, próximas ao ápice da planta. Depois de coletadas foram armazenadas em sacos de papel pardo.

Para o preparo do material, as folhas coletadas foram secas em estufa com circulação de ar forçada, a temperatura de 65 a 70°C, até peso constante. Em seguida foram trituradas em moinho de facas, passando por peneiras de 0,5 mm. Depois do preparo foram guardadas em tubos tipo falcon, até a realização dos procedimentos de laboratório. A análise e metodologia para fósforo foliar foi realizada conforme Tedesco (1995).

4.8. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados obtidos do total de esporos, número mais provável, colonização micorrizica, rendimento e P do tecido vegetal, foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo teste Tukey a 5% de probabilidade. O programa utilizado foi o ASSISTAT Versão 7.6 beta (2013), desenvolvido por Francisco de A. S. e Silva DEAG-CTRN-UFCG. Os dados obtidos com os testes do NMP e colonização micorrizica foram transformados em $\log(x)$ e $\arcseno(\% \text{ colonização}/100)^{0,5}$, respectivamente. Para os dados de Numero Total de esporos encontrados em 50 g de solo, foram submetidos à análise de variância e transformados por $\log(x+1)$ (ALEXANDER,1982).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.

5.1. OCORRÊNCIA DE FMA EM CULTIVO DE MANDIOCA

A adoção de plantas de cobertura promoveu efeitos significativos ($P < 0,01$) sobre a quantidade de propágulos infectivos de FMA no solo (Tabela 2). A densidade de esporos variou de 3,8 a 9,8 esporos mL^{-1} , sendo a maior quantidade encontrada no tratamento com aveia. Quantidades similares de esporos têm sido comumente encontradas em áreas agrícolas após cultivo da aveia (LERMEN et al., 2012), mas são consideradas baixas quando comparadas aos solos de ecossistemas naturais (STÜRMER & SIQUEIRA, 2011).

A baixa ocorrência de esporos pode estar relacionada com o sistema de cultivo sem revolvimento, situação que mantém o equilíbrio das condições físico-químicas do solo, não estimulando a formação de esporos, o que não é observado no sistema convencional, em que o revolvimento promove a seleção de espécies de FMA em termos de sobrevivência, a qual está relacionada com a formação de estruturas de propagação resistentes (CARRENHO et al., 2010).

O potencial de inóculo de FMA determinado pelo método do NMP demonstrou que a adoção do consórcio Aveia, Ervilhaca e Nabo aumentou em seis vezes o potencial de inóculo em relação ao tratamento contendo apenas ervilhaca, enquanto que o tratamento testemunha apresentou potencial de inóculo intermediário. Entretanto tais valores de NMP são cerca de 100 vezes inferiores àqueles do inóculo de *R. clarus* utilizado como referência no presente estudo.

Apesar disso, a introdução de aveia solteira ou consorciada possibilitou incrementos no número de propágulos de FMA no solo em relação ao tratamento ervilhaca, evidenciando os benefícios da aveia solteira ou em consórcio no aumento da quantidade de propágulos. Isso pode estar relacionado com a morfologia fasciculada das raízes desta gramínea e também por ser reconhecida como multiplicadora dos FMA (GOMIDE et al. 2009).

A produção de esporos e o potencial de inóculo não estão essencialmente ligados a fatores fisiológicos dos simbiossiontes envolvidos, visto que eles também são influenciados pelas condições edafoclimáticas, podendo ocorrer situações em que não há relação entre a esporulação e a colonização radicular dos FMA (MERRYWEATHER & FITTER, 1998).

Tabela 2 - Número de propágulos infectivos de fungos micorrízicos arbusculares e colonização micorrízica da mandioca após cultivo de plantas de cobertura.

Tratamentos	Nº. propágulos infectivos mL solo ⁻¹		Colonização micorrízica da mandioca (%)	
	Esporos de FMA	NMP	33DAP ⁽¹⁾	110 DAP
Roçado (testemunha)	4,1 ab	1,2 ab ⁽²⁾	70 bA ⁽³⁾	19 abB
Aveia (A)	9,8 a	2,1 ab	76 abA	20 aB
Ervilhaca (E)	4,9 ab	0,6 b	71 bA	19 abB
Nabo (N)	5,2 ab	1,0 ab	68 bA	13 bB
A + E	6,6 ab	2,3 ab	82 aA	16 abC
A + E + N	3,8 b	3,9 a	70 bA	20 aB
Referência ³	19	183	-	-
	CV = 7,55%	CV = 12,50%	CV = 4,88%	

⁽¹⁾DAP – Dias após plantio.

⁽²⁾Médias seguidas de mesma letra minúscula em cada coluna.

⁽³⁾Médias seguidas pela mesma letra maiúscula entre épocas de amostragem não diferem pelo teste de Tukey a 5 %.

Durante a contagem de esporos foram identificadas nove espécies de FMA, incluindo *Acaulospora mellea*; *A. morrowiae*; *Dentiscutata heterogama*; *Funnneliformis mosseae*; *Glomus* sp1; *Glomus* sp2; *Glomus* sp3; *Paraglomus occultum* e *Scutellospora* sp.. Em área de plantio de mandioca após 82 dias de pré-cultivo com leguminosas e sorgo, Souza et al. (1999) verificaram a ocorrência de 16 espécies de FMA, sendo o gênero *Glomus* o que apresentou maior frequência. Além disso, os autores verificaram que o pré-cultivo com sorgo promoveu incrementos significativos no número de propágulos de FMA no solo, comportamento semelhante ao observado para a gramínea aveia (solteira ou consorciada) no presente estudo.

Apesar dos resultados obtidos, as espécies de FMA identificadas foram amplamente encontradas na área experimental, sem efeitos significativos dos tratamentos nas quantidades dos morfotipos identificados. Por esta razão, priorizou-se a avaliação dos efeitos das plantas de cobertura sobre as comunidades dos FMA empregando-se a

técnica de PCR-DGGE, cujos resultados serão apresentados posteriormente.

Apesar do baixo potencial de inóculo no solo após o cultivo das plantas de cobertura, a mandioca apresentou altos valores de colonização micorrízica aos 33 DAP (BALOTA et al., 1999) (Tabela 2) com o maior índice ocorrendo no tratamento A+E. Mesmo o tratamento roçado apresentou colonização micorrízica de 70%, considerada elevada (SIEVERDING, 1991). Esta alta colonização micorrízica pode estar relacionado com o elevado grau de micotrofismo da mandioca nos estágios iniciais de crescimento, a qual apresenta sistema radicular pouco desenvolvido (COLOZZI & NOGUEIRA, 2007). De fato, estudos a campo têm relatado porcentagem de colonização micorrízica da mandioca variando de 31 a 85 % (BALOTA et al., 1999; BURNS et al., 2012) corroborando com os resultados do presente trabalho. O pré-cultivo das plantas de cobertura pouco influenciou a colonização micorrízica da mandioca aos 110 DAP e isto pode estar relacionado com a menor dependência micorrízica nos estágios avançados da cultura em termos de nutrição de P (RAMOS & MARTINS, 2010), bem como pelo espessamento radicular que dificulta o estabelecimento da simbiose micorrízica (ZANGARO & MOREIRA, 2010).

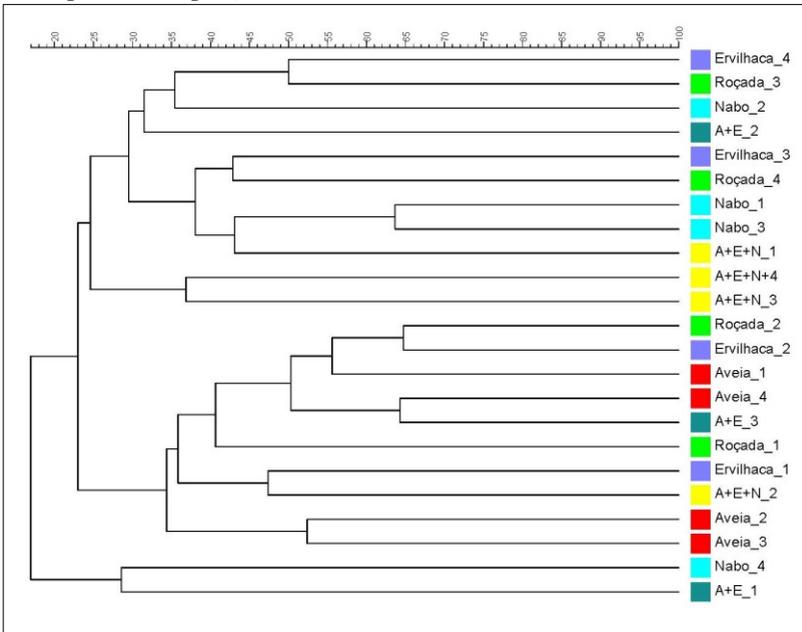
A ocorrência dos FMA avaliada pela presença de propágulos de FMA no solo e também pela colonização micorrízica da mandioca é influenciada não somente pelos tratamentos de plantas de cobertura, mas também pelo histórico de cultivos anteriores com plantas micotróficas como tomate, adubos verdes, milho e batata (Tabela 1), e presença de plantas espontâneas comumente encontradas na área durante o pousio. Durante a condução experimental foram identificadas cerca de 20 espécies de plantas espontâneas, incluindo *Cynodon dactylon* sp. L. (Cinodon); *Digitaria ciliaris* (Milhã); *Amaranthus viridis* L. (Caruru); *Rumex obtusifolius* L. (Língua de vaca); *Commelina erecta* sp. L. (Trapoeiraba); *Veronica persica* Poir. (Verônica); *Cyperus rotundus* sp. L. (Tiririca); *Amaranthus deflexus* L. (Caruru amargoso); *Stellaria media* (L.) Vill (Erva de passarinho); *Sida spinosa* L. (Guanxuma); *Silene gallica* L. (Alfinete); *Lupinus albus* (Tremoço); *Impomoea anil* (L.) Roth (Corda de Viola); *Brachiaria plantaginea* (Link) Hitchc (Papuã); *Plantago tomentosa* Lam. (tanchagem); *Phenax sonnerati* (Poir.)Wedd. (Quebra pedra); *Oxalis corymbosa* DC. (Azedinha); *Bidens* sp. (Picão preto); *Ageratum conyzoides* L. (Picão branco); *Ipomoea batatas* Poir. (Batata doce), identificadas conforme Lorenzi (2008). A maior parte destas espécies pertence a famílias de plantas com

capacidade de formar associação micorrízica (PURIN et al., 2006). Tendo, portanto, capacidade de formar um banco de propágulos de FMA que podem interferir nas culturas em sucessão.

5.2. ESTRUTURA DE COMUNIDADES DE FMA NO SOLO E RAIZ DE MANDIOCA

Os resultados da estrutura de comunidades de FMA no solo, avaliada pela técnica de PCR-DGGE, após o cultivo das plantas de cobertura e previamente ao cultivo da mandioca, são apresentados na Figura 4. Não houve similaridade entre os tratamentos quanto à estrutura de comunidades dos FMA no solo, evidenciando a distribuição heterogênea destes fungos e ausência de efeito das plantas de cobertura solteiras ou consorciadas.

Figura 4 - Dendograma gerado a partir da PCR-DGGE de 24 amostras de solo (Anexo A) , coletadas aos 110 dias após o plantio das plantas de cobertura. Agrupamento hierárquico obtido a partir do coeficiente de Jaccard e modelo de agrupamento por UPGMA. A nomenclatura das amostras refere-se aos tratamentos de plantas de cobertura e a numeração corresponde às repetições.



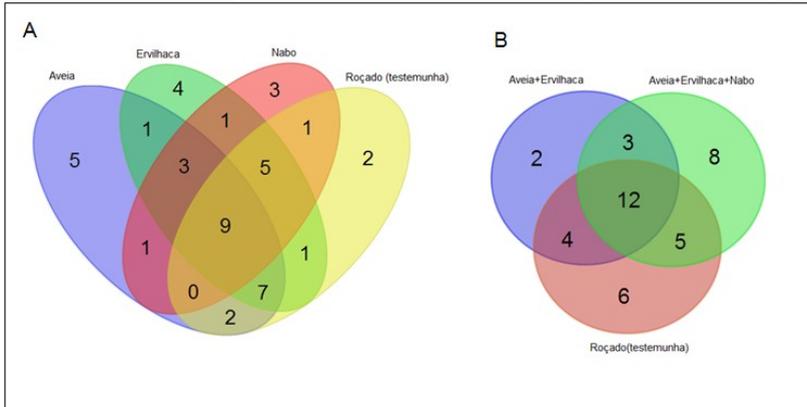
A área experimental apresenta histórico de adoção de sistema de cultivo orgânico com o cultivo de várias culturas (Tabela 1), o que tem efeito marcante sobre a disseminação de propágulos de FMA na área, contribuindo assim, para a heterogeneidade da estrutura de comunidades destes fungos. Possivelmente, o cultivo de apenas um ciclo de plantas de cobertura não foi suficiente para ocasionar seletividade marcante dos FMA no solo.

O sistema de cultivo orgânico promove a cobertura do solo, a incorporação de restos vegetais, o uso de adubação orgânica e a rotação de culturas (ANDREOLA & FERNANDES, 2007). Além disso, a prática de cultivos orgânicos permite melhores condições de fertilidade do solo, aumento do teor de matéria orgânica, melhoria da infiltração de água e aeração, equilíbrio térmico e a formação e estabilização de agregados (PURIN et al., 2006).

Este cenário pode explicar o baixo potencial de inóculo dos FMA no solo (Tabela 2), pois os agregados formados protegem, de certa forma, os propágulos destes fungos, diminuindo a sua associação com as plantas de cobertura. Contudo, estes propágulos continuam presentes no solo e acabam sendo identificados pelas técnicas de PCR-DGGE (BERBARA et al., 2006).

Conforme demonstrado na figura 5A, que se refere aos tratamentos com as plantas de cobertura solteiras, observa-se que o tratamento com ervilhaca possui o maior número de amplicons (31) e que desse total a maioria são compartilhados com os demais tratamentos, deixando apenas 4 específicos ao tratamento em si. A quantidade de amplicons compartilhados é maior que o número de amplicons que ocorrem isoladamente nos tratamentos, evidenciando a homogeneidade da área, conforme já mencionado. No entanto, tanto a Ervilhaca (4), Aveia (5), o nabo (3) como a testemunha (2) apresentaram amplicons distintos dos demais.

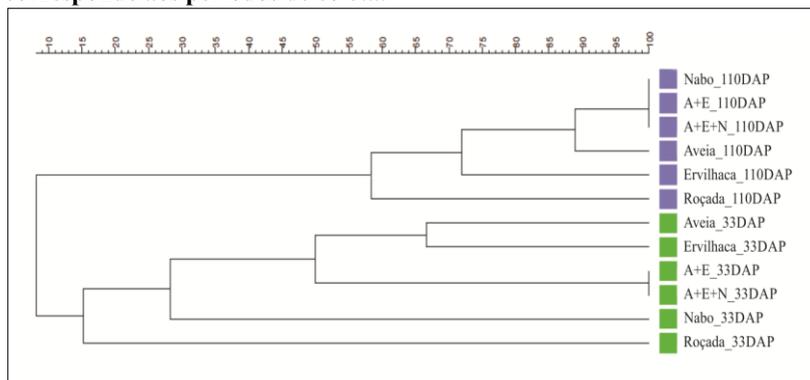
Figura 5 - Diagrama de Venn, calculado a partir da matriz presença e ausência gerada pelo coeficiente de similaridade de *Jaccard* das amostras de solo, considerando plantas de cobertura solteiras (A) e consorciadas (B).



As amostras que representavam os tratamentos consorciados (Figura 5B) entre as plantas de cobertura apresentam maior número de amplicons compartilhados. Porém, é o tratamento com o consórcio entre aveia+ervilhaca+nabo que apresentou o maior número de amplicons distinto aos demais tratamentos. O tratamento roçado obteve um valor considerável de amplicons (27), e como este tratamento não recebeu influência das plantas de cobertura, este resultado pode ser um indicativo da participação das plantas espontâneas presente na área, ou da influencia do sistema de cultivo orgânico no decorrer de sete anos anteriores.

A estrutura de comunidades de FMA nas raízes da mandioca foi analisada aos 33 e 110 DAP. A partir do dendograma apresentado na Figura 6, verifica-se que houve 100% de similaridade entre os tratamentos consorciados A+E e A+E+N aos 33 DAP. Aos 110 DAP, o pré-cultivo com nabo também apresentou similaridade com os tratamentos consorciados, enquanto a testemunha (roçada) apresentou baixa similaridade com as demais plantas de cobertura nos dois períodos de avaliação.

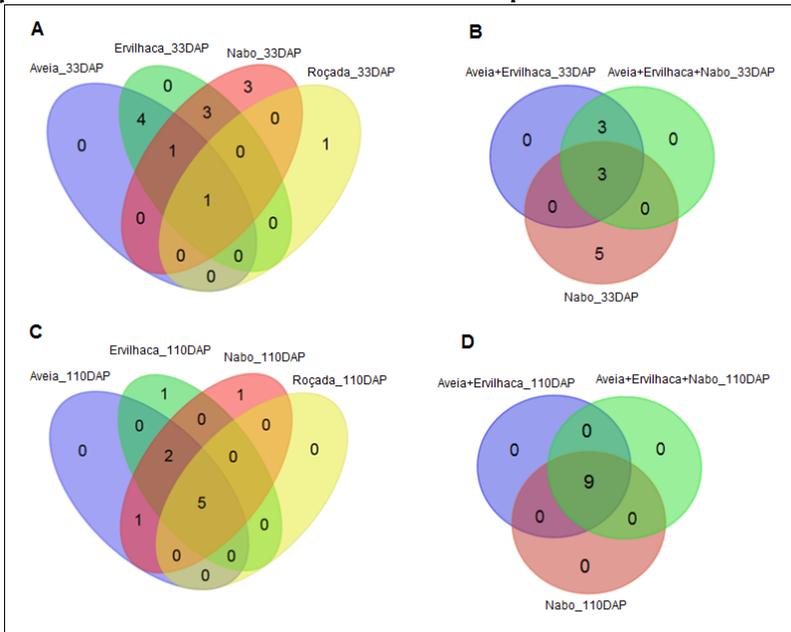
Figura 6 - Dendrograma gerado a partir da PCR-DGGE (Anexo B) de 12 amostras de raízes de mandioca, coletadas aos 33 e 110 dias após o plantio das manivas. Agrupamento hierárquico obtido a partir do coeficiente de Jaccard e modelo de agrupamento por UPGMA. A nomenclatura das amostras refere-se aos tratamentos de plantas de cobertura e a numeração corresponde aos períodos de coleta.



Estes resultados indicam que os perfis das comunidades de FMA presentes nas raízes da mandioca são influenciados pelas plantas de cobertura, sendo as comunidades fúngicas distintas ao longo do tempo. Vandenkoornhuyse et al. (2003), avaliaram amostras de raízes em áreas de pastagem e verificaram alterações temporais sobre as comunidades de FMA. Assim, a longo prazo mudanças de manejo, como uso de fertilizantes (LIN et al., 2012; LUMINI et al., 2010) podem interferir na permanência, e consequentemente, na diversidade de FMA no solo.

Na Figura 7 é apresentado o número e a distribuição de amplicons nos diferentes tratamentos de plantas de cobertura. Verifica-se que o tratamento testemunha (roçada) apresentou menor número de amplicons em relação aos tratamentos com as plantas solteiras aos 33 e 110 DAP (A e C). Além disso, a distribuição dos amplicons foi alterada ao longo do ciclo da mandioca, sendo o tratamento com nabo apresentando comunidades de FMA específicas aos 33 DAP (A). Entretanto, as comunidades dos FMA foram similares entre os tratamentos consorciados e com nabo, apresentando amplicons comuns entre os mesmos (B e D).

Figura 7 - Diagrama de Venn obtido através dos dados de presença e ausência da análise do dendograma (figura 06) das amostras de raiz de mandioca, considerando o período após o plantio (33; e 110 DAP), e as plantas de cobertura solteiras e consorciadas separadamente.



Portanto, ficam evidenciadas alterações na sucessão das comunidades fúngicas nas raízes da mandioca e isto pode ter relação com a dinâmica da simbiose micorrízica ao longo do ciclo desta cultura. Conforme comentado anteriormente, em estágios mais avançados de desenvolvimento da planta, a dependência aos FMA pode ser reduzida, restringindo a permanência de determinados grupos de fungos nas raízes. Espécies de Glomeraceae apresentam hifas intra-radiculares que se diferenciam em estruturas globosas ricas em lipídeos denominadas vesículas (MOREIRA & SIQUEIRA, 2006), que podem permitir a sobrevivência destes fungos nas raízes, mesmo quando há limitação no fornecimento de fotoassimilados pela planta simbiótica.

A técnica do PCR-DGGE apresenta como limitação a impossibilidade de identificação específica dos FMA (ØVREÅS et al., 1997), mas a ocorrência de várias espécies de *Glomus* no solo pode indicar que este grupo de fungos tem potencial de colonizar as raízes da mandioca mesmo em estágios avançados da cultura.

Dessa forma, estudo futuros empregando a técnica de sequenciamento (LIN et al., 2012; LUMINI et al., 2010) poderão ser utilizadas na identificação das espécies dos FMA em sucessão simbiótica com as raízes de mandioca ao longo do ciclo dessa cultura.

5.3. ESTANDE, TEOR DE FÓSFORO FOLIAR E RENDIMENTO NA CULTURA DA MANDIOCA

O crescimento, nutrição mineral de fósforo e rendimento da mandioca não foram influenciados pelos tratamentos de plantas de cobertura.

A avaliação do estande considerando a altura e o diâmetro do caule aos 33 DAP das plantas de mandioca no experimento foi definida assim que completou o primeiro período de coleta de raízes da mandioca para a avaliação da colonização radicular (Tabela 3). Os valores médios de altura e diâmetro das plantas foram de 12 e 0,4 cm, respectivamente.

Tabela 3 - Altura e Diâmetro do caule das plantas de mandioca. Estande avaliado aos 33 dias após o plantio.

Tratamentos	Altura (cm)	Diâmetro (cm)
Roçado (testemunha)	11,2 a ⁽¹⁾	0,5 a ⁽¹⁾
Aveia (A)	13,1 a	0,5 a
Ervilhaca (E)	10,8 a	0,4 a
Nabo (N)	10,9 a	0,3 a
A + E	11,1 a	0,4 a
A + E + N	15,3 a	0,4 a
	CV = 17,83%	CV = 25,74%

¹ As médias seguidas de mesma letra minúscula na vertical não diferem pelo teste de Tukey a 5 %.

Portanto, os tratamentos de plantas de cobertura não influenciaram a altura e o diâmetro das plantas de mandioca. Albuquerque (2012) avaliou a interferência das plantas espontâneas sob o estande no cultivo de mandioca, e obteve valores médios de altura e diâmetro entre 51 e 0,75 cm, respectivamente. O mesmo verificou que a permanência de plantas espontâneas na cultura da mandioca acima dos 50 DAP afeta negativamente a altura e o diâmetro do caule da

mandioca. Outro estudo considerando nove variedades de mandioca considerou altura da planta aos 40 DAP, e não encontrou diferenças significativas, apresentando um valor médio de 10,9 cm (RÓS-GOLLA et al., 2009). Almendra (2005), avaliou a altura de três cultivares sob influência de cultivo com plantas espontâneas, obtendo aos 30 DAP um valor médio de 17,2 cm de altura das plantas de mandioca.

Os resultados da avaliação do teor de fósforo foliar, foram coletados em dois períodos, aos 33 e 110 DAP, e o objetivo era verificar se as plantas de cobertura influenciaram nesses teores. Os teores médios de P foliar variaram de 5,2 a 6,4 g kg⁻¹ de P durante o cultivo da mandioca, independentemente dos tratamentos das plantas de cobertura (Tabela 5). Teores foliares variando de 2 a 5 g kg⁻¹ de P são adequados para a cultura da mandioca (SBCS, 2004; HOWELER, 1987), portanto, os valores encontrados no presente estudo, independente do período de coleta, são superiores ao preconizado na literatura, o que pode estar relacionado com a elevada fertilidade do solo (Tabela1).

Tabela 4 - Quantidade em g kg-1 de Fósforo do tecido vegetal, oriundos de folhas de mandioca.

Tratamentos	Coletas	
	33 DAP	110 DAP*
Roçado (testemunha)	5,2 a	5,3 a
Aveia (A)	5,6 a	5,2 a
Ervilhaca (E)	6,1 a	5,5 a
Nabo (N)	6,4 a	5,3 a
A + E	5,7 a	5,3 a
A + E + N	5,5 a	5,9 a
	CV = 9,68%	CV = 12,43%

¹As médias seguidas de mesma letra minúscula na vertical não diferem pelo teste de Tukey a 5 %.

* DAP – Dias após plantio.

Ao final do experimento aos 304 DAP, a mandioca apresentou rendimento médio estimado de 21 Mg ha⁻¹ (Tabela 5) e sem efeito significativo das plantas de cobertura, valor este superior ao rendimento do cultivar Oriental nos municípios de SC que é de 15,4 Mg ha⁻¹ (EPAGRI, 2014). Desta forma, a fertilidade do solo associada à elevada colonização micorrízica da mandioca nos estágios iniciais de desenvolvimento (Tabela 2) contribuíram para a nutrição mineral de P e rendimento desta cultura.

Tabela 5 - Rendimento da cultura de mandioca, ao final de 10 meses de cultivo.

Tratamento	Rendimento Mg / ha
Roçado (testemunha)	22 a ⁽¹⁾
Aveia (A)	17 a
Ervilhaca (E)	20 a
Nabo (N)	20 a
A + E	24 a
A + E + N	23 a

CV = 61,57%

⁽¹⁾As médias seguidas de mesma letra minúscula na vertical não diferem pelo teste de Tukey a 5 %.

O rendimento das raízes de mandioca foi verificado em um estudo que considerou a utilização de plantas de cobertura do solo, onde o tratamento com milheto proporcionou a maior média atingindo 48,6 Mg ha⁻¹, comparado ao sistema convencional que apresentou 37 Mg ha⁻¹ (OTSUBO, 2008), Neste plantas de mandioca consorciadas com milho o rendimento foi de 33,4 Mg ha⁻¹ (SCHONS, 2009). Outro estudo que utilizou plantas de cobertura como a aveia e ervilhaca, e o preparo do solo com cultivo mínimo e convencional, não encontrou diferença significativa entre os tratamentos, obtendo o valor médio de 10 Mg ha⁻¹ (GABRIEL FILHO et al., 2000).

6. CONCLUSÕES

O pré-cultivo de plantas de cobertura não influenciou a estrutura de comunidades de FMA no solo por PCR-DGGE. Entretanto, verificou-se que nas raízes da mandioca em sucessão, a variável tempo interferiu nos agrupamentos da estrutura de comunidade de FMA.

Apesar da alta disponibilidade de P no solo, a colonização micorrízica da mandioca foi elevada e estes fatores contribuíram para os teores foliares de P e o rendimento da cultura, independentemente das plantas de cobertura utilizadas.

Um ciclo de cultivo de plantas de cobertura não é suficiente para obter respostas sobre a estrutura de comunidades de FMA na cultura da mandioca.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABOIM, M. C. R., BARBOSA, J. C., COUTINHO, H. L. C., ROSADO, A. S. **Avaliação de Diversidade Microbiana em Amostras de Solos. Técnica do PCR/DGGE**. Rio de Janeiro. EMBRAPA-Solos, (Doc. 68). P. 1-31, 2004.

ADELMAN, M.J. & MORTON, J.B. Infectivity of vesiculat-arbuscularmycorrhizal fungi: Influence of host-soil diluent combinations on MPN estimates and percentage colonization. **Soil Biology & Biochemistry**, 18:77-83, 1986.

ALBUQUERQUE, J.A.A. et al. **Desenvolvimento da cultura de mandioca sob interferência de plantas daninhas**. *Planta daninha* [online], vol.30, n.1, p.37-45, 2012.

ALEXANDER, M. Most probable number method for microbial populations. In: PAGE, A.L. ed. *Methods of Soil Analysis. Part 2: chemical and microbiological properties*. 2 ed. Madison: **American Society of Agronomy**, p.815-820, 1982.

ALMENDRA, A. A., **Avaliação de três Cultivares de Mandioca de Mesa (*Manihot esculenta* Crantz) Submetidas ao Controle de Plantas Daninhas**. Dissertação de mestrado. Teresina, Centro de Ciências Agrárias / UFPI. 29 p. 2005.

ALVARENGA, R. C.; CABEZAS, W. A. L.; CRUZ, J. C.; SANTANA, D. P. Plantas de cobertura de solo para sistema plantio direto. **Informe Agropecuário** (Belo Horizonte), Belo Horizonte , v. 22, n. 208, p. 25-36, 2001

ALVES, A. A. C. Fisiologia da mandioca. In: SOUZA, L. da S.; FARIAS, A. R. N.; MATTOS, P. L. P.; FUKUDA, W. M. G. (Orgs.). **Aspectos socioeconômicos e agrônômicos da mandioca**. 1. ed. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, p. 138-169, 2006.

ALVES, A. A. C.; SILVA, A. F. EMBRAPA MANDIOCA E FRUTICULTURA, 2003. Disponível em: <http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Mandioca/mandiocasemiario/adubacao.htm> – Acesso: 13 Setembro 2012.

ALVES, M.C.; MOREIRA, M.A.B.; CHAGAS, M. C. M.; HOLANDA, J.S. de; SILVA, J. da; LIMA, J.D. de S. Recomendações técnicas para o cultivo da mandioca. In: LIRA, M. A.; CHAGAS, M. C. M. das; LIMA,

J. M. P. de; HOLANDA, J. S. de. (Org.). **Culturas alimentares na agricultura familiar**. Natal: EMPARN, 66 p, 2009.

ALVES, M.V.; B.D.; CARDOSO, E.J.B.N. Fauna edáfica em diferentes sistemas de cultivo no estado de São Paulo. **Revista de Ciências Agoveterinárias**, Lages, v.5, n.1,p. 33-43, 2006.

AMADO, T.J.C.; BAYER, C.; ELES, F.L.; BRUM, A.C. Potencial de culturas de coberturas em acumular carbono e nitrogênio no solo no plantio direto e a melhoria da qualidade ambiental. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.25, p.189-197, 2001.

AMBROSANO, E. J.; GUIRRADO, N.; ANTARELLAA, H.; SSETO, R.; MENDES, P. C. D.; ROSSI, F.; AMBROSANO, G. M. B.; SCHAMMAS, E. A.; JUNIOR, I. A.; FOLTRAN, D. E. Plantas para cobertura do solo e adubação verde aplicadas ao plantio Direto. **Informações Agronômicas: Potafós**, Piracicaba, n.112, p. 1-16, 2005.

ANDREOLA, F. & FERNANDES, S. A. P. A Microbiota do solo na Agricultura Orgânica e no Manejo das Culturas. In: SILVEIRA, A.P.D. & S.S. FREITAS. ed. **Microbiota do Solo e Qualidade Ambiental**. Instituto Agronômico, Campinas, p.38-56, 2007.

ANGELINI, G. A. R.; LOSS A.; PEREIRA, M. G.; TORRES, J. L. R.; SAGGIN JR, O. J. Colonização micorrízica, densidade de esporos e diversidade de fungos micorrízicos arbusculares em solo de Cerrado sob plantio direto e convencional. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 33, n. 1, p. 115-130, 2012.

ARAÚJO, W. L.; LACAVA, P. T.; MARCON, J.; LIMA, A. O. S.; KUKLIMSKYSOBRAL, J.; KLEINER-PIZZIRANI, A. A.; AZEVEDO, J. L. (Coord.). **Guia prático: isolamento e caracterização de microrganismos endofíticos**. Piracicaba: ESALQ/USP, p.167, 2010.

ARCOS, A. Y G. BENAVIDES. **Ocurrencia y cuantificación de la micorriza arbuscular (MA) bajo bosques y agroecosistemas**. In: Aspectos ambientales para el ordenamiento territorial del municipio de Mitú, departamento del Vaupés. Instituto Geográfico Agustín Codazzi. Ed. Tercer Mundo, Bogotá. P. 624-627, 1996.

ARISMENDI, L. G. **Investigacion sobre el cultivo de Manihot esculenta (Manihot sculenta Crantz) en El oriente de Venezuela**. Revista UDO Agrícola, 1. P 1-10, 2001.

AVIO, L. ; CASTALDINI M.; FABIANI, A.; BEDINI, S.; SBRANA, C.; TURRINI, A.; GIOVANNETTI, M. Impact of nitrogen fertilization and soil tillage on arbuscular mycorrhizal fungal communities in a Mediterranean agroecosystem. *Soil Biology and Biochemistry*, V. 67, December, p. 285-294, 2013.

AZEVEDO, L.C.B. **Comunidades de Fungos Micorrízicos arbusculares no solo e raízes de cana de açúcar**. Tese de doutorado. Piracicaba, Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, 110 p., 2008.

BAGYARAJ, J.D. & STÜRMER, S. L. **Fungos micorrízicos arbusculares (FMAs)** IN: MOREIRA, F. M. de S.; HUISING, E. J.; BIGNELL D. E. **Manual de biologia dos solos tropicais: amostragem e caracterização da biodiversidade**. Lavras: UFLA, 368p. 2010.

BALOTA, E.L.; LOPES, E.S.; HUNGRIA, M. & DÖBEREINER, J. Ocorrência de bactérias diazotróficas e fungos micorrízicos arbusculares na cultura da mandioca. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 34:1265-1276, 1999.

BALOTA, E.L.; LOPES, E.S.; HUNGRIA, M.; DÖBEREINER, J. Inoculação de bactérias diazotróficas e fungos micorrízicos-arbusculares na cultura da mandioca. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.32, p.627-639, 1997.

BARRETO, B. SOUSA, T. C. R. AGUIAR, J. L. P. Produção, Custos e Rentabilidade de mandioca no Distrito Federal. **Anais XI Congresso Brasileiro de Mandioca** - Campo Grande – MS. 2005.

BENEDETTI, T.; ANTONIOLLI, Z. I.; GIRACCA, E. M. N.; STEFFEN, R. B. **Diversidade de fungos micorrízicos-arbusculares na cultura do milho após uso de espécies de plantas de cobertura de solo**. *Revista de CiênciasAgroveterinárias*, Lages, v. 4, n. 1, p. 44-51, 2005.

BERBARA, R.L.L.; SOUZA, F.A.; FONSECA, H.M.A.C.. Fungos Micorrízicos Arbusculares: muito além da nutrição. IN: FERNANDES, M. S. (editor). **Nutrição Mineral de Plantas**. 1. ed. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 432 p. 2006.

BETTIOL, W.; GHINI, R.; GALVÃO, A.H.G.; LIGO, M.A.V.; MINEIRO, J.L.C. Soil organisms in organic and conventional cropping systems. **Scientia Agricola** n.59. p.565-572, 2002.

Bioinformatics & Evolutionary Genomics-Bélgica - Disponível em: <http://bioinformatics.Psb.ugent.be/webtools/Venn/>. Acessado em: 03 Abr. 2014.

BORGES, A. L.; TRINDADE, A. V. Cultivo Orgânico de Fruteiras Tropicais Manejo do Solo e da Cultura. **Circular técnica 64 – EMBRAPA**, Cruz das Almas, BA, 2003.

BORTOLUZZI, E.C.; ELTZ, F.L.F. **Efeito do manejo mecânico da palhada de aveia preta sobre a cobertura, temperatura, teor de água no solo e emergência da soja em sistema de plantio direto**. Revista Brasileira de Ciência do Solo, Campinas, v. 24, p. 449-457, 2000.

BRUNDRETT, M. **Mycorrhizas in natural ecosystems**. *Advances in Ecological Research*, v.21, p.171-313, 1991.

BURNS A. E., GLEADOW R.M., ZACARIAS A.M., CUAMBE C.E., MILLER, R.E.; CAVAGNARO T.R. Variations in the chemical composition of cassava (*Manihot esculenta* Crantz) leaves and roots as affected by genotypic and environmental variation. **American Chemical Society**. *J Agric Food Chem*. n.60, p. 4946–4956, 2012.

CALEGARI, A.; COSTA, M. B. da. **Adubação verde no Sul do Brasil**. 2. ed. Rio de Janeiro (RJ): AS-PTA, 346p.1993.

CARVALHO, P. C. L. Biossistemática de Manihot. IN: SOUZA, L. D. et al. (ed.). **Aspectos socioeconômicos e Agronômicos da mandioca**. Cruz das Almas-BA: Embrapa mandioca e fruticultura tropical, p. 112-123, 2006.

CARVALHO, P. C. L.; FUKUDA, W. M. G. Estrutura da Planta e Morfologia. IN: SOUZA, L. D. et al. (ed.). **Aspectos socioeconômicos e Agronômicos da mandioca**. Cruz das Almas-BA: Embrapa mandioca e fruticultura tropical, p. 560-590, 2006.

CARENHO, R.; GOMES-DA-COSTA, S.M.; BALOTA, E.L. & COLOZZI-FILHO, A. Fungos micorrízicos arbusculares em agrossistemas brasileiros. In: SIQUEIRA, J.O.; SOUZA, F.A.; CARDOSO, E.J.B.N. & TSAI, S.M. eds. *Micorrizas: 30 anos de pesquisas no Brasil*. Lavras: UFLA, p.215-250, 2010.

CHAVES, J. C. D.; CALEGARI, A. Adubação verde e rotação de culturas. **Informe Agropecuário** (Belo Horizonte), Belo Horizonte, v. 22, n. 212, p. 53-60, set./out. 2001.

- CLAPP, J. P., YOUNG, J. P. W., MERRYWEATHER, J., FITTER, A.H. Diversity of fungal symbionts in arbuscular mycorrhizas from a natural community. **New Phytologist** 130, p. 259-265. 1995.
- CLAPP, J. P., YOUNG, J. P. W., MERRYWEATHER, J. W.; FITTER, A. H. Diversity of fungal symbionts in arbuscular mycorrhizas from a natural community. **New Phytologist**, Lancaster, v. 130. p. 259–265, 1995.
- COLOZZI, A. & NOGUEIRA, M.A. Micorrizas Arbusculares em Plantas Tropicais: Café, Mandioca e Cana-de-açúcar- In: SILVEIRA, A.P.D. & S.S. FREITAS. ed. **Microbiota do Solo e Qualidade Ambiental**. Instituto Agronômico, Campinas, p.38-56, 2007.
- COOMBS, J.T. & FRANCO, C.M.M. Isolation and identification of actinobacteria from surface-sterilized wheat roots. **Applied Environmental Microbiology**, 69:5603-5608, 2003.
- DAI, J.; HU, J.; LIN, X.; YANG, A.; WANG, R.; ZHANG, J.; WONG, M. H. Arbuscular mycorrhizal fungal diversity, external mycelium length, and glomalin-related soil protein content in response to long-term fertilizer management. **Journal of Soils and Sediments**. V. 13, p. 1-11, 2013.
- DERPSCH, R.; ROTH, C.; SIDIRAS, N.; KÖPKE, U. **Controle da erosão no Parana, Brasil: sistemas de cobertura do solo, plantio direto e preparo conservacionista do solo**. Eschborn: Deutsche Gesellschaft für Technische Zusammenarbeit, 272p, 1991.
- DEVIDE, A. C. P.; CASTRO, C. M. de. **Mandioca: múltiplos usos na transição agroecológica**. Pesquisa & Tecnologia, São Paulo, v. 07, n. 23, p.1-8, set. 2010.
- DEVIDE, A. C. P.; RIBEIRO, R. L. D.; VALLE, T. L.; ALMEIDA, D. L.; CASTRO, C. M.; FELTRAN, J. C. Produtividade de raízes de mandioca consorciada com milho e caupi em sistema orgânico. **Bragantia**, vol.68, n.1, pp. 145-153, 2009.
- DONEDA, A., AITA, C., GIACOMINI, S. J., CARVALHO, E. C. Fitomassa e Decomposição de Resíduos de Plantas de Cobertura puras e Consorciadas. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 36, n. 6, p. 1714-1723, 2012.

DOUDS, D.D.; MILLNER, P.D. Biodiversity of arbuscular mycorrhizal fungi in agroecosystems. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, Amsterdam, v. 74, p. 77-93, 1999.

DOYLE, J.J. & DOYLLE, J.L. Isolation of DNA from small amounts of plants tissue. **Focus**, 12:13-15, 1990.

EMBRAPA MANDIOCA E FRUTICULTURA, 2002. Disponível em: http://www.cnpmf.Embrapa.br/index.php?p=pesquisas-culturas_pesquisadas-mandioca.php&menu=2– Acesso: 05 Junho 2012.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA. **Produção de mandioca (brava e mansa) com insumos orgânicos e químicos em cerrado de Roraima**. In: SCHWENGBER, D. R.; OLIVEIRA, J. M. F. de; SMIDERLE, O. J. (Orgs.). 1. ed. (eletrônica – comunicado técnico, 18). Boa Vista: Embrapa Roraima, p.5, 2008.

EPAGRI- Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina – Relatório de Avaliação de Cultivares de Aipim, nos municípios de SC – 2013/2014. Disponível em: <http://www.epagri.sc.gov.br/> - Acessado em: 23/02/2014.

FARIAS, A. R. N. O cultivo da mandioca. Cruz das Almas: **EMBRAPA Mandioca e Fruticultura**, 122p, 2000.

FERNANDES, S.A.P.; BETTIOL, W.; CERRI, C.C. Effects of sewage sludge on microbial biomass, basal respiration, metabolic quotient and soil enzymatic activity. **Applied Soil Ecology** n.30, p.65-77, 2005.

FREITAS, N. O.; MELO, A. M. Y.; SILVA, F. S. B.; MELO, N. F.; MAIA, L. C. Soil biochemistry and microbial activity in vineyards under conventional and organic management at Northeast Brazil. **Sci. agric. Piracicaba, Braz.** v.68, n.2, p. 223-229, 2011.

FUNGARO, M. H. P. PCR na micologia. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, v. 14, p. 12-16, 2000.

GABRIEL FILHO, A.; PESSOA, A.C.S.; STROHHAECKER, L.; HELMICH, J.J. Preparo convencional e cultivo mínimo do solo na cultura da mandioca em condições de adubação verde com ervilhaca e aveia. **Ciência Rural**, v.30, n.6, p.953-957, 2000

GAIAD, S., CURCIO, G. R., RACHWAL, M. F. G. Ocorrência de Fungos MicorrízicosArbusculares, em latossolo vermelho escuro sob

diferentes formas de ocupação, em Altônia-PR. Colombo: EMBRAPA, (**EMBRAPA-FLORESTAS. Doc. 52**) 2000.

GERDEMANN, J.W. & NICOLSON, T.H. Spores of mycorrhizal *Endogon* species extracted from soil by wet-sieving decanting. T. Br. Mycol. Soc. 46:235-244. 1963.

GIOVANNETTI, M. & B. MOSSE. An evaluation of techniques to measure vesicular-arbuscularmycorrhizal infection in roots. *New Phytologist*, 84:484-500, 1980.

GOLLOTTE A, VAN TUINEN D, ATKINSON D. Diversity of arbuscular mycorrhizal fungi colonising roots of the grass species *Agrostis capillaris* and *Lolium perenne* in a field experiment. **Mycorrhiza**. 14: (2), p. 111-117, 2003.

GOMES, J. C., SILVA, J. Correção da Acidez e Adubação. **IN: SOUZA, L. D. et al. (ed.). Aspectos socioeconômicos e Agronômicos da mandioca**. Cruz das Almas-BA: Embrapa mandioca e fruticultura tropical, p. 560-590, 2006.

GOMES, M. A. F.; SOUZA, M. D. de; BOEIRA, R. C.; TOLEDO, L. G. de. Nutrientes vegetais do meio ambiente: ciclos biquímicos, fertilizantes e corretivos. 2º edição rev. e amp. **Documento 66, Jaguariúna**, Embrapa Meio Ambiente, p. 62, 2008.

GOMIDE, P.H.O.; SANTOS, J.G.D.; SIQUEIRA, J.O. & SOARES, C.R.F.S. Diversidade e função de fungos micorrízicos arbusculares em sucessão de espécies hospedeiras. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 44:1483-1490, 2009.

GROXKO, M. Mandiocultura - Análise da Conjuntura Agropecuária – 2012 - Secretaria de Estado da Agricultura e do Abastecimento - **SEAB**. Departamento de Economia Rural – DERAL. Disponível em: http://www.agricultura.pr.gov.br/arquivos/File/deral/Prognosticos/mandiocultura_2012_13.pdf - Acesso: 23/02/2013.

HASSAN, S. E.D.; LIU, A.; BITTMAN, S.; FORGE, T. A.; HUNT. D.E.; HIJRI, M.; ST-ARNAUD, M. Impact of 12-year field treatments with organic and inorganic fertilizers on crop productivity and mycorrhizal community structure. **Biology and Fertility of Soils**, V. 49, p 1109-1121, 2013.

HEAD, I. M.; SAUNDERS, J. R.; PICKUP, R. W. Microbial Evolution, Diversity, and Ecology: A Decade of Ribosomal RNA **Analysis of**

Uncultivated microorganisms. *Microbial Ecology*, v. 35, p. 1-21, 1998.

HEIJDEN, M.G.A.V. et al. Different arbuscularmycorrhizal fungal species are potential determinants of plant community structure. *Ecology*, 79:2082-2091, 1998.

HOWELER, R. **Desórdenes Nutricionales de La Planta de Yuca.** Centro Internacional de Agricultura Tropical. – CIAT. Colômbia, 48 p. 1987.

HUGENHOLTZ, P.; GOEBEL, B. M.; PACE, N. R. Impact of culture-independent studies on the emerging phylogenetic view of bacterial diversity. *Journal of Bacteriology*, Washington, v. 180, n. 18, p. 4765-4774, 1998.

HUNGRIA, M. (Ed.). **Biologia dos solos dos Cerrados.** Planaltina: DF: Embrapa-CPAC, p. 69-123, 1997.

HUNGRIA, M.; ARAUJO, R. S. **Manual de métodos empregados em estudos de microbiologia agrícola.** Brasília: EMBRAPA, (CNPAF. Doc.46) 542p, 1994.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Produção Agrícola Municipal. Rio de Janeiro, v. 37, p.1-91, 2010.

IBGE (INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA). Produção Agrícola Municipal, 2011. Disponível em: http://www.ibge.gov.br/hom/e/estatística/economia/PAm/2011/PAM2011_Publicacao_completa.pdf. Acesso em: 04/02/2013.

IPSILANTIS, I.; KARPOUZAS, D.G.; PAPADOPOULOU, K.K.; EHALIOTIS, C. Effects of soil application of olive mill wastewaters on the structure and function of the community of arbuscular mycorrhizal fungi. *Soil Biology & Biochemistry* v.41, p. 2466–2476, 2009.

JASPER D.A., ABBOTT L.K., ROBSON A.D. The effect of soil disturbance on vesicular–arbuscular mycorrhizal fungi in soils from different vegetation types. *New Phytologist* n.118, p471–476, 1991.

JENKINS, W.R. A rapidcentrifugal-flotationtechnique for separatingnematodesfrom soil.1964 IN: **Manual de métodos empregados em estudos de microbiologia agrícola.** Brasília: EMBRAPA, (EMBRAPA-CNPAF. Documentos, 46) p. 542, 1994.

JIE W., LIU X., CAI B. Diversity of Rhizosphere Soil Arbuscular Mycorrhizal Fungi in Various Soybean Cultivars under Different Continuous Cropping Regimes. **PLoS ONE** n. 8, 2013.

KARASAWA, T. & TAKEBE, M. Temporal or spatial arrangements of cover Crops to promote arbuscular mycorrhizal colonization and P uptake of upland crops grown after nonmycorrhizal crops. **Plant Soil**, 353:355-366, 2012.

KIRIACHEK, S.G. **Identificação e caracterização de genes com expressão diferencial durante o desenvolvimento de micorrizas arbusculares em cana-de-açúcar**. 2008. Tese (Doutorado em Microbiologia Agrícola) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2008. Disponível em: <<http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/11/11138/tde-15122008-154513/>>. Acesso em: 2014-03-08

KOSKE, R. E. & GEMMA, J.N. A modified procedure for staining roots to detect VA mycorrhizas. **Mycological Research**, 92:486-488. 1989.

LAMBAIS, M.R. CURY, J.C. MALUCHEL, B. C.R., BULL, R.C. **Diversidade microbiana nos solos: definindo novos paradigmas**. IN: Tópicos em Ciência do Solo IV. Viçosa, MG: Sociedade Brasileira de Ciências do Solo, p. 43-84, 2005.

LARENA, I.; SALAZAR, O.; GONZALEZ, V.; JULIAN, M.C.; RUBIO, V. Design of a primer for ribosomal DNA internal transcribed spacer with enhanced specificity for ascomycetes. **Journal of Biotechnology**, Amsterdam, v. 75, p. 187-194, 1999.

LEONEL, M. **Espécies Tuberosas Tropicais como Materias-Primas Amiláceas**. Revista Raízes e Amidos Tropicais, Botucatu, v. 1, p. 49-68, Outubro, 2005.

LERMEN, C.; FERREIRA, F.G.; CAMIOTTI, J.; RAIMUNDO, K.F.; URCOVICHE, R.C.; GUELLIS, C. & ALBERTON, O. Potencial de inóculo de fungos micorrízicos arbusculares em solo cultivado com aveia em Umuarama – PR. **Arq. Ci. Vet. Zool. UNIPAR**, 15:49-55, 2012.

LIN, X.; FENG, Y.; ZHANG, H.; CHEN, R.; WANG, J.; ZHANG, J.; CHU, H. Long-Term Balanced Fertilization Decreases Arbuscular Mycorrhizal Fungal Diversity in an Arable Soil in North China

Revealed by 454 **Pyrosequencing**. *Environ. Sci. Technol.*, 46:5764–5771, 2012.

LOPES, O. M. N. ALVEZ, R. N. B. Adubação Cerde e Plantio **Direto: Alternativas de Manejo Agroecológico para a Produção Agrícola Familiar Sustentável**. EMBRAPA - Documentos 212. Belém: Embrapa Amazônia Oriental, 34 p. 2005.

LORENZI, Harri. **Plantas daninhas do Brasil: terrestres, aquáticas, parasitas e tóxicas**. 4. ed. Nova Odessa (SP): Instituto Plantarum de Estudos da Flora, 640 p. 2008.

LUMINI E, ORGIAZZI A, BORRIELLO R, BONFANTE P, BIANCIOTTO V. Disclosing arbuscular mycorrhizal fungal biodiversity in soil through a land-use gradient using a pyrosequencing approach. *Environmental Microbiology* 12:2165–2179, 2010.

MARRIEL, I. E.; OLIVEIRA, C. A. de; RAPOSEIRAS, R.; GOMES, E. A.; LANNA, U. G. de P.; CARNEIRO, A. A.; CARNEIRO, N. P. **Aplicação da Técnica Eletroforese em Gel de Gradiente Desnaturante (DGGE) na Caracterização de Microrganismos Dominantes na Rizosfera de Plantas Cultivadas em Solo Ácido**. Sete Lagoas, MG. EMBRAPA-Milho e Sorgo, (CT. 72) 2005.

MARSHALL, V.G.. Impacts of forest harvesting on biological processes in northern forest soils. *Forest Ecology and Management* n.133: p. 43-60, 2000.

MATHIMARAN, N; RUH, R.; JAMA, B.; VERCHOT, L.; FROSSARD, E.; JANSA, J. Impact of agricultura management on arbuscular mycorrhizal fungal communities in Kenyan Ferralsol. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, Amsterdam, v. 119, p. 22-32, 2007.

MERRYWEATHER, J., FITTER, A. H. **The arbuscular mycorrhizal fungiof *Hyacinthoides non-scripta* II. Seasonal and spatial patterns of fungal populations**. *New Phytologist* 138, p. 131-142. 1998.

MIRANDA, J. C. C.; FIALHO, J. de F.; MIRANDA, L. N. de. **Importância da MicorrizaArbuscular para o cultivo da mandioca na região do Cerrado**. Planaltina: DF, Comunicado Técnico 119, 4p, 2005.

MIRANDA, J. C. C.; MIRANDA, L. N. de. **Impactos do Sistema de Plantio Direto na Diversidade de Espécies de Fungos Micorrízicos**

- Arbusculares Nativos em Solo de Cerrado.** Planaltina: DF, Comunicado Técnico 119, 4p, 2007.
- MIRANDA, J.C.C.; MIRANDA, L.N. MicorrizaArbuscular. In: VARGAS, M.A.; HUNGRIA, M., ed. **Biologia dos solos dos cerrados.** Brasília: EMBRAPA, p.69-123, 1997.
- MIRANDA, J.C.C.; MIRANDA, L.N.; VILELA, L.; VARGAS, M.A.; CARVALHO, A.M. Manejo da MicorrizaArbuscular por meio da rotação de culturas nos sistemas agrícolas do Cerrado. Brasília: EMBRAPA, p. 3, 2001.
- MITCHELL, J.I. & ZUCCARO, A. Sequences, the environment and fungi. **Mycologist**, v. 20, n.2. 62-74. 2006.
- MOREIRA, F. M. S; SIQUEIRA, J. O.; BRUSSAARD, L. (Lijbert). **Biodiversidade do solo em ecossistemas brasileiros.** Lavras: Ed. UFLA, p. 768, 2008.
- MOREIRA, F.M. de S. & SIQUEIRA, J.O. **Microbiologia e bioquímica do solo.** 2. ed. Lavras: UFLA, p. 729, 2006.
- MUYZER; G., SMALLA; K. Application of denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE) and temperature gradient gel electrophoresis (TGGE) in microbial ecology. Mini review. **Antonie van Leeuwenhoek**, Dordrecht, 73, p. 127-141, 1998.
- NANNIPIERI, P.; ASCHER, J.; CECCHERINI, M.T.; LANDI, L.; PIETRAMELLARA, G.; RENELLA, G. Microbial diversity and soil functions. **European Journal of Soil Science** n.54, p.655-670, 2003.
- NASSAR, N.; ORTIZ, R. Melhorar a mandioca e alimentar os pobres. **Scientific American Brasil**, p. 72 - 77, junho 2010.
- NOGUEIRA, M. A. & CARDOSO, E. J. B. N. **Phosphorus availability changes the internal and external endomycorrhizal colonization and affects symbiotic effectiveness.** *Sci. agric. (Piracicaba, Braz.)*, vol.64, n.3, pp. 295-300, 2007.
- ODUM, E. P.; **Fundamentos de ecologia.** 6ªed. Lisboa: Fundação CalousteGulbenkian,. 927p, 2001.
- OEHL F, SIEVERDING E, INEICHEN K, MÄDER P, DUBOIS D, BOLLER T, WIEMKEN A. Impact of long-term conventional and organic farming on the diversity of arbuscular mycorrhizal fungi. **Oecologia** n.138: p. 574–583, 2004.

OTSUBO, A. A.; LORENZI, J. O. Cultivo da mandioca na região Centro Sul do Brasil. **Dourados: EMBRAPA**, p. 116, 2004.

OTSUBO, A. A.; MERCANTE, F. M.; SILVA, R. F. da; BORGES, C. D. Sistemas de preparo do solo, plantas de cobertura e produtividade da cultura da mandioca. **Pesquisa Agropecuária brasileira**, Brasília, v. 43, n3, p 327-332, 2008.

OVREÅS, L.; FORNEY, L.; DAAE, F.L.; TORSVIK, V. Distribution of bacterioplankton in meromictic Lake Saelenvannet, as determined by denaturing gradient gel electrophoresis of PCR-amplified gene fragments coding for 16S rRNA. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v.63, p. 3367-3373, 1997.

PAGANINI, T.P.; DANIEL, V. C.; JESUS, M. H.; MIRON, G. A.; MACIEL, D. M.; SOUZA, J. E.; SILVA, A. S.; POLETTO, N. Desenvolvimento foliar, rendimento de raízes e teor de amido em mandioca cultivada com calcário, adubação orgânica e potássica. **Rev. Técnico Científica (IFSC)**, v.3 n.1, p. 357-363, 2012.

PAGANINI, T.P.; DANIEL, V. C.; JESUS, M. H.; MIRON, G. A.; MACIEL, D. M.; SOUZA, J. E.; POLETTO, N. **Desenvolvimento Foliar, Rendimento de raízes e Teor de amido em mandioca cultivada no extremo sul catarinense**. Instituto Federal Catarinense-Sombrio-SC. 2013. Disponível em: http://www.ifc.edu.br/site/index.php/doc-propi/doc_details/3042- Acesso: 23/022014.

PAGANO, M. C., UTIDA, M. K., GOMES, E. A., MARRIEL, I. E., CABELLO, M. N., & SCOTTI, M. R. Plant-type dependent changes in arbuscular mycorrhizal communities as soil quality indicator in semi-arid Brazil. **Ecological Indicators**, v.11 n.2, p. 643-650, 2011.

PHILLIPS, J.M.; HAYMAN, D.S. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscularmycorrhizal fungi for rapid assessment of infection.1970 – IN: HUNGRIA, M.; ARAUJO, R. S. **Manual de métodos empregados em estudos de microbiologia agrícola**. Brasília: EMBRAPA, (CNPAP. Doc. 46). 542p, 1994.

PURIN, S.; KLAUBERG FILHO, O.; STURMER, S. L. Mycorrhizae activity and diversity in conventional and organic apple orchards from Brazil. **Soil Biology & Biochemistry**, accepted 9 December 2005, v. 38, p. 1831-1839, 2006

- RAIJ, Bernardo Van. **Fertilidade do solo e manejo de nutrientes**. Piracicaba, SP: International Plant Nutrition Institute, 420 p, 2011.
- RAMOS, A.C. & MARTINS, M.A. Fisiologia de micorrizas arbusculares. In: SIQUEIRA, J.O.; SOUZA, F.A.; CARDOSO, E.J.B.N. & TSAI, S.M. eds. *Micorrizas: 30 anos de pesquisas no Brasil*. Lavras, Universidade Federal de Lavras, p.133-152, 2010.
- REEVES, D.W. **Cover crops and rotations**. In: HATFIELD, J.L.; STEWART, B.A. *Crops residue management. Advances in Soil Science*. Florida: Lewis, p. 125-172, 1994.
- REICOSKY, D.C.; FORCELLA, F. Cover crop and soil quality interactions in agroecosystems. **Journal of Soil and Water Conservation**, v.53, p.224-229, 1998.
- RODRIGUEZ G, Z.F; MARMOL C, L.E; MARTINEZ, J y MONTIEL M, M. **Acumulación total y por órganos de macronutrientes en plantas de yuca (*Manihot esculenta* Crantz) cv. 'Tempranita' en la altiplanicie de Maracaibo**. *Rev. Fac. Agron.* [online], vol.26, n.4, p. 470-489, 2009.
- RÓS, A. B. Produtividade de Raízes de Mandioca em Função de Doses de Potássio. *Apta Regional - Pesquisa e Tecnologia*. Vol. 9, n.29, 2012.
- ROSENDAHL, S. & STUKENBROCK, E. H. Community structure of arbuscular mycorrhizal fungi in undisturbed vegetation revealed by analyses of LSU rDNA sequences. **Molecular Ecology**, 13: 3179–3186, 2004.
- ROSENDAHL. S.; STUKENBROCK, E. Community structure of arbuscular mycorrhizal fungi in undisturbed vegetation revealed by analyses of LSU rDNA sequences. **Molecular Ecology**, Oxford, v.13, p. 3179-3186, 2004.
- RÓS-GOLLA, A.; HIRATA, A.C.S.; ARAUJO, H.S. NARITA, N. **Crescimento, fenologia e produtividade de mandioca para indústria**. XIII Congresso Brasileiro de Mandioca (Res. Expandido) – Botucatu, SP, p. 1-5, 2009.
- SAGGIN-JR, O.J.; SILVA, E.M.R. Micorriza Arbuscular: Papel, fundamento e aplicação da simbiose. In: AQUINO, A.M.; ASSIS, R.L. (EDs). *Processos Biológicos no Sistema Solo – Planta*. Brasília: **Embrapa Informação Tecnológica**, p. 101-149, 2005.

SAYLER, G. S.; LAYTON, A. C. Environmental and application of nucleic acid hybridization. **Annual Review of Microbiology**, Palo Alto, v. 44, n. 10, p. 625-648, 1990.

SCHONS, A.; STRECK, N. A.; STORCK, L.; BURIOL, G. A.; ZANON, A. J.; PINHEIRO, D. G.; KRAULICH, B. Arranjos de plantas de mandioca e milho em cultivo solteiro e consorciado: crescimento, desenvolvimento e produtividade. **Bragantia** [online]. vol.68, n.1, pp. 155-167, 2009.

SEBRAE, Serviço Brasileiro de Apoio às Micro e Pequenas Empresas. Informações de Mercado sobre Mandioca (farinha e fécula). Séria de estudos mercadológicos. **Ed. I-comunicações. SEBRAE – Brasília,DF. 32p. 2012.**

SIEVERDING, E. Vesicular-arbuscularmycorrhiza management in tropical agrosystems. **Eschborn: GTZ**, p. 371, 1991.

SILVA, R. F.; TOMAZI, M.; PEZARICO, C. R.; AQUINO, A. M.; MERCANTE, F. M. Macrofauna invertebrada edáfica em cultivo de mandioca sob sistemas de cobertura do solo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília v.42/n6. p. 865-871, 2007.

SILVA, R.F.; AQUINO, A.M.; MERCANTE, F.M.; GUIMARÃES, M.F. Macrofauna invertebrada do solo sob diferentes sistemas de produção em Latossolo da Região do Cerrado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.41, p.697-704, 2006a.

SIQUEIRA, J.O. Micorrizas arbusculares. In: ARAÚJO, R.S.; HUNGRIA, M. (Eds.). Microorganismos de importância agrícola. Brasília: **Embrapa-CNPAP/ Embrapa-CNPSO**, p.151-194, 1994.

SMITH, S.E., & READ, D.J. **Mycorrhizal Symbiosis**, Ed. 3. New York, Academic Press, 2008.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE CIÊNCIA DO SOLO. NÚCLEO REGIONAL SUL. **Recomendações de adubação e de calagem para os Estados do Rio Grande do Sul e de Santa Catarina**. 10. ed. Porto Alegre: SBCS. Núcleo Regional Sul, 391p, 2004.

SOUZA, A.D.; TRUFEM, S.F.B.; ALMEIDA, D.L.; SILVA, E.M.R. & GUERRA, J.G.M. Efeito de pré-cultivos sobre o potencial de inóculo de fungos micorrízicos arbusculares e produção da mandioca. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 34:1913-1923, 1999.

SOUZA, F. A.; SILVA, I. C. L.; BERBARA, R. L. L. Fungos Micorrízicos Arbusculares: muito mais Diversos do que se Imagina. IN: MOREIRA, F. M. S; SIQUEIRA, J. O.; BRUSSAARD, L. (Lijbert). **Biodiversidade do solo em ecossistemas brasileiros**. Lavras: Ed. UFLA, 768 p, 2008.

SOUZA, F.A. de; KOWALCHUK, G.A.; LEEFLANG, P.; van VEEN, J.A.; SMITH, E. PCR-Denaturing Gradient Gel Electrophoresis Profiling of Interand Intraspecies 18S rRNA Gene Sequence Heterogeneity Is an Arbuscular Mycorrhizal Fungi of the Genus Gigaspora. **Applied Environmental Microbiology**, v70/nº3, p.1413-1424, 2004.

SOUZA, L. S.; SOUZA, L. D. Manejo e Conservação do Solo. IN: SOUZA, L. D. et al. (ed.). **Aspectos socioeconômicos e Agronômicos da mandioca**. Cruz das Almas-BA: Embrapa mandioca e fruticultura tropical, p. 560-590, 2006.

SOUZA, M. D. C. A.; HARDT, P. P. Evolução dos hábitos alimentares no Brasil. **Brasil Alimentos**, v. 15, p. 32-39, 2002.

STÜRMER, S.L. & SIQUEIRA, J.O. Species richness and spore abundance of arbuscular mycorrhizal fungi across distinct land uses in western Brazilian Amazon. **Mycorrhiza**, 21:255-267, 2011.

TEDESCO, M. J.; GIANELLO, C.; BISSANI, C.; BOHNEN, H. & VOLKWEISS, S. J.. **Análise de solo, plantas e outros materiais**. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, Brasil, 1995.

TRNDADE, A. V., SAGGIN JUNIOR, O.J.; SILVEIRA, A. P. D. Micorrizas arbusculares na produção de mudas de plantas frutíferas e café. IN: SIQUEIRA, Jose Oswaldo. **Micorrizas: 30 anos de pesquisas no Brasil**. Lavras: Ed. UFLA, 716p. 2010.

TROUVELOT, S.; van TUINEN, D.; HIJRI, M. & Gianinazzi-Pearson, V. Visualization of ribosomal DNA loci in spore interphasic nucleic of glomalean fungi by fluorescence in situ hybridization. **Mycorrhiza**, 8:203-206, 1999.

VAN TUINEN, D.; JACQUOT, E.; ZHAO, B.; GOLLOTTE, A. & GIANINAZZI-PEARSON, V. Characterization of root colonization profiles by a microcosm community of arbuscular mycorrhizal fungi using 25S rDNA-targeted nested PCR. **Mol. Ecol.**, 7:879-887, 1998.

VANDENKOORNHUYSE, P.; RIDGWAY, K.P.; WATSON, I.J.; FITTER, A.H. & YOUNG, J.P. Co-existing grass species have distinctive arbuscular mycorrhizal communities. **Mol. Ecol.**, 12:3085-3095, 2003.

WHITE, T.J.; BRUNS, T.; LEE, S.; TAYLOR, J. **Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal genes for phylogenies**. In: INNIS, M.A.; GELFAND, D.H.; SNINSKY, J.J.; WHITE, T.J. (Ed.). PCR protocols: a guide to methods and applications. New York: Academic, p.315-322. 1990.

WU, F.; DONG, M.; LIU, Y.; MA, X.; AN, L.; YOUNG, J.P.W.; FENG, H. Effects of long-term fertilization on AM fungal community structure and Glomalin-related soil protein in the Loess Plateau of China. **Plant Soil** v. 342, p. 233–247, 2011.

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

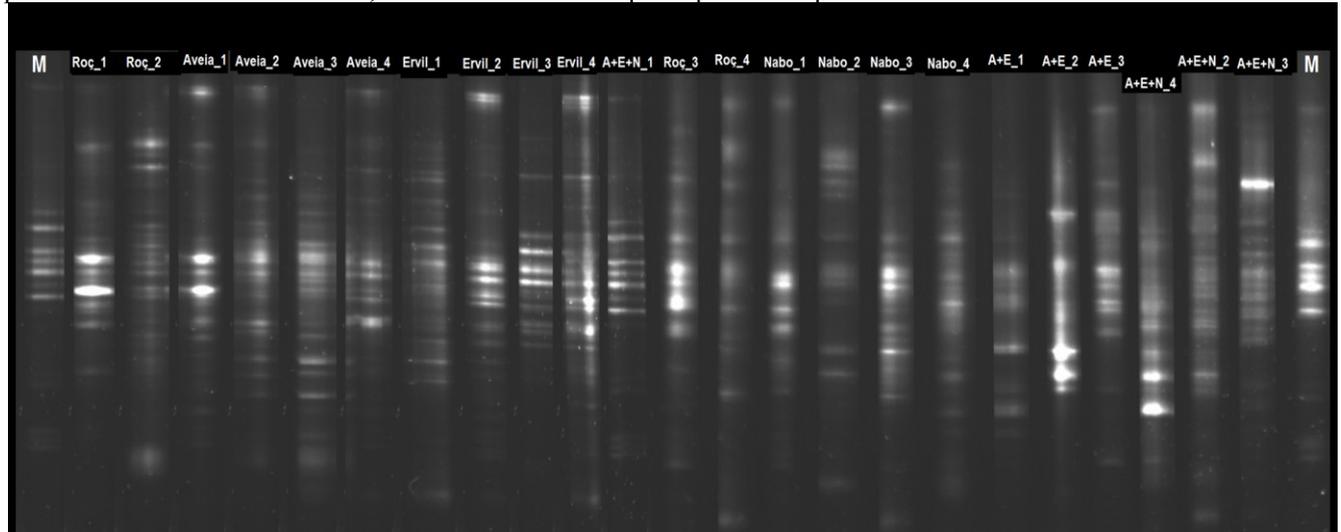
ZILLI, J. E.; RUMJANEK, N. G.; XAVIER, G. R.; COUTINHO, H. L. C.; NEVES, M.C. P. Diversidade microbiana como indicador de qualidade do solo. **Cadernos de Ciência & Tecnologia**, Brasília, v.20, n.3, p.391-411, 2003.

ANEXOS

Anexo A - Perfil eletroforético de DGGE de estruturas de comunidades de fungos micorrízicos arbusculares presente em 24 amostras de solo, coletada aos 33 dias após o plantio de plantas de cobertura.

Anexo B - Perfil eletroforético de DGGE de estruturas de comunidades de fungos micorrízicos arbusculares presente em 12 amostras de raízes de mandioca, coletada aos 33 e 110 dias após o plantio de plantas de cobertura.

Anexo 1 - Perfil eletroforético de DGGE de estruturas de comunidades de fungos micorrízicos arbusculares presente em 24 amostras de solo, coletada aos 33 dias após o plantio de plantas de cobertura



A: Marcador
H: Ervil_1
O: Nabo_1
V: A+E+N_4

B: Roç_1
I: Ervil_2
P: Nabo_2
W: a+E+N_3

C: Roç_2
J: Ervil_3
Q: Nabo_3
Y: Marcador

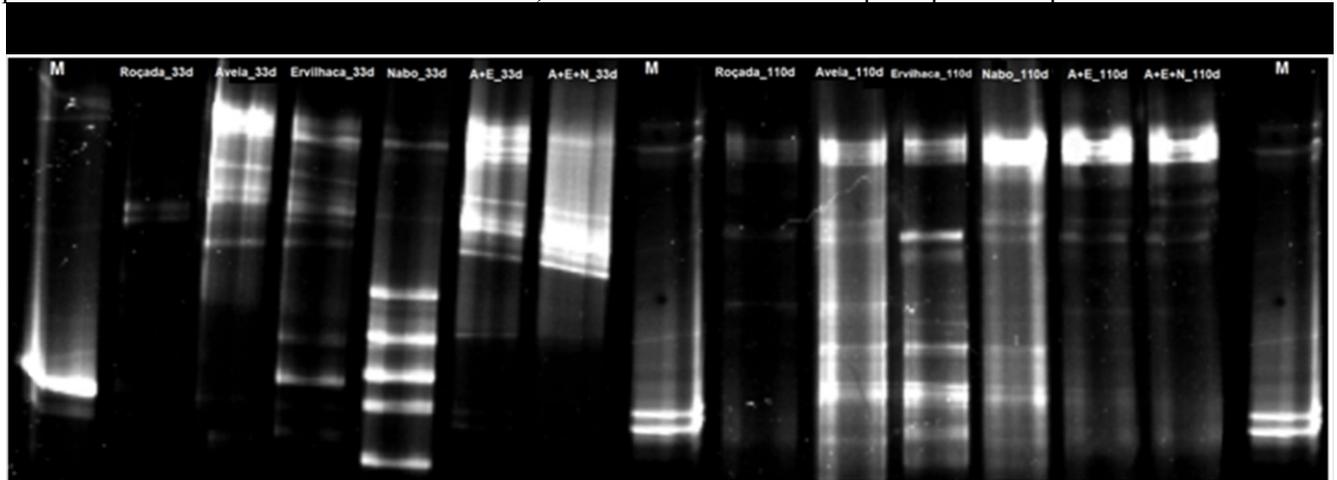
D: Aveia_1
K: Ervil_4
R: Nabo_4

E: Aveia_2
L: A+E+N_1
S: A+E_1

F: Aveia_3
M: Roç_3
T: A+E_2

G: Aveia_4
N: Roç_3
U: A+E_3

Anexo 2 - - Perfil eletroforético de DGGE de estruturas de comunidades de fungos micorrízicos arbusculares presente em 17 amostras de raízes de mandioca, coletada aos 33 e 110 dias após o plantio de plantas de cobertura.



A: Marcador **B: Roçada_33d** **C: Aveia_33d** **D: Ervilhaca_33d** **E: Nabo_33d** **F: A+E_33d**
G: A+E_N_33d **H: Marcador** **I: Roçado_110d** **J: Aveia_110d** **K: Ervilhaca_110d** **L: Nabo_110d**
M: A+E_110d **N: A+E+N110d** **O: Marcador**