

UFRRJ
INSTITUTO DE AGRONOMIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA
CIÊNCIA DO SOLO

DISSERTAÇÃO

**Identificação, Quantificação e Inoculação de Fungos
Micorrízicos Arbusculares no Sistema de Produção
de Cana-de-Açúcar**

Rosalba Ortega Fors

2016



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE AGRONOMIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA
CIÊNCIA DO SOLO

**IDENTIFICAÇÃO, QUANTIFICAÇÃO E INOCULAÇÃO DE FUNGOS
MICORRÍZICOS ARBUSCULARES NO SISTEMA DE PRODUÇÃO DE
CANA-DE-AÇÚCAR**

ROSALBA ORTEGA FORS

Sob orientação do Professor
Ricardo Luis Louro Berbara

e Co-orientação do Pesquisador
Orivaldo José Saggin Júnior

Dissertação submetida como
requisito parcial para obtenção do
grau de **Mestra**, no Curso de Pós-
Graduação em Agronomia, Área de
Concentração em Ciência do Solo

Seropédica – RJ
Fevereiro de 2016

633.61

F732i

T

Fors, Rosalba Ortega, 1989-

Identificação, quantificação e inoculação de fungos micorrízicos arbusculares no sistema de produção de cana-de-açúcar / Rosalba Ortega Fors. – 2016.

xv, 77 f.: il.

Orientador: Ricardo Luis Louro Berbara.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Curso de Pós-Graduação em Agronomia – Ciência do Solo, 2016.

Bibliografia: f. 63-72.

1. Cana-de-açúcar - Cultivo - Teses. 2. Cana-de-açúcar - Inoculação - Teses. 3. Micorriza vesículo-arbuscular - Teses. I. Berbara, Ricardo Luis Louro, 1957- II. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Curso de Pós-Graduação em Agronomia – Ciência do Solo. III. Título.

É permitida a cópia parcial ou total desta Dissertação, desde que seja citada a fonte.

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE AGRONOMIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA – CIÊNCIA DO SOLO

ROSALBA ORTEGA FORS

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestra**, no Curso de Pós-Graduação em Agronomia, área de Concentração em Ciência do Solo.

DISSERTAÇÃO APROVADA EM 18/02/2016.

Orivaldo José Saggin Júnior. Pesq. Dr. Embrapa-Agrobiologia
(Co-orientador)

Eliane Maria Ribeiro da Silva. Pesq. Dra. Embrapa-Agrobiologia

Marco Aurélio Carbone Carneiro. Prof. Dr. UFLA

DEDICATÓRIA

*Caminante, son tus huellas
el camino y nada más;
caminante, no hay camino:
se hace camino al andar.*

*Al andar se hace el camino,
y al volver la vista atrás,
se ve la senda que nunca
se ha de volver a pisar.*

*Caminante no hay camino,
sino estelas en la mar.*

***Proverbios y Cantares
Antonio Machado***

A meus pais

*Inés Fors Fernández
e Ibrahín Ortega Oquendo*

A minha avô
Josefina Fernández (in memoriam)

DEDICO.

AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente, aos meus pais, pelo amor e o carinho, pela educação, por sempre terem me incentivado a estudar, por serem meus guias e exemplos a cada passo do meu caminho.

Ao Professor Ricardo Luis Louro Berbara, pela confiança, por ter-me aberto as portas da pós-graduação no Brasil e pela orientação.

Ao Pesquisador Orivaldo José Saggin Júnior pela grande oportunidade, pela excelente orientação e pelos muitos conhecimentos compartilhados. Pela paciência e a compreensão.

Ao técnico do Laboratório de Micorrizas da Embrapa Agrobiologia, Itamar Ignácio Garcia pela sua valiosíssima ajuda na montagem, condução e avaliação dos experimentos. Também pelos muitos conhecimentos de taxonomia e metodologias de trabalho com fungos micorrízicos arbusculares. Pelas brincadeiras para não desesperar ou ficar triste nos momentos mais estressantes.

Ao meu namorado, Wilk, pelas suas tentativas de me ensinar português e em especial pela paciência e o amor.

A Nadia Quevedo e Yusimí Pérez pela amizade, por me escutar sempre e por me fazer sentir um pouquinho menos longe de casa.

Aos bolsistas, estagiários e pesquisadores que ao longo destes dois anos passaram pelo Laboratório de Micorrizas da Embrapa Agrobiologia, brindando não só ajuda no trabalho, mas também amizade: Ana Carolina Ardito, Graciane Siqueira, Joel Quintino, Ana Carolina Rodrigues, Cristian Camilo Useche, Laura Charría, Eduardo Pérez, Daniel F. Salas, Gleica Cândido, Pedro Miguel e Dailani Pinheiro.

A William Pereira e Verônica Reis pelo fornecimento de colmos de cana-de-açúcar para conduzir os experimentos.

A Silvana Santos pela paciência para me transmitir tudo quanto sabia sobre mudas pré-brotadas de cana-de-açúcar, pela ajuda na produção das minhas primeiras mudas e por todas as perguntas respondidas.

À Zilor Energia e Alimentos–Unidade Quatá, onde foram realizadas as amostragens de solo para a análise da variação temporal da comunidade de fungos micorrízicos arbusculares, e sempre houve muita colaboração de todos os funcionários nas análises dos experimentos.

Ao Tedson Luis de Freitas Azevedo e à Veronica Massena Reis que tornaram a cooperação para pesquisa de endófitos radiculares de cana-de-açúcar possível.

À Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ) e especialmente ao Curso de Pós-Graduação em Agronomia-Ciência do Solo (CPGA-CS).

À Embrapa Agrobiologia, particularmente ao Laboratório de Micorrizas.

Ao *Instituto de Ecología y Sistemática* (IES), em Cuba, onde iniciei os trabalhos com FMAs. Em particular, agradeço a Anairad Ferrer, quem me fez saber da existência deste grupo fúngico e a Yamir Torres Arias e Eduardo Furrázola Gómez por ter colocado nas minhas mãos as primeiras ferramentas para o trabalho com FMAs.

Ao Programa de Estudantes-Convênio de Pós-Graduação (PEC-PG) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão da bolsa de estudos.

RESUMO

FORS, Rosalba Ortega. **Identificação, quantificação e inoculação de fungos micorrízicos arbusculares no sistema de produção de cana-de-açúcar**. 2016. 77f. Dissertação (Mestrado em Agronomia, Ciência do Solo). Instituto de Agronomia, Departamento de Solos, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2016.

O Brasil é o maior produtor mundial de cana-de-açúcar, sendo a cultura responsável por 15% dos fertilizantes utilizados no país. Nesse contexto, o desenvolvimento e aplicação de inoculantes de fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) (*Phylum* Glomeromycota) representa uma promissora alternativa para incrementar a eficiência de aproveitamento dos fertilizantes, principalmente os sfatados. No presente trabalho foi realizado um levantamento da comunidade de FMAs pré-plantio e pós-colheita da "cana planta" em áreas de renovação (rotacionadas ou não com *Brachiaria ruzizensis*) e expansão (previamente sobre pastagem) do canavial. Uma avaliação similar foi realizada em áreas correspondentes a dois experimentos de inoculação com bactérias diazotróficas. Foram conduzidos, em casa de vegetação, dois experimentos de seleção de linhagens de FMAs para cana-de-açúcar (Cultivar SP81-3250) em diferentes solos e substratos. Em áreas de monocultivo prolongado de cana-de-açúcar uma rotação com *B. ruzizensis* na época da renovação não influencia a riqueza da comunidade de FMAs. Porém, a riqueza de FMAs diminui em monocultura prolongada de cana, mas ainda é elevada comparada com outros sistemas agrícolas. A riqueza de FMAs em pastagem convertida a canavial é maior na "cana planta" comparada à áreas de renovação de canavial. As maiores densidades de esporos nas áreas canavieiras ocorrem após a colheita da "cana planta". As linhagens de FMAs com potencialidade para compor um inoculante micorrízico para cana-de-açúcar são *Acaulospora colombiana* *Claroideoglossum etunicatum* as quais favorecem o desenvolvimento de mudas pré-brotadas de cana tanto em solo como em substrato. Outras linhagens que precisam de estudos adicionais por promoverem crescimento ou nutrição de mudas de cana são *Gigaspora margarita*, *Scutellospora calospora* e *Rhizophagus clarus*. O solo da área de expansão, com teores intermediários de P, é o mais favorável para o crescimento da cana-de-açúcar. O substrato Multiplant foi o que mais estimulou o crescimento de mudas pré-brotadas e promove a maior colonização por FMAs. A adubação completa recomendada para a produção de mudas pré-brotadas de cana-de-açúcar inibiu o crescimento das plantas, particularmente no substrato Turfa Fértil. O substrato da Usina promoveu o menor crescimento de mudas de cana-de-açúcar. A taxa de colonização radicular por DSE nas mudas da cultivar SP81-3250 foi elevada, independentemente da linhagem de FMA inoculada. Todas as linhagens de FMAs avaliadas apresentaram colonização conjunta com DSE.

Palavras chave: Glomeromycota. *Saccharum*. Inoculante. *Dark Septate Endophytes*. Mudas pré-brotadas. Levantamento de diversidade.

ABSTRACT

FORS, Rosalba Ortega. **Identification, quantification and inoculation of arbuscular mycorrhizal fungi in the sugarcane production system.** 2016. 77p. Dissertation (Master Science in Agronomy, Soil Science). Instituto de Agronomia, Departamento de Solos, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2016.

Brazil is the main sugarcane producer worldwide, with the crop accounting for 15% of the total fertilizers used in the country. In this context, the development and application of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) (*Phylum* Glomeromycota) inoculants represents a promising alternative for increasing the utilization efficiency of chemical fertilizers, mainly the phosphates. In the present work a survey of the AMF community was carried out before planting and after harvesting of the "plant cane" in renewal (rotated or not with *Brachiaria ruziziensis*) and expansion (previously under pasture) areas. A similar assessment was carried out in sugarcane renovation and expansion areas where two experiments of inoculation with diazotrophic bacteria were being conducted. Under greenhouse conditions, two experiments for selecting AMF strains for sugarcane (Variety SP81-3250) in different soils and substrates were carried out. In renewal areas, after maintained sugarcane monocropping, a rotation cycle with *B. ruziziensis* between the ratoon removal and the new cane planting does not influence the AMF species richness. Prolonged monoculture of sugarcane tends to reduce the AMF diversity after the renewal of the sugarcane plantation, but still quite high compared to other agricultural systems. In pasture areas converted to sugarcane plantation (expansion) the AMF species richness tends to be higher in the first year after the conversion (plant cane) compared to sugarcane renovation areas. The spore density reached the highest values after the "plant cane" harvesting. The AMF isolates with potentiality to compose a mycorrhizal inoculant for sugarcane are *Acaulospora colombiana* and *Claroideoglossum etunicatum* which favoured the development of the pre-sprouted seedlings of sugarcane in soil and substrate. Other isolates that promoted the sugarcane seedlings' development on nutrition, but still need additional studies are *Gigaspora margarita*, *Scutellospora calospora* and *Rhizophagus clarus*. The expansion area soil (with moderate P content) was the most favorable for the sugarcane growth. The Multiplant substrate promoted the highest growth of the seedlings and favored the AMF colonization. The fertilization recommended for sugarcane seedling production inhibited the plants growth, particularly in the substrate Turfa Fértil. The Sugar Mill substrate stimulated the seedlings growth the least. The rate of dark septate endophytes colonization (DSE) in the sugarcane seedlings of the cultivar SP81-3250 was high, independently of the inoculated AMF isolate. All the AMF isolates tested showed simultaneous colonization with DSE.

Key words: Glomeromycota. *Saccharum*. Inoculant. Dark Septate Endophytes. Pre-sprouted seedlings. Diversity assessment.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Área nº 7403 com renovação do plantio de cana-de-açúcar em março de 2014 após uma rotação com *Brachiaria ruziziensis* na entressafra feita após 32 anos de monocultura de cana. Em vermelho está a área amostrada para avaliação da comunidade de fungos micorrízicos (9,0 hectares). 7
- Figura 2.** Área nº 7802 com renovação do plantio de cana-de-açúcar em março de 2014 após 18 anos de monocultivo desta lavoura. Em azul está a área de implantação do experimento II e em vermelho (menos a área azul) está a área amostrada para avaliação da comunidade de fungos micorrízicos arbusculares (20,8 hectares). 8
- Figura 3.** Área nº 7994 com expansão do plantio de cana-de-açúcar em março de 2014 sobre pastagem de capim braquiária. Em azul está a área de implantação do experimento I e em vermelho a área amostrada para avaliação da comunidade de fungos micorrízicos arbusculares (4,4 hectares). 8
- Figura 4.** Algumas fases de obtenção das mudas de cana-de-açúcar (Variedade SP81-3250). A: Guilhotina para corte de colmos; B: minirrebolos; C: Caixas de brotação contendo os minirrebolos em areia: vermiculita (2:1) e D: Experimento de seleção de espécies de FMAs para cana-de-açúcar em tubetes para citros. 12
- Figura 5.** Sistema de Kuijper para numeração das folhas de cana-de-açúcar (adaptado de Dillewijn, 1952) (Fonte da imagem: Blogspot Agricultura em Foco). 13
- Figura 6.** Valores médios de densidade de esporos de FMAs em 50 cm³ de solo em área de renovação do canavial submetida a rotação com *Brachiaria ruziziensis* (área de rotação – AR), área de renovação do canavial sem rotação (área de monocultura -AM) e área de pastagem de braquiária incorporada ao plantio de cana (área de expansão –AE), em Quatá, SP. antes do plantio e após a colheita da "cana planta". 20
- Figura 7.** Riqueza total de espécies por gênero de FMAs registrada nas Áreas Experimentais I (AEI - Expansão do Canavial) e II (AEII - Renovação do canavial) baseada em amostragens realizadas em junho/2014, dezembro/2014 e julho/2015. 23
- Figura 8.** Esporos das espécies classificadas como dominantes ($F_i > 50\%$) para as Áreas Experimentais I (Expansão do canavial) e II (Renovação canavial em área de monocultivo de cana há 18 anos) ao longo de um ciclo de “cana planta” de um ano e meio (Março de 2014 a Julho de 2015) em Quatá, SP 1: *G. macrocarpum*; 2: *A. scrobiculata*; 3: *A. mellea*; 4: *Gigaspora* sp.; 5: *Am. leptoticha*; 6: *R. fulgida*; 7: *A. foveata*; 8: *D. tortuosa*. 26
- Figura 9.** Valores médios de densidade de esporos de FMAs em 50 cm³ de solo nos meses de junho e dezembro de 2014 e julho de 2015 nas áreas Experimentais I (Expansão do canavial) e II (Renovação canavial em área de monocultivo de cana há 18 anos) em Quatá, SP. 27
- Figura 10.** Sistema radicular de mudas de cana-de-açúcar tomando completamente o volume de solo utilizado nos tubetes para citros, aos 120 dias após o plantio. 30
- Figura 11.** Teor de fósforo nas folhas de mudas de cana-de-açúcar cultivadas em diferentes solos aos 120 dias após o plantio. Efeito principal de solo. PV1: Argissolo da Área do Experimento I; PV2: Argissolo da Área do Experimento II; PV3: Argissolo Vermelho de Itumirim, MG; PLt: Planossolo do campo experimental "Terraço". Letras sobre as barras comparam as médias pelo teste de Scott Knott 5%. 42
- Figura 12.** Teor de fósforo nas folhas de mudas de cana-de-açúcar inoculadas com diferentes fungos micorrízicos arbusculares aos 120 dias após o plantio. Desdobramento dentro de cada solo. ACOL: *A. colombiana*; AMOR: *A. morrowiae*; ASCR: *A. scrobiculata*;

CETU: *C. etunicatum*; DHET: *D. heterogama*; ECON: *E. contigua*; GMAR: *Gi. margarita*; RCLA: *R. clarus*; SCAL: *S. calospora*; TEST1: Testemunha não inoculada; TEST2+Ad: Testemunha não inoculada com adubação recomendada. Letras sobre as barras, dentro de cada solo, comparam as médias pelo teste de Scott Knott 5%. 44

Figura 13. Estruturas fúngicas visualizadas nas raízes (A-E) e colmo (F) coloridos de mudas de cana-de-açúcar inoculadas com diferentes fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) aos 120 dias após o plantio. A: Esporos glomóides; B: Células auxiliares de FMAs (seta preta) e estruturas de *Dark Septate Endophytes* (DSE) (seta branca); C: Hifas enoveladas de DSE; D: Microescleródios de DSE; E: Aspecto da colonização radicular por DSE; F: Estrutura similar aos DSE (seta branca) observada em cortes de colmo próximos às gemas. 45

Figura 14. Taxa de colonização radicular por endófitos septados escuros (*Dark Septate Endophytes* - DSE) e por fungos micorrízicos arbusculares (FMA) em mudas de cana-de-açúcar cultivadas em diferentes solos aos 120 dias após o plantio. Efeito principal de solo. DSE: colonização total de DSE incluindo DSE na presença de FMA (FMA+DSE); FMA total: Colonização total de FMA incluindo FMA+DSE e apenas FMA. PV1: Argissolo da Área do Experimento I; PV2: Argissolo da Área do Experimento II; PV3: Argissolo Vermelho de Itumirim, MG; PLt: Planossolo do campo experimental "Terraço". Letras em barras de mesma cor comparam as médias pelo teste de Scott Knott 5%. 47

Figura 15. Taxa de colonização radicular por endófitos septados escuros (*Dark Septate Endophytes* - DSE) em mudas de cana-de-açúcar inoculadas com diferentes fungos micorrízicos arbusculares aos 120 dias após o plantio. Desdobramento dentro de cada solo. Barras cinzas: colonização apenas por DSE. Barras hachuradas: colonização total de DSE incluindo DSE na presença de fungos micorrízicos arbusculares. ACOL: *A. colombiana*; AMOR: *A. morrowiae*; ASCR: *A. scrobiculata*; CETU: *C. etunicatum*; DHET: *D. heterogama*; ECON: *E. contigua*; GMAR: *Gi. margarita*; RCLA: *R. clarus*; SCAL: *S. calospora*; TEST1: Testemunha não inoculada; TEST2+Ad: Testemunha não inoculada com adubação recomendada. Letras em barras da mesma cor, dentro de cada solo, comparam as médias pelo teste de Scott Knott 5%. 48

Figura 16. Taxa de colonização radicular por fungos micorrízicos arbusculares (FMA) em mudas de cana-de-açúcar inoculadas com diferentes fungos micorrízicos arbusculares aos 120 dias após o plantio. Desdobramento dentro de cada solo. Barras com pontos: colonização associada de FMA e endófitos septados escuros (*Dark Septate Endophytes* - DSE). Barras texturizada: colonização total de FMA incluindo apenas FMA e FMA + DSE. ACOL: *A. colombiana*; AMOR: *A. morrowiae*; ASCR: *A. scrobiculata*; CETU: *C. etunicatum*; DHET: *D. heterogama*; ECON: *E. contigua*; GMAR: *Gi. margarita*; RCLA: *R. clarus*; SCAL: *S. calospora*; TEST1: Testemunha não inoculada; TEST2+Ad: Testemunha não inoculada com adubação recomendada. Letras em barras da mesma cor, dentro de cada solo, comparam as médias pelo teste de Scott Knott 5%. 49

Figura 17. Densidade de esporos de fungos micorrízicos arbusculares (Glomerosporos) em mudas de cana-de-açúcar cultivadas em diferentes solos aos 120 dias após o plantio. Efeito principal de solo. PV1: Argissolo da Área do Experimento I; PV2: Argissolo da Área do Experimento II; PV3: Argissolo Vermelho de Itumirim, MG; PLt: Planossolo do campo experimental "Terraço". Letras comparam as médias pelo teste de Scott Knott 5%. 50

Figura 18. Densidade de glomerosporos de diferentes espécies fungos micorrízicos arbusculares recuperadas na rizosfera de mudas de cana-de-açúcar cultivadas em

diferentes solos aos 120 dias após o plantio. Efeito principal de solo. PV1: Argissolo da Área do Experimento I; PV2: Argissolo da Área do Experimento II; PV3: Argissolo Vermelho de Itumirim, MG; PLt: Planossolo do campo experimental "Terraço". Letras comparam as médias pelo teste de Scott Knott 5%..... 52

Figura 19. Densidade de esporos de fungos micorrízicos arbusculares (Glomerosporos) em mudas de cana-de-açúcar inoculadas com diferentes fungos micorrízicos arbusculares aos 120 dias após o plantio. Desdobramento dentro de cada solo. ACOL: *A. colombiana*; AMOR: *A. morrowiae*; ASCR: *A. scrobiculata*; CETU: *C. etunicatum*; DHET: *D. heterogama*; ECON: *E. contigua*; GMAR: *Gi. margarita*; RCLA: *R. clarus*; SCAL: *S. calospora*; TEST1: Testemunha não inoculada; TEST2+Ad: Testemunha não inoculada com adubação recomendada. Letras em barras da mesma cor, dentro de cada solo, comparam as médias pelo teste de Scott Knott 5%..... 53

Figura 20. Densidade de glomerosporos de diferentes espécies fungos micorrízicos arbusculares recuperadas na rizosfera de mudas de cana-de-açúcar inoculadas com diferentes fungos micorrízicos arbusculares aos 120 dias após o plantio. Efeito principal dos tratamentos de inoculação. ACOL: *A. colombiana*; AMOR: *A. morrowiae*; ASCR: *A. scrobiculata*; CETU: *C. etunicatum*; DHET: *D. heterogama*; ECON: *E. contigua*; GMAR: *Gi. margarita*; RCLA: *R. clarus*; SCAL: *S. calospora*; TEST1: Testemunha não inoculada; TEST2+Ad: Testemunha não inoculada com adubação recomendada. Asteriscos indicam tratamento superior aos demais pelo teste de Scott Knott 5%..... 54

Figura 21. Taxa de colonização radicular por endófitos septados escuros (*Dark Septate Endophytes* - DSE) e por fungos micorrízicos arbusculares (FMA) em mudas pré-brotadas de cana-de-açúcar cultivadas em diferentes substratos aos 40 dias após o plantio. Efeito principal de substrato. Apenas DSE: colonização apenas por DSE; DSE total: colonização total de DSE incluindo DSE na presença de FMA (FMA+DSE); FMA total: Colonização total de FMA incluindo FMA+DSE e apenas FMA. Letras em barras de mesma cor comparam as médias pelo teste de Scott Knott 5%. 59

Figura 22. Taxa de colonização radicular por endófitos septados escuros (*Dark Septate Endophytes* - DSE) em mudas pré-brotadas de cana-de-açúcar inoculadas com diferentes fungos micorrízicos arbusculares aos 40 dias após o plantio. Desdobramento dentro de cada substrato. ACOL: *A. colombiana*; AMOR: *A. morrowiae*; CETU: *C. etunicatum*; GMAR: *Gi. margarita*; SCAL: *S. calospora*; Mistura:mistura de ACOL, AMOR, CETU, GMAR e SCAL;Test1: Testemunha não inoculada; Test2+Ad: Testemunha não inoculada com adubação recomendada para mudas pré-brotadas. Letras em barras da mesma cor, dentro de cada substrato, comparam as médias pelo teste de Scott Knott 5%. 60

Figura 23. Taxa de colonização radicular por fungos micorrízicos arbusculares (FMA) em mudas pré-brotadas de cana-de-açúcar inoculadas com diferentes fungos micorrízicos arbusculares aos 40 dias após o plantio. Desdobramento dentro de cada substrato. Barras com pontos: colonização associada de FMA e endófitos septados escuros (*Dark Septate Endophytes* - DSE). Barras texturizada: colonização total de FMA incluindo apenas FMA e FMA + DSE. ACOL: *A. colombiana*; AMOR: *A. morrowiae*; CETU: *C. etunicatum*; GMAR: *Gi. margarita*; SCAL: *S. calospora*; Mistura:mistura de ACOL, AMOR, CETU, GMAR e SCAL; Test1: Testemunha não inoculada; Test2+Ad: Testemunha não inoculada com adubação recomendada para mudas pré-brotadas. Letras em barras da mesma cor, dentro de cada substrato, comparam as médias pelo teste de Scott Knott 5%. 61

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Classificação taxonômica dos fungos micorrízicos arbusculares (<i>Phylum Glomeromycota</i>) apresentada por Redecker et al. (2013).	4
Tabela 2. Caracterização química dos solos das áreas experimentais I (AE I - Expansão do canavial) e II (AE II - Monocultivo de cana há 18 anos).	9
Tabela 3. Linhagens de fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) e dose de solo-inóculo aplicada nas parcelas experimentais (vasos) para fornecer no mínimo 100 esporos.....	11
Tabela 4. Caracterização química dos solos coletados para condução do experimento de seleção de linhagens de FMAs para cana-de-açúcar.	11
Tabela 5. Linhagens de fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) e dose de solo-inóculo aplicada nas parcelas experimentais (tubetes) para fornecer no mínimo 100 esporos.	14
Tabela 6. Mistura de linhagens de fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) e dose de solo-inóculo aplicada nas parcelas experimentais (tubetes), para fornecer no mínimo 13 esporos de cada linhagem, para um total de no mínimo 100 esporos.	15
Tabela 7. Caracterização química dos substratos utilizados nos experimentos de seleção de linhagens de FMAs para produção de mudas pré-brotadas (MPB) de cana-de-açúcar analisados como solo (<i>S</i>) e como tecido (<i>T</i>).	15
Tabela 8. Frequência de ocorrência das espécies de FMAs levantadas em área de renovação do canavial submetida a rotação com <i>Brachiaria ruziziensis</i> (área de rotação – AR), área de renovação do canavial sem rotação (área de monocultura -AM) e área de pastagem de braquiária incorporada ao plantio de cana (área de expansão –AE), em Quatá, SP.....	18
Tabela 9. Espécies de FMAs levantadas nas áreas Experimentais I (AEI – Expansão do canavial) e II (AEII – Renovação canavial em área de monocultivo de cana há 18 anos) ao longo de um ciclo de “cana planta” de um ano e meio (Março de 2014 a Julho de 2015) em Quatá, SP.	22
Tabela 10. Frequência relativa (F_i) (%) e nível de dominância (ND) das espécies de FMAs registradas nas Áreas Experimentais I (Expansão do canavial) e II (Renovação canavial em área de monocultivo de cana há 18 anos) ao longo de um ciclo de “cana planta” de um ano e meio (Março de 2014 a Julho de 2015) em Quatá, SP.	25
Tabela 11. Altura, em centímetros, de mudas de cana-de-açúcar cultivadas em diferentes solos em avaliações periódicas após o plantio. Efeito principal de solo.	28
Tabela 12. Altura, em centímetros, de mudas de cana-de-açúcar inoculadas com diferentes fungos micorrízicos arbusculares em avaliações periódicas após o plantio. Efeito principal da inoculação e desdobramento dentro de cada solo.....	31
Tabela 13. Número de perfilhos e área foliar de mudas de cana-de-açúcar cultivadas em diferentes solos em avaliações periódicas após o plantio. Efeito principal de solo.	32
Tabela 14. Número de perfilhos e área foliar de mudas de cana-de-açúcar inoculadas com diferentes fungos micorrízicos arbusculares em avaliações periódicas após o plantio. Efeito principal da inoculação e desdobramento dentro de cada solo.....	33
Tabela 15. Comprimento e largura da folha +1 de mudas de cana-de-açúcar cultivadas em diferentes solos em avaliações periódicas após o plantio. Efeito principal de solo.	34

Tabela 16. Comprimento e largura da folha +1 de mudas de cana-de-açúcar inoculadas com diferentes fungos micorrízicos arbusculares em avaliações periódicas após o plantio. Efeito principal da inoculação e desdobramento dentro de cada solo.....	34
Tabela 17. Massas secas e frescas de mudas de cana-de-açúcar cultivadas em diferentes solos aos 120 dias após o plantio. Efeito principal de solo.	35
Tabela 18. Massas secas e frescas de mudas de cana-de-açúcar inoculadas com diferentes fungos micorrízicos arbusculares aos 120 dias após o plantio. Efeito principal da inoculação e desdobramento dentro de cada solo.....	36
Tabela 19. Teor e quantidade de P em discos de limbo foliar de mudas de cana-de-açúcar cultivadas em diferentes solos em avaliações periódicas após o plantio. Efeito principal de solo.....	37
Tabela 20. Teor e quantidade de P em discos de limbo foliar de mudas de cana-de-açúcar inoculadas com diferentes fungos micorrízicos arbusculares em avaliações periódicas após o plantio. Efeito principal da inoculação e desdobramento dentro de cada solo.	38
Tabela 21. Teor de macronutrientes nas folhas de mudas de cana-de-açúcar cultivadas em diferentes solos em avaliações periódicas após o plantio. Efeito principal de solo.	39
Tabela 22. Teor de macronutrientes nas folhas de mudas de cana-de-açúcar inoculadas com diferentes fungos micorrízicos arbusculares em avaliações periódicas após o plantio. Efeito principal da inoculação e desdobramento dentro de cada solo.....	40
Tabela 23. Teor de micronutrientes nas folhas de mudas de cana-de-açúcar cultivadas em diferentes solos em avaliações periódicas após o plantio. Efeito principal de solo.	41
Tabela 24. Teor de micronutrientes nas folhas de mudas de cana-de-açúcar inoculadas com diferentes fungos micorrízicos arbusculares em avaliações periódicas após o plantio. Efeito principal da inoculação e desdobramento dentro de cada solo.....	42
Tabela 25. Altura, diâmetro do colmo e número de folhas de mudas pré-brotadas de cana-de-açúcar cultivadas em diferentes substratos aos 20 e 40 dias após o plantio e inoculação com FMAs. Efeito principal de substrato.....	55
Tabela 26. Altura, diâmetro do caule e número de folhas de mudas pré-brotadas de cana-de-açúcar inoculadas com diferentes fungos micorrízicos arbusculares aos 20 e 40 dias após o plantio e inoculação com FMAs. Efeito principal da inoculação e desdobramento dentro de cada substrato.....	56
Tabela 27. Massas secas e frescas de mudas pré-brotadas de cana-de-açúcar cultivadas em diferentes substratos aos 40 dias após o plantio e inoculação com FMAs. Efeito principal de substrato.....	57
Tabela 28. Massas secas e frescas de mudas pré-brotadas de cana-de-açúcar inoculadas com diferentes fungos micorrízicos arbusculares aos 40 dias após o plantio e inoculação com FMAs. Efeito principal da inoculação e desdobramento dentro de cada substrato.....	58

LISTA DE ANEXOS

Anexo A. Resultados médios de análises de solos realizadas antes do início do levantamento das comunidades de fungos micorrízicos em março de 2014.	73
Anexo B. Nível de significância (Valores de F) das fontes de variação na análise de variância da altura de mudas de cana-de-açúcar em avaliações periódicas após o plantio.....	73
Anexo C. Nível de significância (Valores de F) das fontes de variação na análise de variância de número de perfilhos e área foliar de mudas de cana-de-açúcar em avaliações periódicas após o plantio.	73
Anexo D. Nível de significância (Valores de F) das fontes de variação na análise de variância do comprimento e largura da folha +1 de cana-de-açúcar em avaliações periódicas após o plantio.....	74
Anexo E. Nível de significância (Valores de F) das fontes de variação na análise de variância das massas secas e frescas de mudas de cana-de-açúcar aos 120 dias após o plantio.....	74
Anexo F. Nível de significância (Valores de F) das fontes de variação na análise de variância de teor e quantidade de P em discos de limbo foliar de cana-de-açúcar em avaliações periódicas após o plantio.	74
Anexo G. Nível de significância (Valores de F) das fontes de variação na análise de variância de teor de macronutrientes nas folhas de mudas de cana-de-açúcar em avaliações periódicas após o plantio.	75
Anexo H. Nível de significância (Valores de F) das fontes de variação na análise de variância de teor de micronutrientes nas folhas de mudas de cana-de-açúcar em avaliações periódicas após o plantio.	75
Anexo I. Nível de significância (Valores de F) das fontes de variação na análise de variância das colonizações radiculares e teor de fósforo na parte aérea de mudas de cana-de-açúcar aos 120 dias após o plantio.....	75
Anexo J. Nível de significância (Valores de F) das fontes de variação na análise de variância da densidade de esporos de fungos micorrízicos arbusculares (Glomerosporos) recuperados da rizosfera de em mudas de cana-de-açúcar aos 120 dias após o plantio....	76
Anexo K. Nível de significância (Valores de F) das fontes de variação na análise de variância da altura, diâmetro do caule e número de folhas de mudas pré-brotadas de cana-de-açúcar aos 20 e 40 dias após o plantio.	76
Anexo L. Nível de significância (Valores de F) das fontes de variação na análise de variância das massas secas e frescas de mudas pré-brotadas de cana-de-açúcar aos 40 dias após o plantio e inoculação com FMAs.....	76
Anexo M. Nível de significância (Valores de F) das fontes de variação na análise de variância das colonizações radiculares de mudas pré-brotadas de cana-de-açúcar aos 40 dias após o plantio.....	77

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	2
2.1 Simbiose Micorrízica Arbuscular: Generalidades	2
2.2 Classificação Taxonômica dos Fungos Micorrízicos Arbusculares (<i>Phylum Glomeromycota</i>)	3
2.3 Aspectos Gerais da Cultura da Cana-de-açúcar. Sistema de Mudas Pré-Brotadas	4
2.4 Possibilidades de Manejo e Uso dos Fungos Micorrízicos Arbusculares na Cultura da Cana-de-Açúcar	5
3. MATERIAL E MÉTODOS	7
3.1 Levantamento da Comunidade de FMAs em Áreas de Produção (Rotacionadas ou não) e de Expansão da Lavoura de Cana-de-Açúcar	7
3.2 Levantamento da Comunidade de FMAs em Áreas Experimentais de Inoculação de Cana-de-Açúcar com Bactérias Fixadoras de N.....	9
3.3 Seleção de Espécies FMAs para Inoculação de Cana-de-Açúcar em Diferentes Solos	10
3.4 Seleção de Espécies de FMAs para Inoculação de Cana-de-Açúcar em Diferentes Substratos	14
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	17
4.1 Levantamento da Comunidade de FMAs em Áreas de Produção (Rotacionadas ou não) e de Expansão da Lavoura de Cana-de-Açúcar	17
4.2 Levantamento da Comunidade de FMAs em Áreas Experimentais de Inoculação de Cana-de-Açúcar com Bactérias Fixadoras de N.....	21
4.3 Seleção de Espécies FMAs para Inoculação de Cana-de-Açúcar em Diferentes Solos	28
4.4 Seleção de Espécies de FMAs para Inoculação de Cana-de-Açúcar em Diferentes Substratos	54
5. CONCLUSÕES.....	62
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	63
7. ANEXOS.....	73

1. INTRODUÇÃO

Nos últimos anos tem se incrementado a procura por alternativas capazes de diminuir o uso de insumos externos em solos agrícolas em direção ao sistema denominado “*low-input agriculture*” (Owen et al., 2015). Isso devido, em parte, ao caráter não renovável das fontes de alguns fertilizantes, da dependência de sua importação, do aumento de seus preços e à contaminação ambiental associada ao seu uso excessivo. Tal é o caso do fósforo (P), elemento essencial para o desenvolvimento vegetal, porém com reservas naturais finitas estimadas a se esgotar nos próximos 300 a 400 anos (Van Kauwenbergh, 2010; Cordell & White, 2011) e cujo uso indiscriminado é responsável pela eutrofização de corpos de água.

No referido contexto, o desenvolvimento e aplicação de inoculantes biológicos representa uma promissora alternativa de substituição de fertilizantes (Vosátka et al., 2012; Owen et al., 2015). No caso dos fertilizantes fosfatados, os fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) têm destaque como alternativa. Esses fungos estabelecem uma simbiose mutualista, denominada micorriza arbuscular, com as raízes de mais de 80% das espécies de plantas vasculares, incluindo muitas de interesse agrícola (Berbara et al., 2006; Varma, 2008). Esta associação, entre outros benefícios, garante ao simbionte vegetal uma maior absorção de água e nutrientes. Estima-se que a micorriza arbuscular possa ser responsável por até 80% do P absorvido pelas plantas (Stürmer & Siqueira, 2013).

No Brasil a área plantada com cana-de-açúcar é de cerca de 9 milhões de hectares. O país é considerado o maior produtor mundial desta cultura, com 653 milhões de toneladas por ano (Safrá 2013/2014) (UNICA, 2015). Em consequência, a cana-de-açúcar consome 15% dos fertilizantes utilizados na agricultura brasileira (Rosetto et al., 2010; Pereira, 2011; Tavares & Haberli, 2011). A recente introdução de um novo sistema de plantio nesta cultura, a partir de mudas pré-brotadas (MPB) (Landell et al., 2013), oferece uma fase propícia para a inoculação com FMAs, o que pode levar a uma redução de uso de fertilizantes nessa cultura.

Poucas pesquisas têm sido conduzidas sobre a eficiência da micorriza arbuscular na cana-de-açúcar, sendo um tema ainda controverso. Alguns autores reportam uma baixa dependência desta cultura à simbiose (Andreola, 1982; Kelly et al., 2001, 2005). Porém, Magarey et al. (2005) observaram níveis de colonização micorrízica superiores a 55% em plantas de cana-de-açúcar inoculadas com *Rhizophagus clarus*. Esses autores reportaram maiores teores de P em tecido foliar e maior resistência de mudas de cana ao serem levadas para o campo, quando micorrizadas. De forma similar, Jamal-Ally (2013) reportou que a cana, mesmo não sendo micotrófica obrigatória, é beneficiada pela associação micorrízica arbuscular, principalmente nos estágios iniciais do desenvolvimento.

Em tal sentido, essa pesquisa pretende testar duas hipóteses. A primeira é que lavouras de cana-de-açúcar submetidas a manejo intensivo e monocultura prolongada por décadas possuem comunidades de fungos micorrízicos arbusculares com populações reduzidas e pouco diversas. A segunda hipótese é que linhagens de fungos micorrízicos arbusculares podem ser selecionadas quanto à eficiência de promover o crescimento e nutrição de cana-de-açúcar em diferentes solos e substratos.

Neste contexto, os objetivos do estudo foram:

- a. Avaliar a composição de comunidades de fungos micorrízicos arbusculares associados a lavouras de cana-de-açúcar.
- b. Selecionar linhagens de fungos micorrízicos arbusculares eficientes para cana-de-açúcar em diferentes solos e substratos.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Simbiose Micorrízica Arbuscular: Generalidades

O termo simbiose é usado para descrever aquelas interações de longa duração entre espécies biológicas diferentes, nas quais pelo menos um dos membros é beneficiado. Dentro das associações simbióticas de maior relevância encontram-se aquelas do tipo mutualista, nas quais ambos integrantes são favorecidos (Das & Varma, 2009). Entre estas, destaca-se uma das relações mais importantes para as plantas, a micorriza (palavra formada do grego “*mykes*” = fungo e “*rhiza*” = raiz). Define-se micorriza como a associação simbiótica mutualista que se estabelece entre as raízes de plantas e determinados grupos fúngicos (Stürmer & Siqueira, 2013).

A simbiose micorrízica foi inicialmente descrita por Frank no ano 1885 (Frank, 2005), quem a dividiu em duas categorias principais: ecto e endomicorrizas. Na atualidade, as diferentes pesquisas realizadas têm permitido uma maior separação dos tipos de micorrizas. Entre os principais se relatam os seguintes: ectomicorrizas, ectendomicorrizas, micorrizas arbusculares, ericóides, arbutóides, monotropóides e orquidóides (Peterson et al., 2004; Stürmer & Siqueira, 2013). Além disso, recentemente as associações de raízes com fungos septados de cor escura, conhecidos como endófitos do tipo *dark septate*, também têm sido considerados uma possível classe micorrízica (Jumpponen, 2001).

Dos tipos de micorrizas anteriormente mencionados, o de maior antiguidade e distribuição na natureza é a do tipo arbuscular (Finlay, 2008). Evidências fósseis (Remy et al., 1994) e moleculares (Simon et al., 1993) têm sugerido que este tipo de simbiose data de há pelo menos 400 a 600 milhões de anos, sendo que a sua aparição esteve intimamente ligada à colonização do ambiente terrestre pelas primeiras plantas (Das & Varma, 2009).

Na atualidade, estima-se que aproximadamente 80% das espécies de plantas vasculares formem micorrizas arbusculares (Berbara et al., 2006; Varma, 2008). Quanto ao nível de micotrofia (dependência micorrízica) a maioria das plantas são consideradas micorrízicas facultativas, sendo que só algumas são micorrízicas obrigatórias (Koide, 2010; Maherali, 2014). A terceira categoria de micotrofia corresponde àquelas plantas não formadoras de micorrizas, entre as quais encontram-se representantes das seguintes famílias botânicas: Amaranthaceae, Brassicaceae, Caryophyllaceae, Chenopodiaceae, Cyperaceae, Juncaceae e Polygonaceae (Cardoso et al., 2010; Stürmer & Siqueira, 2013). Porém, como consequência do elevado percentual de plantas nas quais se estabelece esta associação, a mesma tem sido reportada na maioria dos ecossistemas terrestres do planeta, incluindo os agrícolas (Peterson et al., 2004; Stürmer & Siqueira, 2013).

Os fungos responsáveis pela simbiose micorrízica arbuscular são exclusivos do *phylum* Glomeromycota (Schüßler et al., 2001). O mesmo conta com 287 espécies descritas (LBM, 2016). Porém, esse número é pequeno quando comparado à grande diversidade de plantas capazes de se associar com eles. Isto faz com que esta seja uma associação inespecífica, na qual uma mesma espécie de fungo é capaz de se associar com múltiplas espécies de plantas, uma vez que uma mesma planta pode ser colonizada por várias espécies de fungos. Entre as características deste grupo fúngico destaca-se a sua condição de biotrófico obrigatório, sendo que dependem de uma raiz fisiologicamente ativa para completar seu ciclo de vida (Smith & Read, 2008; Stürmer & Siqueira, 2013).

As estruturas fúngicas que definem este tipo de micorriza são hifas inter e intracelulares, micélio extrarradicular, esporos e ocasionalmente vesículas tanto intra quanto extrarradiculares, chamadas essas últimas de células auxiliares (Peterson et al., 2004; Smith & Smith, 2012). Além disso, destaca-se a formação de arbúsculos, estruturas típicas dessa micorriza. Os mesmos são hifas altamente ramificadas que colonizam o interior das células do córtex radicular. Ocupam a área entre a parede celular e a membrana plasmática,

invaginando essa última, e são considerados o maior sítio de intercâmbio de carbono, água e nutrientes entre o fungo e a planta (Stürmer & Siqueira, 2013).

De modo geral, o benefício das micorrizas arbusculares no crescimento e nutrição vegetal tem sido amplamente documentado, destacando-se a sua participação nos mecanismos de absorção de nutrientes, principalmente do fósforo (P), e de outros elementos pouco móveis no solo, como o Cu e o Zn (Brundrett, 2002; Bonfante, 2003; Smith & Smith, 2012; Stürmer & Siqueira, 2013). Além disso, esta simbiose confere às plantas uma maior proteção contra organismos patogênicos e condições ambientais desfavoráveis, como elevados níveis de salinidade (Oztekin et al., 2013) ou seca (Doubková et al., 2013; Gholamhoseini et al., 2013). Adicionalmente, várias pesquisas têm demonstrado como esta simbiose contribui na formação e manutenção da estrutura do solo através das suas hifas extrarradiculares e produção de glomalina (Gadkar et al., 2006; Bedini et al., 2009).

A glomalina, é uma glicoproteína sintetizada nas paredes de hifas e esporos de FMAs, sendo liberada ao solo após senescência destas estruturas (Wright & Upadhyaya, 1996; Driver et al., 2005). Desde o ponto de vista estrutural, ainda não encontra-se totalmente definida, porém a molécula de glomalina tem sido descrita como um complexo de estruturas monoméricas unidas entre si por interações hidrofóbicas (González-Chávez et al., 2004; Nichols, 2003; Wu et al., 2014).Dentre as propriedades desta glicoproteína que favorecem sua função no solo destacam-se seu caráter termostável, hidrofóbico e recalcitrante (Sousa et al., 2012).Devido a estas características e à grande diversidade de plantas com as quais se estabelece a simbiose micorrízica arbuscular, a glomalina tem sido detectada em quantidades elevadas em grande diversidade de solos e ecossistemas (Wright & Upadhyaya, 1998; Nichols, 2003).

Entre os fatores capazes de afetar a simbiose micorrízica arbuscular podem se mencionar aqueles de tipo genético inerentes ao hospedeiro vegetal (Cardoso et al., 2010), assim como a estrutura e morfologia do sistema radicular deste. Além disso, a microflora da rizosfera pode influenciar a capacidade destes fungos de se relacionar com uma determinada planta. Por último, as características físico-químicas do solo e do clima no qual a planta se desenvolve (Ex.: luz, temperatura, fertilidade e pH), também podem interferir no estabelecimento da simbiose (Goltapeh et al., 2008; Maherali, 2014).

2.2 Classificação Taxonômica dos Fungos Micorrízicos Arbusculares (*Phylum Glomeromycota*)

Os fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) atualmente compreendidos no *Phylum Glomeromycota*, têm atravessado numerosas variações na sua classificação taxonômica nos últimos anos. Os métodos de identificação de espécies de FMAs, antigamente baseados somente em características morfológicas dos esporos, hoje em dia são integrados com evidências moleculares. Assim, uma das linhas de classificação mais recentes é a relatada por Redecker et al. (2013) que agrupa os FMAs em uma classe, quatro ordens, 10 famílias e 24 gêneros (Tabela 1). O número total de espécies micorrízicas arbusculares descritas para o *phylum* (excluindo o gênero *Geosiphon* que não forma micorrizas arbusculares) é atualmente de aproximadamente 287 espécies (LBM, 2016). Destas, 153 já foram registradas no Brasil até o momento, o que representa pouco mais da metade (53%) da diversidade mundial deste grupo de fungos (LBM, 2016).

Tabela 1. Classificação taxonômica dos fungos micorrízicos arbusculares (*Phylum Glomeromycota*) apresentada por Redecker et al. (2013).

CLASSE	ORDENS	FAMÍLIAS	GÊNEROS
Glomeromycetes	Diversisporales	Diversisporaceae	<i>Tricispora</i>
			<i>Otospora</i>
			<i>Diversispora</i>
			<i>Corymbiglomus</i>
			<i>Redeckera</i>
		Acaulosporaceae	<i>Acaulospora</i>
		Sacculosporaceae	<i>Sacculospora</i>
		Pacisporaceae	<i>Pacispora</i>
		Gigasporaceae	<i>Scutellospora</i>
			<i>Gigaspora</i>
			<i>Intraornatospora</i>
			<i>Paradentiscutata</i>
			<i>Dentiscutata</i>
			<i>Cetraspora</i>
	Glomerales	Claroideglomeraceae	<i>Claroideoglomus</i>
		Glomeraceae	<i>Glomus</i>
			<i>Funneliformes</i>
			<i>Septoglomus</i>
			<i>Rhizophagus</i>
	Archaeosporales	Ambisporaceae	<i>Ambispora</i>
Archaeosporaceae		<i>Archaeospora</i>	
Paraglomerales	Paraglomeraceae	<i>Paraglomus</i>	
TOTAL	4	10	24

2.3 Aspectos Gerais da Cultura da Cana-de-açúcar. Sistema de Mudanças Pré-Brotadas

A cana-de-açúcar faz parte da família Poaceae, portanto é uma planta do grupo das gramíneas. A mesma, pertence à Divisão Magnoliophyta (plantas com flores), Classe Liliopsida (monocotiledôneas), Ordem Cyperales (Scarpari & Beauclair, 2010). O gênero *Saccharum*, do qual faz parte esta cultura, compreende seis espécies: *S. officinarum*, *S. barberi*, *S. robustum*, *S. spontaneum*, *S. sinensis* e *S. edule*. Não obstante, a cana atualmente cultivada é resultante dos híbridos que têm sido obtidos destas espécies na busca por incrementos produtivos e resistência a pragas e doenças (Scarpari & Beauclair, 2010).

De modo geral, o ciclo produtivo da cana-de-açúcar precisa de um tempo médio de crescimento de entre 12 e 18 meses, dependendo se a variedade for de maturação precoce ou tardia. O primeiro corte de um canavial é feito na "cana planta". A partir desta primeira colheita, os cortes posteriores da mesma touceira são feitos na "cana soca" (Oliveira, 2003). O aproveitamento total de uma lavoura de cana é de entre 5 e 7 anos, sendo que a cultura é considerada semiperene (Filho, 2014).

Na atualidade, a cana-de-açúcar representa uma das culturas de maior importância global. Isso devido aos muitos derivados obtidos a partir da sua produção, entre os quais se destacam o açúcar e o etanol, sendo este último uma importante fonte de energia renovável (Paungfoo-Lonhienne et al., 2014). A cultura da cana-de-açúcar se expande por uma ampla gama de latitudes (35°N até 30°S) e altitudes (desde o nível do mar até 1000 metros) em mais

de 110 países tropicais e subtropicais (Rodrigues, 1995; Arruda, 2011; Paungfoo-Lonhienne et al., 2014). No Brasil, ela ocupa uma área aproximada de 9 milhões de hectares, sendo o país o maior produtor mundial, atingindo 653 milhões de toneladas na Safra 2013/2014 (UNICA, 2015).

O Brasil, com sua grande extensão e faixas de climas, é provavelmente o único país do mundo com dois períodos de safra no ano. Na região Norte-Nordeste a safra tem lugar no período de novembro a abril, enquanto na Centro-Sul a colheita é feita de abril a novembro (Gouvêa, 2008). É justamente esta última região a mais plantada com cana-de-açúcar no país, sendo o estado de São Paulo o principal produtor nacional. O mesmo é responsável por quase 60% da produção canavieira no Brasil (Viana et al., 2012, UNICA 2014).

Devido à importância histórica, econômica e estratégica dessa cultura para o Brasil, o país tem promovido a busca por novas tecnologias associadas a ela. Neste sentido, recentemente o Instituto Agrônomo de Campinas (IAC) desenvolveu um novo sistema de plantio de cana, denominado de Mudas Pré-Brotadas (MPB). O mesmo, propõe a substituição do sistema convencional de plantio pelo uso de mudas já formadas a partir de minirrebolos (fragmentos de colmo onde estão contidas as gemas) (Coplana Produtor, 2013; Gomes, 2013; Landell et al., 2013). Entre as vantagens deste novo método destacam-se o menor número de colmos destinados ao plantio e uma notável melhora fitossanitária, com o consequente aumento na eficiência do plantio, pela total mecanização, e respectivos ganhos econômicos (Gomes, 2013).

2.4 Possibilidades de Manejo e Uso dos Fungos Micorrízicos Arbusculares na Cultura da Cana-de-Açúcar

Durante muito tempo pesquisadores e técnicos associados à cultura da cana-de-açúcar concentraram a sua preocupação na redução dos efeitos da compactação do solo sob a lavoura canavieira e na busca por variedades mais produtivas e resistentes. Entretanto, um importante componente para manter a sustentabilidade da cultura não foi priorizado: a atividade biológica do solo (Coleti, 2010). Na atualidade, esta situação está revertendo por uma maior preocupação em estudar os microrganismos do solo relacionados com a cana-de-açúcar, principalmente aqueles compreendidos no grupo dos promotores de crescimento vegetal. Muitas pesquisas têm sido desenvolvidas neste sentido, principalmente com bactérias fixadoras de nitrogênio (Oliveira, 2003; Silva, 2009; Schultz, 2012). Não obstante, alguns grupos, como os FMAs, com elevado potencial biotecnológico (Siqueira et al., 2002; Atkinson, 2009), têm ainda poucos estudos sobre sua ocorrência e aplicação na cultura da cana-de-açúcar.

No Brasil, apesar da importância da cultura canavieira, a situação reflete o panorama acima citado. No país, são escassas as pesquisas que têm abordado a interação de FMAs e a cana-de-açúcar (Azevedo, 2008; Filho & Nogueira, 2007). Um dos primeiros trabalhos realizados foi o de Andreola (1982), onde o autor fez um levantamento da comunidade de FMAs num canavial do município de Araras, São Paulo. No mesmo, foram reportadas um total de 5 espécies de FMAs. Além disso, foram feitos ensaios de inoculação de cana com *Gigaspora gilmorei*, nos quais não foi observado um efeito benéfico desta espécie de fungo sobre o crescimento da cana-de-açúcar.

Posteriormente, Reis et al. (1999) avaliaram as comunidades de FMAs em três plantações de cana dos estados do Rio de Janeiro e Pernambuco, onde verificaram variações de riqueza de espécies entre 9 e 14, para um total de 18 espécies levantadas nos três canaviais estudados. Mais recentemente, Azevedo (2008) estudou as comunidades de FMAs associadas a cana sob diferentes sistemas de manejo de colheita no município de Novo Horizonte, SP. Neste caso, o autor empregou tanto métodos tradicionais quanto moleculares para a

identificação das espécies, reportando um total de 33 espécies de FMAs distribuídas nos dois sistemas estudados. Posteriormente, num trabalho similar, este mesmo autor superou esse valor, reportando 37 espécies de FMAs para sistemas de produção de cana-de-açúcar (Azevedo et al., 2014).

Além dos levantamentos de espécies de FMAs acima referidos, as pesquisas envolvendo esses fungos em cana-de-açúcar no Brasil têm abordado outros tópicos, entre eles o efeito na simbiose micorrízica da rotação de culturas e da aplicação de herbicidas nas lavouras (Ambrosano et al., 2010; Reis et al., 2009). Outros autores têm estudado a resposta da comunidade microbiana do solo à simbiose micorrízica Cana-*Glomus clarum* (atualmente *Rhizophagus clarus*). (Andrade, 2013) e como diferentes sistemas de manejo de uma lavoura canavieira podem afetar a biomassa bacteriana e de FMAs (Aleixo, 2014).

Em outros países também têm sido publicados artigos referentes à simbiose micorrízica arbuscular em cana-de-açúcar. Entre estes, destacam-se os resultados obtidos por Kelly et al. (2001; 2005) na Austrália, que reportaram uma baixa resposta das plantas de cana-de-açúcar à inoculação com *Glomus clarum* (atualmente *Rhizophagus clarus*). Porém, Magarey et al (2005), também na Austrália, obtiveram resultado oposto ao inocular plantas de cana-de-açúcar com esta mesma espécie de FMA. Essas diferenças de resposta podem ser resultado da aplicação de quantidades diferentes de P na condução dos experimentos, fator este que se conhece afeta a micorrização e a resposta das plantas à inoculação (Siqueira & Saggin Junior, 2001).

No Irã, Kariman et al. (2005) e Rokni & Goltapeh (2011) relataram 17 e 16 espécies de FMAs, respectivamente, associadas a diferentes canais do país. Mais recentemente, Jamal-Ally (2013) na África do Sul, detectou valores médios de colonização micorrízica entre 30 e 41% em plantas de cinco variedades de cana-de-açúcar. Esta autora também realizou ensaios em casa de vegetação, através dos quais concluiu que a cana-de-açúcar é uma micotrófica facultativa, beneficiada pelos FMAs principalmente na fase inicial de estabelecimento. Finalmente, Kumalawati et al. (2014) reportaram 11 espécies de FMAs ao levantar plantações de cana-de-açúcar na região Sul da Indonésia.

De modo geral, as pesquisas realizadas até agora sobre a simbiose micorrízica em cana-de-açúcar não têm sido o suficientemente direcionadas à análise do sistema de manejo visando a possibilidade de inoculação da cultura. Também não têm focado a seleção de espécies de FMAs com fins de produção de inoculantes. Não obstante, os trabalhos disponíveis mostram a capacidade das variedades de *Saccharum* spp. de formar micorrizas do tipo arbuscular, uma vez que têm sido achadas raízes altamente colonizadas em algumas situações. Embora alguns trabalhos têm obtido resultados negativos na inoculação de cana-de-açúcar com FMAs (Andreola, 1982, Kelly et al., 2001, 2005) é válido testar a resposta desta cultura à inoculação com outras espécies e linhagens de FMAs, pois níveis de preferência entre FMAs e plantas são conhecidos nos estudos com estes fungos (Pouyu-Rojas et al., 2006).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Levantamento da Comunidade de FMAs em Áreas de Produção (Rotacionadas ou não) e de Expansão da Lavoura de Cana-de-Açúcar

Para levantar a composição de comunidades de FMAs associados a lavouras de cana-de-açúcar foram selecionadas duas áreas de replantio e uma área de expansão da lavoura de cana-de-açúcar, todas pertencentes ao município de Quatá, estado de São Paulo. As áreas foram escolhidas em função do seu manejo sendo: a) uma área de renovação do canavial, submetida após a eliminação da soqueira em 2014, a uma rotação com *Brachiaria ruziziensis* (área de rotação com *B. ruziziensis*), sendo cultivada com cana-de-açúcar desde 1983 (Figura 1); b) uma área de renovação do canavial direta após a retirada da soqueira (área de monocultura de cana-de-açúcar desde 1997- 18 anos) (Figura 2) e c) uma área de pastagem de capim braquiária sendo pela primeira vez incorporada ao processo produtivo de cana-de-açúcar (área de expansão sobre pastagem) (Figura 3). Os resultados das análises do solo das três áreas,prévio ao início das amostragens das comunidades de FMAs, são apresentados no anexo A.

Foi realizada uma primeira amostragem em março de 2014, quando não havia vegetação presente. Nas áreas a) e b) a vegetação havia sido dessecada pelo uso de herbicidas e na área c), após dessecação com herbicidas e calagem, a área foi gradeada com grade-aradora não apresentando vegetação. Portanto, a comunidade de FMAs presente nas três áreas é a que estaria presente no novo plantio de cana. Uma segunda amostragem foi realizada na área de expansão do canavial em julho de 2015 e nas áreas de renovação do canavial em setembro de 2015, nos três casos logo após a colheita da “cana planta”.



Figura 1.Área nº 7403 com renovação do plantio de cana-de-açúcar em março de 2014 após uma rotação com *Brachiaria ruziziensis* na entressafra feita após 32 anos de monocultura de cana. Em vermelho está a área amostrada para avaliação da comunidade de fungos micorrízicos (9,0 hectares).

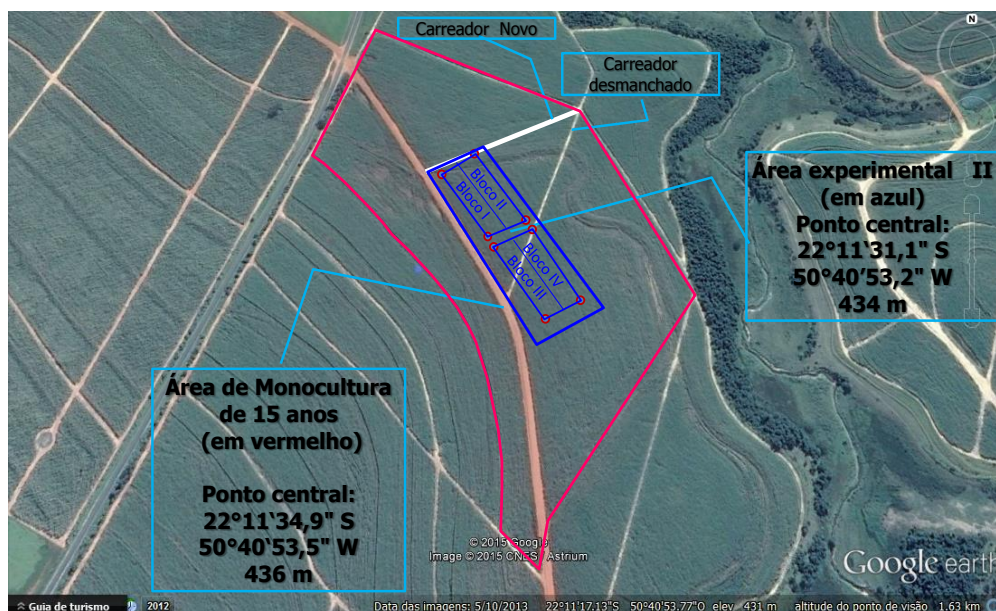


Figura 2. Área nº 7802 com renovação do plantio de cana-de-açúcar em março de 2014 após 18 anos de monocultura desta lavoura. Em azul está a área de implantação do experimento II e em vermelho (menos a área azul) está a área amostrada para avaliação da comunidade de fungos micorrízicos arbusculares (20,8 hectares).

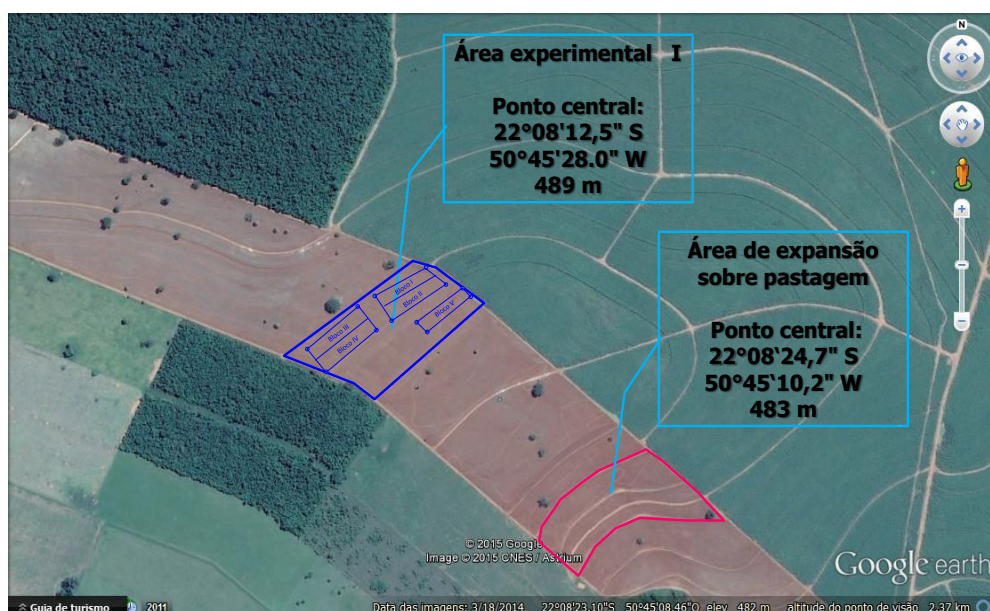


Figura 3. Área nº 7994 com expansão do plantio de cana-de-açúcar em março de 2014 sobre pastagem de capim braquiária. Em azul está a área de implantação do experimento I e em vermelho a área amostrada para avaliação da comunidade de fungos micorrízicos arbusculares (4,4 hectares).

Em cada uma das três áreas foram colhidas 5 amostras compostas de 10 subamostras tomadas na camada 0-10 cm de profundidade, em vários pontos, caminhando em zig-zag cobrindo toda a área. Isso representou um total de 30 amostras compostas analisadas nas duas épocas de amostragem. Nas mesmas foi quantificado o número de esporos em 50 cm³ de solo e foram identificadas as espécies de FMAs na comunidade pela morfologia dos esporos presentes. Para isso os esporos de FMAs foram extraídos de 50 cm³ de solo por peneiramento

úmido (Gerdemann & Nicolson, 1963) e centrifugações em água e solução de sacarose (Jenkins, 1964). Após a extração, os esporos foram selecionados sob microscópio estereoscópico e fixados em uma lâmina para microscopia com PVLG (polivinil lacto glicerol) e PVLG + reagente de Melzer (1:1). A confirmação da identidade de cada esporo foi realizada utilizando as descrições de caracteres morfológicos conforme apresentado no site do INVAM (INVAM, 2015) e na descrição original de cada espécie.

3.2 Levantamento da Comunidade de FMAs em Áreas Experimentais de Inoculação de Cana-de-Açúcar com Bactérias Fixadoras de N

A comunidade de FMAs foi levantada em duas áreas (Área Experimental I e Área Experimental II) de condução de experimentos de inoculação de cana-de-açúcar com bactérias fixadoras de N, no município de Quatá, estado de São Paulo. A Área Experimental I foi localizada dentro de uma área de expansão do canavial sobre uma pastagem de capim braquiária (*Brachiaria decumbens*), sendo pela primeira vez incorporada ao processo produtivo de cana-de-açúcar (Figura 3). A Área Experimental II foi localizada dentro de uma área de renovação de um canavial já cultivado por 18 anos (Figura 2). Na Tabela 2 são mostrados os resultados das análises químicas dos solos das áreas experimentais I e II.

Tabela 2. Caracterização química dos solos das áreas experimentais I (AE I - Expansão do canavial) e II (AE II - Monocultivo de cana há 18 anos).

Solos	pH em água	P (mg/dm ³)	K	Ca Mg Al H + Al S				C g/kg
				-----cmol _c /dm ³ -----				
AE I	5,01	3,23	29	1,12	0,41	0,06	1,75	2,7
AE II	6,90	8,66	64	2,98	0,95	0,00	1,01	3,4

Análises feitas no Lab. de Química Agrícola da Embrapa Agrobiologia, Seropédica, RJ baseadas nos procedimentos descritos por Nogueira & Souza (2005)

Os fatores implantados nesses experimentos foram a inoculação ou não de bactérias fixadoras de nitrogênio (BFN) x três doses de N x três cultivares de cana-de-açúcar. Na amostragem micorrízica, devido à execução das análises ser muito laboriosa, selecionaram-se as duas melhores cultivares (RB966928 e RB92579) quanto ao crescimento inicial e taxa de sobrevivência no campo e a dose 0 de N (sem nitrogênio), onde não se esperava influência do N sobre a comunidade de FMAs. Assim, os fatores analisados quanto à comunidade de FMAs foram a inoculação ou não de bactérias fixadoras de nitrogênio (BFN) x duas cultivares de cana-de-açúcar (RB-966928 e RB-92579) cultivadas sem fertilização nitrogenada. No experimento I tomaram-se amostras em cinco blocos (20 amostras) e no experimento II em quatro blocos (16 amostras).

Para o plantio da cana nas áreas experimentais foi utilizando o equipamento Penta, desenvolvido pela Mafes (Ticianel, 2016). Esse equipamento permite o plantio da cana em linhas duplas espaçadas de 0,9 m (linhas de Penta) e mantém as “linhas de Penta” espaçadas entre si por 1,5 m permitindo a preservação da área de pisoteio por máquinas e aplicação de insumos e corretivos em apenas 50% da área total cultivada. As parcelas dos experimentos possuíam 22 m de comprimento por 12 m de largura (5 linhas de penta), onde foram consideradas úteis as 3 linhas de Penta centrais e 18 metros de comprimento.

Nestas áreas foram feitas três amostragens de solo para avaliação da comunidade de FMAs. A primeira amostragem foi logo após o plantio dos experimentos, com o canavial

tendo 3 meses de idade (junho de 2014). A segunda amostragem foi com o canavial tendo 9 meses de idade (dezembro de 2014) e a terceira amostragem foi realizada com o canavial tendo 16 meses de idade (julho de 2015), imediatamente após a colheita da “cana planta”. Nas três amostragens as amostras foram compostas por cinco sub-amostras tomadas em linhas úteis das parcelas experimentais.

De modo geral, foram analisadas um total de 108 amostras compostas de solo. Nas mesmas foi quantificada a densidade de esporos expressa como o número total de esporos em 50 cm³ de solo e a riqueza de espécies ou número espécies de FMAs na comunidade, identificadas através da morfologia dos esporos presentes em campo. Para isso os esporos de FMAs foram extraídos de 50 cm³ de solo por peneiramento úmido (Gerdemann & Nicolson, 1963) e duas centrifugações consecutivas, em água e solução de sacarose ao 45% (Jenkins, 1964). Após a extração, os esporos foram selecionados sob microscópio estereoscópico e fixados lâminas para microscopia com PVLG (polivinil lacto glicerol) e PVLG + reagente de Melzer (1:1). A confirmação da identidade de cada esporo foi realizada utilizando as descrições de caracteres morfológicos conforme apresentado no site do INVAM (INVAM, 2015) e na descrição original de cada espécie.

A frequência de ocorrência (F_i) das espécies de FMAs foi calculada através da equação $F_i = J_i / k$, onde J_i representa o número de amostras onde a espécie i ocorreu e k o número total de amostras analisadas. A partir dos dados de frequência de ocorrência calculados, as espécies foram classificadas quanto ao nível de dominância seguindo a classificação proposta por Zhang et al. (2004): dominante ($F_i > 50\%$), muito comum ($30 < F_i \leq 50\%$), comum ($10 < F_i \leq 30\%$) e rara ($F_i \leq 10\%$).

3.3 Seleção de Espécies FMAs para Inoculação de Cana-de-açúcar em Diferentes Solos

Foi realizado um experimento em casa de vegetação para selecionar linhagens de FMAs para inoculação de cana-de-açúcar em diferentes solos. Foram avaliadas nove linhagens de FMAs (Tabela 3) quanto a sua capacidade de promover o crescimento e nutrição de mudas de cana-de-açúcar nos quatro solos listados na Tabela 4. Todas as linhagens pertencem a COFMEA (Coleção de Fungos Micorrízicos da Embrapa Agrobiologia), em Seropédica, Rio de Janeiro.

Foram coletadas aproximadamente 200 kg de solo, na camada 0-20 cm de profundidade em cada uma das quatro localidades referidas na Tabela 4. Posteriormente as amostras de solo coletadas, foram peneiradas em malha de 4 mm, sendo que suas características químicas são apresentadas na Tabela 4. Com a finalidade de diminuir o potencial de inóculo de fungos micorrízicos arbusculares nativos, os solos foram divididos em porções de 4 kg em sacos plásticos pretos, onde foram umedecidos com 200 mL por saco com solução de Formaldeído 0,72% e submetido a solarização por 72 horas consecutivas.

Posteriormente, os solos foram submetidos a calagem e adubação baseadas no resultado da análise química (Tabela 4) e segundo o recomendado para cana-de-açúcar no Manual de calagem e adubação do estado do Rio de Janeiro (Freire *et al.*, 2013). Foi aplicado 0,95; 0,50; 1,64 e 1,46 g de calcário por quilograma dos solos PV1, PV2, PV3 e PLt, respectivamente. Utilizou-se calcário agrícola dolomítico com 25% de CaO, 17% de MgO e 75,1% de PRNT. A adubação recomendada para todos os solos, segundo Freire *et al.* (2013) é de 90 kg/ha de P₂O₅ e 40 kg/ha de K₂O. Para todos os tratamentos inoculados com FMAs e para uma testemunha não inoculada (TEST1) foram aplicados $\frac{1}{3}$ da adubação fosfatada recomendada e $\frac{1}{2}$ da adubação potássica recomendada, usando fosfato de potássio. Uma testemunha não inoculada adicional recebeu adubação fosfatada e potássica completa conforme recomendação (TEST2+Ad). Durante o período de condução do experimento foram

aplicados semanalmente 50 mL por vaso de solução nutritiva de Hoagland modificada por Jarstfer & Sylvia (1995).

Tabela 3. Linhagens de fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) e dose de solo-inóculo aplicada nas parcelas experimentais (vasos) para fornecer no mínimo 100 esporos.

Linhagem de FMA da COFMEA	Concentração de esporos (esporos/g de solo-inóculo*)	Dose aplicada por vaso (g)
A15 (CNPAB 015) <i>Acaulospora colombiana</i>		
A79 (CNPAB 037) <i>Acaulospora morrowiae</i>	750	0,2
A38 (IES-33) <i>Acaulospora scrobiculata</i>	16	6,3
A44 (Inóculo 51) <i>Claroideoglomusetunicatum</i>	18	5,6
A2 (CNPAB 002) <i>Dentiscutata heterogama</i>	17	5,9
A28 (IES-4b) <i>Entrophospora contigua</i>	280	0,4
A1 (CNPAB 001) <i>Gigaspora margarita</i>	35	2,9
A5 (CNPAB 005) <i>Rhizophagus clarus</i>	26	3,9
A80 (CNPAB 038) <i>Scutellospora calospora</i>	8	12,5

COFMEA: Coleção de Fungos Micorrízicos da Embrapa Agrobiologia; *:Todos os solo-inóculos foram obtidos utilizando *Brachiaria decumbens* como planta hospedeira dos FMAs.

Tabela 4. Caracterização química dos solos coletados para condução do experimento de seleção de linhagens de FMAs para cana-de-açúcar.

Solos	pH em água	P	K	Ca	Mg	Al	H + Al S)	C
		mg/dm ³	mg/dm ³	-----	cmol/dm ³	-----	-----	g/kg
PV1	5,35	6,60	39	1,12	0,45	0,03	1,62	2,8
PV2	5,98	9,35	44	1,65	0,60	0,01	1,95	3,2
PV3	5,30	0,55	30	0,46	0,07	0,00	2,05	3,4
PLt	5,07	2,54	21	0,61	0,19	0,21	2,56	3,0

PV1: Argissolo coletado na Área do Experimento I em Quatá, SP, ponto de coleta -22,138361° S--50,757750° W, 497m; **PV2:** Argissolo coletado na Área do Experimento II em Quatá, SP, ponto de coleta -22,191500° S -50,682389° W436m; **PV3:** Argissolo Vermelho coletado em Itumirim, MG, ponto de coleta -21,281416° S -44,860550°W, 944m; **PLt:** Planossolo coletado no campo experimental "Terraço" da Embrapa Agrobiologia em Seropédica, RJ, ponto de coleta -22,749274° S-43,666626°W, 26m. Análises feitas no Lab. de Química Agrícola da Embrapa Agrobiologia, Seropédica, RJ baseados nos procedimentos descritos em Nogueira & Souza (2005).

O delineamento experimental foi em blocos ao acaso, em esquema fatorial 11x4. O experimento foi constituído por 11 tratamentos de inoculação combinados com quatro solos, distribuídos em 5 blocos (repetições). Os tratamentos de inoculação foram as nove linhagens de FMAs somados aos dois controles não inoculados. A aplicação dos tratamentos de inoculação foi feita no momento do transplante de gemas pré-brotadas (mudas) para os solos, aplicando o inoculante na forma de solo-inóculo (Tabela 3) em quantidade suficiente para aplicar pelo menos 100 esporos por muda, além de outros propágulos constituídos de fragmentos de hifas e raízes de braquiária colonizadas.

As mudas utilizadas no experimento foram obtidas de minirrebolos cortados de plantas adultas (nove meses de idade) da variedade SP81-3250 (Figura 4), seguindo a metodologia proposta por Landell et al. (2013). Os minirrebolos cortados foram submetidos a tratamento térmico para eliminação de viroses (52°C por 30 minutos) e antifúngico (3 minutos) numa

solução de 10 mL/L de Piraclostrobina (250 g/L) comercializado como Comet® (BASF). Posteriormente os minirrebolos foram colocados para brotar e enraizar em substrato autoclavado composto de areia:vermiculita (2:1). Após 30 dias do plantio foi feita uma seleção das mudas padronizando o tamanho daquelas a serem empregadas no experimento. As mudas selecionadas foram transplantadas e inoculadas com os FMAs em vasos do tipo “tubetes para citros”, com capacidade para 3 kg de solo, plantando-se uma muda por vaso (parcela experimental).

Durante a condução dos experimentos o crescimento das plantas foi avaliado periodicamente. Usou-se como referência a folha +1 das plantas, seguindo o sistema de Kuijper (Gallo et al., 1962) para numeração das folhas de cana-de-açúcar (Figura 5). Foram medidas assim a altura até a inserção da folha +1, número de folhas totalmente expandidas (com lígula visível) e com um mínimo de 20% de área verde, e comprimento e largura da folha +1. Essas medidas foram tomadas aos 13, 33, 61, 80, 105 e 120 dias após o transplante e inoculação das plantas. Conjuntamente, o perfilhamento das plantas foi quantificado no experimento a partir dos 61 dias após o plantio, em correspondência com o descrito na literatura. Segundo Diola & Santos (2011) o perfilhamento inicia-se 40 dias após o plantio, alcançando níveis máximos entre 90 e 120 dias.

Além das variáveis biométricas, aos 60, 90 e 120 dias após o transplante e inoculação foi feita análise do estado de nutrição fosfatada das plantas através da metodologia proposta por Aziz & Habte (1987), de análise de P em discos de folha. Para isso amostrou-se discos de 8 mm de diâmetro no terço médio da folha +1, quantificando o P em cada disco e o teor deste elemento no tecido foliar.

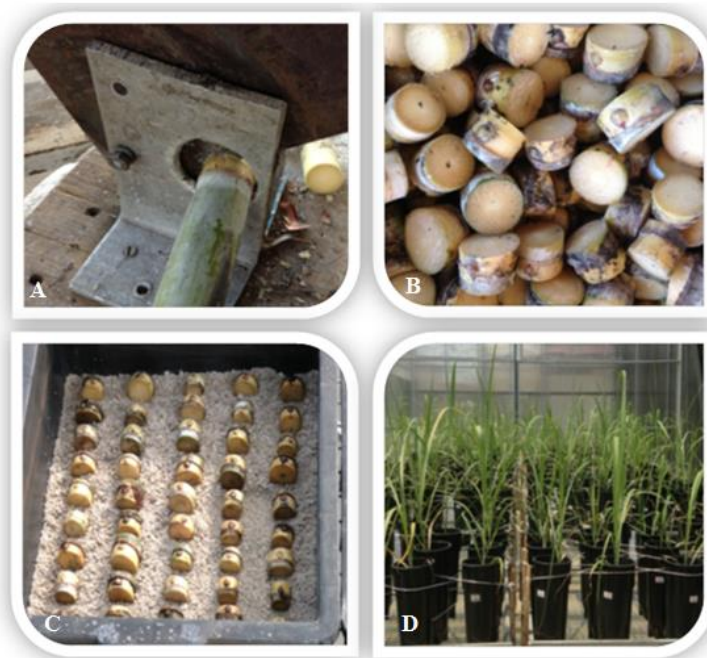


Figura 4. Algumas fases de obtenção das mudas de cana-de-açúcar (Variedade SP81-3250). **A:** Guilhotina para corte de colmos; **B:** minirrebolos; **C:** Caixas de brotação contendo os minirrebolos em areia:vermiculita (2:1) e **D:** Experimento de seleção de espécies de FMAs para cana-de-açúcar em tubetes para citros.

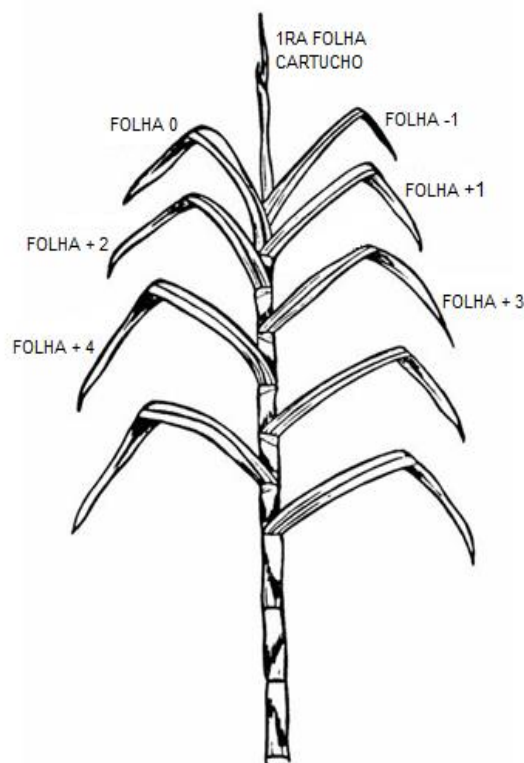


Figura 5. Sistema de Kuijper para numeração das folhas de cana-de-açúcar (adaptado de Dillewijn, 1952) (Fonte da imagem: Blogspot Agricultura em Foco).

A partir de algumas variáveis de crescimento foi estimada a área foliar de cada planta (AF) empregando a fórmula proposta por Hermann & Câmara (1999):

$$AF = C \times L \times 0,75 \times (N+2)$$

onde:

C: Comprimento da folha +1

L: Largura da folha +1

0,75: fator de forma

N: Número de folhas totalmente expandidas e com um mínimo de 20% de área verde

2: Fator de correção

Passados 120 dias do transplante e inoculação das mudas procedeu-se a coleta do experimento. Foram medidas então as variáveis de massa fresca das folhas verdes, colmo e raízes de maneira independente. Posteriormente o material foi secado em estufa a 60°C e medidas então a massa seca de folhas, colmo e raízes. As folhas foram então trituradas em moinho de facas tipo Willey e enviadas ao Laboratório Pirassolo, Piracicaba, SP para análise de macro e micronutrientes no tecido foliar.

Aproximadamente 0,50 gramas de raízes finas e frescas foram retiradas de cada uma das plantas. A clarificação e coloração das amostras de raízes foram realizadas seguindo as metodologias propostas por Koske & Gemma (1989) e Grace & Stribley (1991). Posteriormente, foi avaliada a colonização por FMAs e *Dark Septate Endophytes* (DSE). Segmentos de raízes de aproximadamente 1 cm de comprimento foram colocadas em lâminas de microscopia usando-se como solução de montagem glicerol (50%). A porcentagem de colonização radicular foi estimada em microscópio óptico, a partir da verificação da

ocorrência de estruturas de FMAs e DSE de forma conjunta, e de cada um destes fungos de forma independente, em 100 campos visuais de 40X.

Os dados foram tabulados, checados quanto a sua normalidade e homogeneidade de variância e submetidos a análise de variância e teste de médias (Scott Knott 5%) utilizando o programa SISVAR (Ferreira, 2011).

3.4 Seleção de Espécies de FMAs para Inoculação de Cana-de-Açúcar em Diferentes Substratos

Um segundo experimento de seleção de linhagens de FMAs para cana-de-açúcar em casa de vegetação foi conduzido entre julho e agosto de 2015. Foram avaliadas cinco linhagens de FMAs (Tabela 5) e uma mistura composta por oito linhagens (Tabela 6), quanto a sua capacidade de promover o crescimento, na fase de produção de mudas pré-brotadas (MPB), em quatro substratos (Tabela 7).

Os substratos estudados foram: a) Fazendinha: Substrato para hortaliças do Sistema Integral de Produção Agroecológica (SIPA) - Fazendinha Agroecológica km 47, Seropédica, RJ (Embrapa Agrobiologia, Pesagro-Rio e UFRRJ) produzido a base de húmus de minhoca a partir de esterco bovino (75%) e carvão de eucalipto fino peneirado em malha de 4 mm (25%); b) Multiplant: Substrato comercial Multiplant® Hortaliças (Terra do Paraíso) produzido a base de casca de Pinus sp. compostada de granulometria fina, vermiculita expandida e aditivos; c) Turfa Fértil: Substrato comercial Turfa®Fértil Mudanças Florestais (Florestal S.A.) produzido a base de turfa, casca de arroz carbonizada, calcário calcítico e aditivos; d) Usina: Substrato produzido em Usina Canavieira em Quatá, SP a partir de torta de filtro (50%), solo (25%) e moinha de carvão vegetal (25%). As características químicas de cada substrato são apresentadas na Tabela 4.

Para todos os tratamentos inoculados com FMAs e para uma testemunha não inoculada (Test1) não foi aplicada fertilização complementar aos substratos. Uma testemunha não inoculada adicional (Test2+Ad) recebeu a adubação recomendada para a produção de MPB de cana-de-açúcar (Landell et al., 2013), que constou de 3 g de sulfato de amônio, 2 g de cloreto de potássio, 2 g de termofosfato e 0,03 g de Osmocote Plus, por litro de substrato.

Tabela 5. Linhagens de fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) e dose de solo-inóculo aplicada nas parcelas experimentais (tubetes) para fornecer no mínimo 100 esporos.

Linhagem de FMA da COFMEA	Concentração de esporos (esporos/g de solo-inóculo*)	Dose aplicada por tubete (g)
A15 (CNPAB 015) <i>Acaulospora colombiana</i>	35	2,86
A96 (CNPAB 037) <i>Acaulospora morrowiae</i>	750	0,13
A44 (Inóculo 51) <i>Claroideoglobus etunicatum</i>	8	12,50
A1 (CNPAB 001) <i>Gigaspora margarita</i>	18	5,56
A80 (CNPAB 038) <i>Scutellospora calospora</i>	12	8,33

COFMEA: Coleção de Fungos Micorrízicos da Embrapa Agrobiologia; *: Todos os solo-inóculos foram obtidos utilizando *Brachiaria decumbens* como planta hospedeira dos FMAs

Tabela 6. Mistura de linhagens de fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) e dose de solo-inóculo aplicada nas parcelas experimentais (tubetes), para fornecer no mínimo 13 esporos de cada linhagem, para um total de no mínimo 100 esporos.

Linhagem de FMA da COFMEA	Concentração de esporos (esporos/g de solo-inóculo*)	Dose aplicada por vaso(g)
A15 (CNPAB 015) <i>Acaulospora colombiana</i>	35	0,37
A96 (CNPAB 037) <i>Acaulospora morrowiae</i>	750	0,02
A38 (IES-33) <i>Acaulospora scrobiculata</i>	43	0,30
A44 (Inóculo 51) <i>Claroideoglosum etunicatum</i>	8	1,63
A2 (CNPAB 002) <i>Dentiscutata heterogama</i>	27	0,48
A1 (CNPAB 001) <i>Gigaspora margarita</i>	18	0,72
A5 (CNPAB 005) <i>Rhizophagus clarus</i>	8	1,63
A80 (CNPAB 038) <i>Scutellospora calospora</i>	12	1,08
Mistura	17	6,2

COFMEA: Coleção de Fungos Micorrízicos da Embrapa Agrobiologia; *:Todos os solo-inóculos foram obtidos utilizando *Brachiaria decumbens* como planta hospedeira dos FMAs

Tabela 7. Caracterização química dos substratos utilizados nos experimentos de seleção de linhagens de FMAs para produção de mudas pré-brotadas (MPB) de cana-de-açúcar analisados como solo (S) e como tecido (T).

Substrato	Ca S --- cmol _c /dm ³ ----	Mg S ----- mg/L -----	K S ----- mg/L -----	P S ----- mg/L -----	Ca T ----- g/kg -----	Mg T ----- g/kg -----	K T ----- g/kg -----	P T ----- g/kg -----	N %
Fazendinha	5,08	5,81	3852,00	1504,53	9,68	5,29	6,64	4,47	1,08
Multiplant	11,43	2,81	303,50	289,82	15,21	7,28	0,76	0,87	0,32
Turfa Fértil	13,40	3,00	380,00	661,97	9,60	1,68	1,01	1,80	0,61
Usina	7,79	1,97	3884,00	2110,04	8,45	1,19	4,34	3,90	0,5

Análises feitas no Lab. de Química Agrícola da Embrapa Agrobiologia, Seropédica, RJ baseados nos procedimentos descritos em Nogueira & Souza (2005).

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, em esquema fatorial 8x4. O experimento foi constituído por oito tratamentos de inoculação combinados com quatro substratos com nove repetições. A inoculação das linhagens de FMAs foi feita no momento do transplante dos minirrebolos pré-brotados para os substratos. O inoculante foi aplicado na forma de solo-inóculo em quantidade suficiente para aplicar pelo menos 100 esporos por muda (Tabela 5), além de outros propágulos constituídos de fragmentos de hifas e raízes de braquiária colonizada.

As MPB produzidas neste experimento foram obtidas de minirrebolos cortados de plantas adultas (16 meses de idade) da variedade SP81-3250, seguindo a metodologia descrita por Landell et al. (2013). Os minirrebolos foram submetidos a tratamento térmico e antifúngico conforme descrito no item 3.3. Após esses tratamentos foi feita a inoculação dos minirrebolos com o inoculante turfoso de bactérias diazotróficas produzido pela Embrapa Agrobiologia para cana-de-açúcar, composto por: *Burkholderia tropica* (BR 11366) (Lote IN618), *Herbaspirillum seropedicae* (BR 11335) (Lote IN615), *Azospirillum amazonense* (BR 11145) (Lote IN619), *Gluconacetobacter diazotrophicus* (BR 11281) (Lote IN616) e *Herbaspirillum rubrisubalbicans* (BR 11504) (Lote IN617). Posteriormente os minirrebolos foram colocados para brotar e enraizar em substrato autoclavado composto de areia:vermiculita (2:1). Após 15 dias, foi feita uma seleção das mudas padronizando o tamanho daquelas a ser empregadas no experimento. As mudas selecionadas foram

transplantadas e inoculadas com os FMAS em recipientes do tipo “tubetes florestais”, com capacidade para 290 cm³ de substrato, plantando-se um minirrebolo pré-brotado por tubete (parcela experimental).

Durante a condução dos experimentos o crescimento das plantas foi avaliado periodicamente. Mediu-se a altura até a inserção da folha +1, número de folhas totalmente expandidas (com lígula visível) e com um mínimo de 20% de área verde, número de perfilhos e diâmetro do colmo na base (mm).

Como parte do sistema de produção de MPB proposto pelo Instituto Agronômico de Campinas (IAC) (Landell et al., 2013), foram realizadas duas podas foliares nas plantas. A primeira foi logo após o transplante para os tubetes e a segunda no início da fase de aclimação das mudas (20 dias após a inoculação com FMAs) quando foi retirado o sombrite da casa de vegetação.

Passados 40 dias da inoculação com FMAs e transplante das mudas para os tubetes procedeu-se a coleta dos experimento. Foram medidas então as variáveis de massa fresca da parte aérea e das raízes de forma independente. Posteriormente o material foi secado em estufa a 60°C e avaliada a massa seca.

Aproximadamente uma grama de raízes frescas finas foi retirada para avaliar a porcentagem de colonização por FMAs e por endófitos escuros septados (*Dark Septate Endophytes* – DSE). As metodologias e procedimentos foram os mesmos descritos no item 3.3.

Os dados foram tabulados checados quanto a sua normalidade e homogeneidade de variância e submetidos a análise de variância e teste de médias (Scott Knott 5%) utilizando o programa SISVAR (Ferreira, 2011)

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Levantamento da Comunidade de FMAs em Áreas de Produção (Rotacionadas ou não) e de Expansão da Lavoura de Cana-de-Açúcar

Foram identificadas 21 espécies de FMAs nos três sistemas de manejo avaliados, distribuídas em seis famílias e dez gêneros (Tabela 8). Destas espécies, nove (42,86%) mostraram um caráter generalista, estando presentes em todas as áreas. Outras nove espécies foram classificadas como especialistas, por estar presentes em apenas uma das áreas. Nesse sentido, o maior número de espécies especialistas foi verificado na área de expansão do canavial (AE), com 7 espécies. As espécies restantes (14,29%) foram consideradas intermediárias por estarem presentes em duas das três áreas estudadas. O maior valor de riqueza de espécies de FMAs foi verificado na área de expansão do canavial (AE) com 18 espécies. Seguiram neste índice ecológico as áreas de renovação com rotação (AR) e a área de renovação com monocultura de cana (AM), com 13 e 11 espécies, respectivamente. A riqueza da área de expansão (AE) aumentou depois de um ano e meio de cultivo de cana-de-açúcar (após a colheita da “cana planta”), enquanto que a riqueza na área de monocultura (AM) diminuiu e a da área rotacionada (AR) não se alterou depois do ciclo da “cana planta”.

Os resultados obtidos sugerem um possível efeito negativo do plantio prolongado de cana sobre a riqueza de espécies das comunidades de FMAs. O caráter prejudicial de monoculturas por vários anos e de algumas práticas agrícolas, como revolvimento e adubação contínua dos solos, sobre os FMAs têm sido documentado em alguns trabalhos (Oehl et al., 2003; Bennett et al., 2012). Tian et al. (2013) verificaram que a rotação soja-milho não influenciou a diversidade de FMAs, porém mudou a composição da comunidade no milho, de forma que os filotipos de FMAs presentes na monocultura eram mais ativos no metabolismo de fósforo dentro das raízes do milho. Mas, em geral, os trabalhos indicam que as monoculturas prolongadas reduzem a diversidade de FMAs (Feldmann & Boyle, 1999; Menendez et al., 2001; Jiao et al., 2011).

As áreas cultivadas há muitos anos com cana (área de rotação-AR e área de monocultura-AM) apresentavam antes da renovação do canavial diferenças marcantes de fertilidade do solo comparada a área de expansão-AE que até então era cultivada com pastagem de braquiária (Anexo A). A AE apresentava pH mais ácido, maior teor de matéria orgânica, menor teor de fósforo, cálcio e saturação por bases e maior saturação por alumínio. Segundo Xiang et al. (2014), algumas condições do ambiente edáfico em solos agrícolas, resultantes da prática de monocultura, como altas concentrações de P e alterações na estrutura do solo, atuam negativamente sobre a riqueza de espécies e densidade de esporos de FMAs. Estes mesmos autores, verificaram menor número de espécies de FMAs em áreas agrícolas, comparadas a áreas de pastagem, mostrando similitude com os resultados aqui obtidos sobre a riqueza de espécies na área de expansão (previamente ocupada por pastagem). Solos de lavouras agrícolas, de modo geral, diferem daqueles de pastagens em várias propriedades, como cobertura vegetal, características físico químicas e pressão antropogênica, principalmente associada ao preparo do solo e às aplicações de adubos químicos (Xiang et al., 2014).

Tabela 8. Frequência de ocorrência das espécies de FMAs levantadas em área de renovação do canal submetida a rotação com *Brachiaria ruziziensis* (área de rotação – AR), área de renovação do canal sem rotação (área de monocultura –AM) e área de pastagem de braquiária incorporada ao plantio de cana (área de expansão –AE), em Quatá, SP.

Família / Espécie de fungo micorrízico arbuscular (FMA)	Antes do plantio de cana			Após a colheita da “cana planta”		
	AR	AM	AE	AR	AM	AE
Diversisporaceae						
<i>Diversispora tortuosa</i> N.C. Schenck & G.S. Sm	100	100	40	100	80	20
Acaulosporaceae						
<i>Acaulospora colombiana</i> (Spain & N.C.Shenck) Kaonongbua, J.B. Morton & Bever	20	-	-	-	-	-
<i>Acaulospora foveata</i> J. M. Trappe & Janos	-	-	20	-	-	-
<i>Acaulospora laevis</i> Gerd. & Trappe	-	20	20	-	-	-
<i>Acaulospora mellea</i> Spain & N.C. Schenck	20	40	-	40	-	20
<i>Acaulospora scrobiculata</i> Trappe	80	40	60	80	80	80
<i>Acaulospora spinosa</i> C. Walker & Trappe	-	-	-	20	-	-
<i>Acaulospora tuberculata</i> Janos & Trappe	-	-	40	-	-	20
Gigasporaceae						
<i>Dentiscutata heterogama</i> (T.H. Nicolson & Gerd.) Sieverd., F.A. Souza & Oehl	20	-	-	20	60	-
<i>Racocetra fulgida</i> (Koske & C. Walker) Oehl, F.A. Souza & Sieverd	20	40	20	100	80	100
<i>Racocetra persica</i> (Koske & C. Walker) Oehl, F.A. Souza & Sieverd.	-	-	40	-	-	20
<i>Scutellospora cerradensis</i> Spain & J. Miranda	-	-	-	-	-	40
<i>Gigaspora sp.</i>	20	100	60	20	60	40
Claroideoglomeraceae						
<i>Claroideoglo mus etunicatum</i> (W.N. Becker & Gerd.) C. Walker & A. Schüßler	-	40	20	20	20	60
Glomeraceae						
<i>Glomus clavisorum</i> (Trappe) R.T. Almeida & N.C. Schenck	80	60	60	80	80	80
<i>Glomus glomerulatum</i> Sieverd.	-	-	-	-	-	40
<i>Glomus macrocarpum</i> Tul. & C. Tul	40	100	100	40	-	60
<i>Glomus microaggregatum</i> Koske, Gemma & P.D. Olexia	-	-	-	-	-	40
<i>Rhizophagus diaphanus</i> (J.B. Morton & C. Walker) C. Walker & A. Schüßler	-	-	-	-	-	20
<i>Rhizophagus fasciculatus</i> (Thaxt.) C. Walker & A. Schüßler	20	-	-	60	-	60
Ambisporaceae						
<i>Ambispora leptoticha</i> (N.C. Schenck & G.S. Sm.) C. Walker, Vestberg & A. Schüssler	40	20	40	20	20	60
Riqueza de espécies	11	10	12	12	8	16

Por outro lado, a rotação com *B. ruziziensis* não influenciou a riqueza de espécies nas áreas de renovação do canavial (monoculturas prolongadas). Esse resultado corrobora o obtido por Mathimaram et al. (2007) que avaliaram o efeito da rotação de lavouras de milho com *Crotalaria grahamiana* Wight & Arn., não detectando influência positiva desta prática de manejo sobre a comunidade de FMAs. De forma similar, Kojima et al. (2014) estudaram o efeito da rotação com plantas de diferentes níveis micotróficos em áreas de cultivo de soja. Nesse sentido, foi verificado o impacto negativo da rotação com plantas não micorrízicas sobre a comunidade de FMAs. Porém, a rotação com plantas micorrízicas não mostrou efeito sobre os FMAs. Estes mesmos autores verificaram valores superiores de riqueza de espécies de FMAs em áreas submetidas à pastagem contínua por quatro anos consecutivos sem soja.

O nível de perda de espécies e/ou das alterações nas comunidades de FMAs de um determinado ecossistema depende do distúrbio ao qual este tem sido submetido. De modo particular, fatores como intensidade, frequência, extensão espacial e duração de um distúrbio, vão determinar o nível de perturbação gerado no ambiente (Lake, 2000). Nesse sentido, as perdas de diversidade produto de distúrbios antrópicos podem ser irreversíveis, ou a recuperação muito lenta, quando reguladas por processos naturais.

No referido contexto, o efeito positivo de uma curta rotação com *Brachiaria*, entre a dessecação da soqueira e o novo plantio, pode não ser perceptível a curto prazo (um ciclo de “cana planta”; uma área), mas não deve ser descartado, podendo ser verificado o efeito da manutenção rotineira desta prática em replantios seguintes. Adicionalmente, a área estudada de rotação possui um nível de fósforo disponível de 3 a 5 vezes maior que os das outras duas áreas (Anexo A). Esse alto nível de fósforo nesta área pode ter limitado o aparecimento de muitas espécies de FMAs que não se adaptam a solos com alto nível de fósforo disponível. Segundo Kojima et al. (2014) o tipo de solo, as condições ambientais e as rotações a longo prazo, podem determinar a diversidade de FMAs em solos agrícolas.

Nas três áreas de estudo, os gêneros melhor representados foram *Acaulospora* e *Glomus* (Tabela 8). Diversos estudos realizados em ecossistemas naturais e agrícolas, no Brasil e em outras regiões do mundo, têm registrado a maior ocorrência de espécies destes dois gêneros nas comunidades de FMAs (Mello et al., 2012; Santos et al., 2014; Xiang et al., 2014; Bonfim et al., 2016). Entre os fatores que determinam este padrão destaca-se um maior número de espécies descritas nos mesmos (LBM, 2016). Conjuntamente, algumas espécies de *Acaulospora* e *Glomus* produzem esporos com capacidade de atravessar períodos de dormência, o qual aumenta a sua permanência e sobrevivência no solo. Diversos autores também têm reportado como uma vantagem das espécies destes gêneros, a produção de esporos pequenos e de rápido crescimento, com elevada capacidade de propagação (Picone, 2000; Silva et al., 2006. Medina et al., 2010).

A densidade média de esporos mostrou variações entre as três áreas, detectando-se os maiores valores na área de expansão do canavial (Figura 6). No sistema rotacionado, a densidade de esporos oscilou entre 23 e 270 esporos por cada 50 cm³ de solo. Na área de monocultura foi verificada uma oscilação entre 75 e 353 esporos/50 cm³ de solo, respectivamente. Na área de expansão, o menor valor de densidade de esporos detectado foi de 164 e o maior de 528 por cada 50cm³ de solo.

Conjuntamente dentro de cada sistema de manejo, foram verificadas diferenças nesta variável entre as épocas. Verificou-se um aumento na densidade de esporos após a colheita da “cana planta” comparado à fase previa ao plantio. A coleta de solo pré-plantio foi realizada no mês de março, enquanto a amostragem após colheita teve lugar em julho (AE) e setembro (AR e AM). Nesse sentido, o plantio da cana é realizado durante a época chuvosa da região Sudeste do país, e a colheita na época de seca que favorece o acúmulo de sacarose nos colmos. Desta forma, as diferenças detectadas entre estas épocas em relação a densidade de esporos de FMAs podem ser o resultado de variações na disponibilidade de água entre estas

e/ou de alterações no estado fisiológico das plantas de cana, e/ou ainda variação sazonal na própria esporulação de cada espécie fúngica.

A influência da época do ano, e particularmente dos períodos chuvoso e seco, sobre a esporulação de FMAs representa um tema ainda controverso na ecologia destes fungos. Enquanto alguns autores têm verificado maior esporulação durante a época seca (Bonfim, 2010; Santos et al., 2014), outros reportam o contrário ou até falta de relação entre a estação e a esporulação dos FMAs (Bonfim, 2011; Nobre, 2014). Entre os fatores que podem explicar estas variações nos estudos, destaca-se a comunidade de FMAs presente, sendo que os padrões de esporulação das espécies variam sazonal e numericamente (Nobre, 2014).

Por outro lado, alguns estudos têm registrado associações entre a esporulação de FMAs e o estágio fenológico e/ou fisiológico da planta hospedeira (Lugo et al., 2003; Bohrer et al., 2004; Liu et al., 2009). De modo geral a colheita da cana corresponde com o período seco, onde determinadas alterações ocorrem nas plantas. Entre estas pode ser mencionada a senescencia de parte do sistema radicular produto do déficit hídrico, o incremento no acúmulo de sacarose nos colmos e a proximidade da fase de floração.

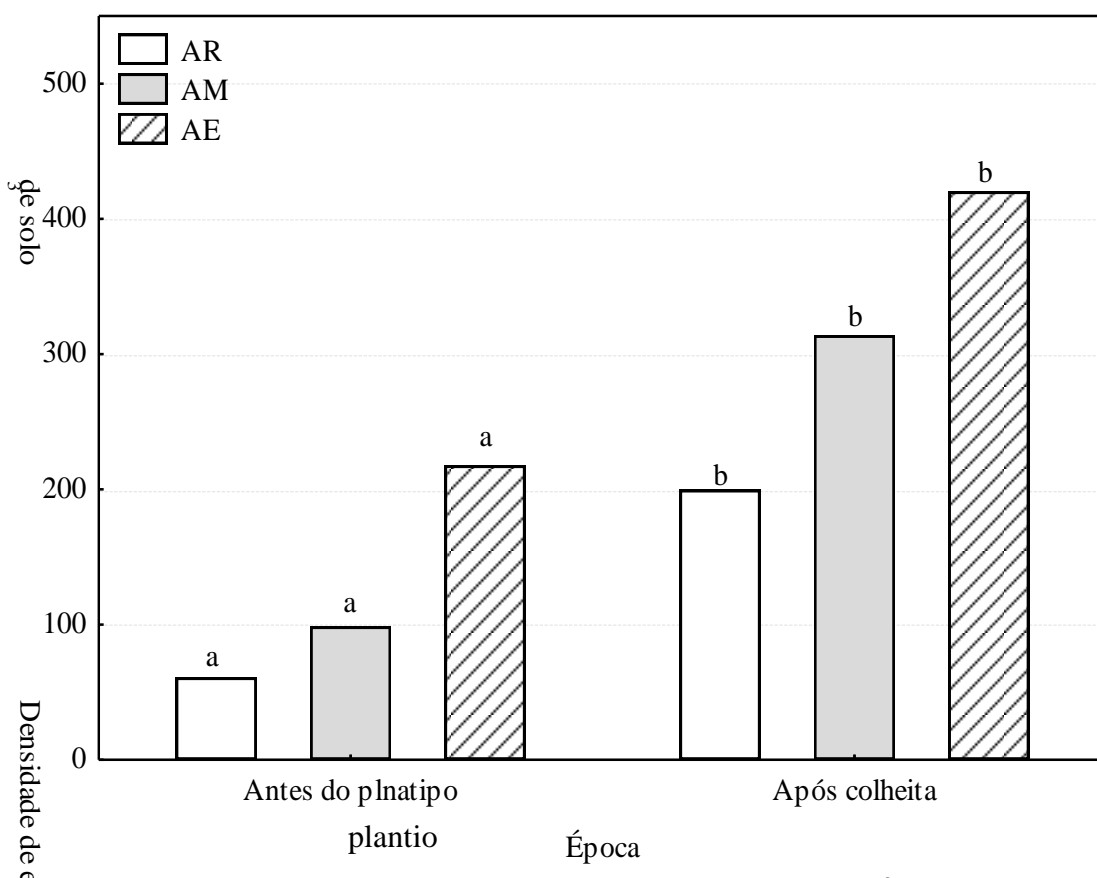


Figura 6. Valores médios de densidade de esporos de FMAs em 50 cm³ de solo em área de renovação do canavial submetida a rotação com *Brachiaria ruziziensis* (área de rotação – AR), área de renovação do canavial sem rotação (área de monocultura -AM) e área de pastagem de braquiária incorporada ao plantio de cana (área de expansão –AE), em Quatá, SP. antes do plantio e após a colheita da "cana planta". Letras nas colunas, dentro de cada área de estudo, comparam as médias pelo teste de Scott Knott 5%.

4.2 Levantamento da Comunidade de FMAs em Áreas Experimentais de Inoculação de Cana-de-Açúcar com Bactérias Fixadoras de N

Neste levantamento foram registradas um total de 36 espécies de FMAs, das quais 31 e 29 corresponderam às áreas experimentais I e II, respectivamente (Tabela 9). Apesar da área de expansão (AEI), apresentar duas espécies fúngicas a mais, comparada à área de renovação do canavial (AEII), os valores de riqueza de espécies entre ambas somente diferiram na amostragem de dezembro de 2014, quando a área de expansão apresentou 27 espécies contra 19 da área de renovação (Tabela 9). Em ambas as áreas as famílias melhor representadas foram Glomeraceae, Acaulosporaceae e Gigasporaceae. Já ao nível de gênero, *Acaulospora*, seguido por *Glomus* e *Scutellospora* foram os principais contribuintes da riqueza de espécies (Figura 7). Estes resultados são contrastantes se comparados àqueles descritos no item anterior (4.1). Porém, deve ser considerado que o esforço amostral foi muito maior nas áreas experimentais, com mais de 15 amostras sendo coletadas em área menor, ao mesmo tempo que foram realizadas avaliações da comunidade de FMAs em três épocas ao longo do ciclo da “cana planta”.

Os valores de riqueza registrados em cada uma das áreas, assim como para ambas de forma geral, podem ser considerados elevados quando comparados a outros ecossistemas agrícolas (Oehl et al., 2003). De forma particular, no Brasil, Stürmer & Siqueira (2006), ao avaliar resultados de diversidade de FMAs de vários estudos no país, constataram valores de riqueza de entre 9 e 25 espécies destes fungos associadas a sistemas agrícolas. Conjuntamente, diversos estudos têm documentado o efeito negativo do monocultivo sobre as comunidades de FMAs (Oehl et al., 2003; Bennett et al., 2012). Por manter apenas uma espécie vegetal como possível hospedeiro para estes fungos, a referida prática agrícola propicia comunidades de FMAs menos diversas (Carrenho et al., 2010).

De modo geral, uma possível explicação para os resultados aqui obtidos apresentarem alta diversidade mesmo em áreas de monoculturas, pode ser devido a diferenças de tratamentos avaliados em uma mesma área, que constava de uma combinação de duas cultivares inoculadas ou não com bactérias fixadoras de N₂ e amostradas em três diferentes épocas. Além disso, tanto a braquiária existente na AEI, quanto a monocultura de cana-de-açúcar, são gramíneas C₄, com alta eficiência fotossintética, o que favorece as comunidades de FMAs (Wang et al., 2016). As gramíneas por apresentarem sistema radicular extenso, são tidas como de elevada capacidade de se associar e manter comunidades de FMAs diversas (Miranda et al., 2010).

Por outro lado, a riqueza de espécies detectada para cada uma das áreas (29 e 31 espécies), ou em ambas em conjunto (36 espécies), corrobora a riqueza registrada por outros autores para lavouras de cana-de-açúcar. Azevedo (2008), a partir de taxonomia clássica (baseada na morfologia dos esporos) e molecular, registrou 33 espécies de FMAs em lavouras de três variedades de cana, submetidas a sistemas de colheita com ou sem queima no estado de São Paulo, Brasil. Na Índia, Datta & Kulkarni (2012) avaliaram a riqueza de espécies de FMAs em 41 plantações de cana, detectando um total de 32 espécies de FMAs identificadas a partir das características dos esporos.

Não obstante, outros estudos realizados sobre a riqueza de espécies de FMAs em lavouras de cana descrevem comunidades muito menos diversas. Reis et al. (1999) registraram 18 espécies de FMAs associadas a plantações de 14 variedades de cana nos estados de Rio de Janeiro e Pernambuco, Brasil. No Irã, Rokni & Goltapeh (2011) observaram 16 espécies de FMAs ao avaliar a comunidade micorrízica em lavouras de quatro variedades de cana. Mais recentemente, Kumalawati et al. (2014), estudaram a diversidade de FMAs em 11 plantações cultivadas com quatro variedades de cana na Indonésia, detectando apenas 11 espécies de FMAs.

Tabela 9. Espécies de FMAs levantadas nas áreas Experimentais I (AEI – Expansão do canavial) e II (AEII – Renovação canavial em área de monocultivo de cana há 18 anos) ao longo de um ciclo de “cana planta” de um ano e meio (Março de 2014 a Julho de 2015) em Quatá, SP.

Família / Espécie de FMA	AEI			AE II		
	Jun	Dez	Jul	Jun	Dez	Jul
Diversisporaceae						
<i>Diversispora tortuosa</i> N.C. Schenck & G.S. Sm	+	+	+	+	+	+
Acaulosporaceae						
<i>Acaulospora</i> sp.	-	-	+	-	-	-
<i>Acaulospora colombiana</i> (Spain & N.C.Shenck) Kaonongbua, J.B. Morton & Bever	-	+	+	+	-	-
<i>Acaulospora foveata</i> J. M. Trappe & Janos	+	+	+	+	+	+
<i>Acaulospora laevis</i> Gerd. & Trappe	+	+	+	+	+	+
<i>Acaulospora lacunosa</i> J.B. Morton	-	-	-	-	-	+
<i>Acaulospora mellea</i> Spain & N.C. Schenck	+	+	+	+	+	+
<i>Acaulospora rehmi</i> Sieverd. & S. Toro	+	+	+	+	-	-
<i>Acaulospora scrobiculata</i> Trappe	+	+	+	+	+	+
<i>Acaulospora spinosa</i> C. Walker & Trappe	+	+	-	-	-	-
<i>Acaulospora tuberculata</i> Janos & Trappe	+	+	-	+	-	+
<i>Entrophospora infrequens</i> (I.R. Hall) R.N. Ames & R.W. Schneid	-	-	-	+	-	-
Gigasporaceae						
<i>Dentiscutata heterogama</i> (T.H. Nicolson & Gerd.) Sieverd., F.A. Souza & Oehl	+	+	+	+	+	-
<i>Racocetra fulgida</i> (Koske & C. Walker) Oehl, F.A. Souza & Sieverd.	+	+	+	+	+	+
<i>Racocetra gregaria</i> (N.C. Schenck & T.H. Nicolson) Oehl, F.A. Souza & Sieverd.	-	-	-	+	-	+
<i>Racocetra persica</i> (Koske & C. Walker) Oehl, F.A. Souza & Sieverd.	+	+	+	+	+	+
<i>Scutellospora</i> sp.	+	-	-	-	-	+
<i>Scutellospora calospora</i> (T.H. Nicolson & Gerd.) C. Walker & F.E. Sanders	+	+	+	+	-	-
<i>Scutellospora cerradensis</i> Spain & J. Miranda	+	+	+	+	+	+
<i>Scutellospora scutata</i> C. Walker & Dieder	-	-	+	-	+	+
<i>Gigaspora</i> sp.	+	+	+	+	+	+
Claroideoglomeraceae						
<i>Claroideoglomerum etunicatum</i> (W.N. Becker & Gerd.) C. Walker & A. Schüßler	+	+	+	+	+	+
Glomeraceae						
<i>Funneliformis geosporum</i> (T.H. Nicolson & Gerd.) C. Walker & A. Schüßler	+	+	+	+	+	+
<i>Funneliformis verruculosum</i> (Blaszcz.) C. Walker & A. Schüßler	-	+	-	-	-	-
<i>Glomus</i> sp. ornamentado	-	-	-	+	-	+
<i>Glomus clavisorum</i> (Trappe) R.T. Almeida & N.C. Schenck	+	+	+	+	+	+
<i>Glomus formosanum</i> C.G. Wu & Z.C. Chen	+	+	+	-	-	-
<i>Glomus glomerulatum</i> Sieverd.	+	+	+	+	+	-
<i>Glomus macrocarpum</i> Tul. & C. Tul	+	+	+	+	+	+
<i>Glomus microaggregatum</i> Koske, Gemma & P.D. Olexia	+	+	+	+	+	+
<i>Glomus pachycaule</i> (C.G. Wu & Z.C. Chen) Sieverd. & Oehl	-	-	-	-	-	+
<i>Glomus rubiforme</i> (Gerd. & Trappe) R.T. Almeida & N.C. Schenck	-	-	+	-	-	-
<i>Rhizophagus diaphanus</i> (J.B. Morton & C. Walker) C. Walker & A. Schüßler	+	+	-	-	-	-
<i>Rhizophagus fasciculatus</i> (Thaxt.) C. Walker & A. Schüßler	+	+	+	+	+	+
Ambisporaceae						
<i>Ambispora leptoticha</i> (N.C. Schenck & G.S. Sm.) C. Walker, Vestberg & A. Schüssler	+	+	+	+	+	+
Archaeosporaceae						
<i>Archaeospora trappei</i> (R.N. Ames & Linderman) J.B. Morton & D. Redecker	-	+	-	-	-	-
Total de espécies	25	27	25	25	19	23

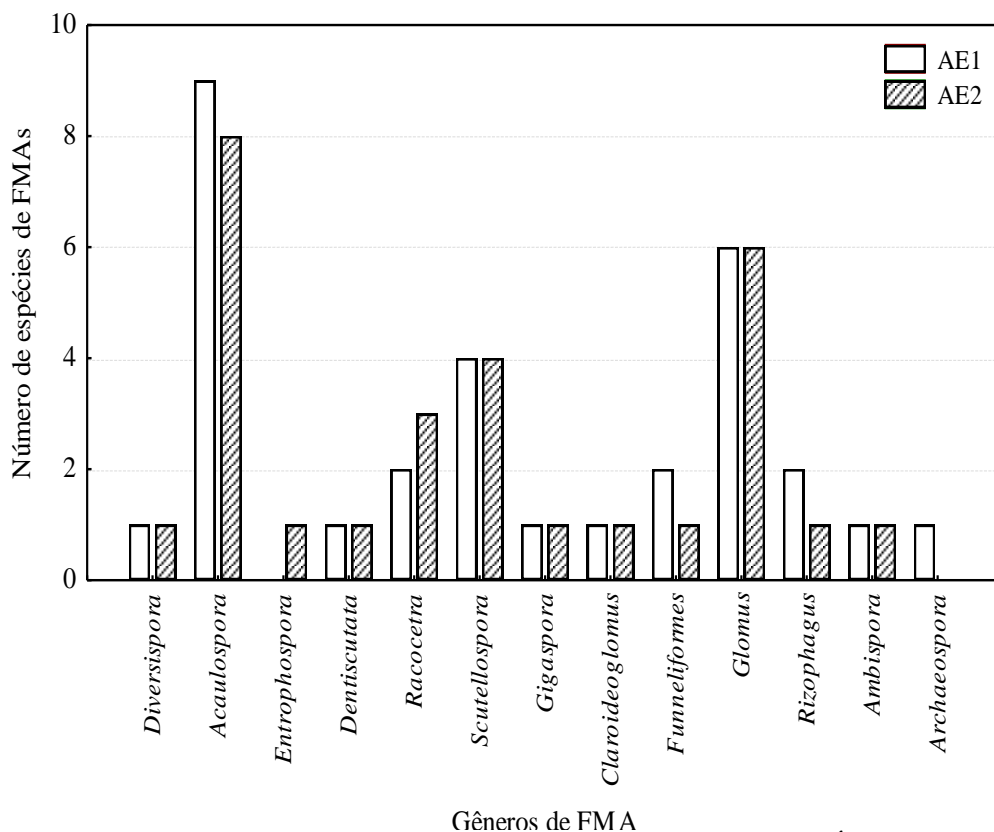


Figura 7. Riqueza total de espécies por gênero de FMAs registrada nas Áreas Experimentais I (AEI - Expansão do Canavial) e II (AEII - Renovação do canavial) baseada em amostragens realizadas em junho/2014, dezembro/2014 e julho/2015.

Estas variações detectadas na riqueza de espécies de FMAs em lavouras de cana ao comparar as áreas estudadas na presente pesquisa com as reportadas na literatura, podem estar relacionadas às condições particulares de cada plantação. Entre os fatores com capacidade de interferir nas comunidades de FMAs destacam-se as características físicas, químicas e biológicas do solo, o sistema de manejo, os tratamentos culturais, o clima, espécie e/ou variedade do hospedeiro vegetal, o histórico das áreas, entre outros (Carrenho et al., 2010; Xiang et al., 2014). Adicionalmente, elementos relativos ao esforço e época de amostragem, experiência do avaliador e equipamento disponível para extração e identificação destes fungos podem fazer com que a riqueza de espécies seja subestimada.

Embora existam diferenças nos valores de riqueza de espécies de FMAs entre levantamentos realizados em lavouras de cana, em todos os casos registrou-se ocorrência destes microrganismos. Desta forma, observa-se uma elevada persistência destes fungos em áreas canavieiras, apesar da aplicação contínua e acumulativa de P nestes solos, situação que também foi destacada por Kelly et al. (2005) na Austrália.

Das espécies aqui identificadas, 23 estiveram presentes em ambas áreas de estudo, mostrando um caráter generalista (Tabela 9). Por outro lado, *Acaulospora* sp., *A. spinosa*, *F. verruculosum*, *G. formosanum*, *G. rubiforme*, *R. diaphanus* e *Ar. trappei* foram exclusivas da área de expansão do canavial (AEI), sendo consideradas especialistas para esta área. De forma similar, *A. lacunosa*, *A. tuberculata*, *E. infrequens*, *R. gregaria*, *Glomus* sp. ornamentado e *G. pachycaule* representaram espécies únicas (especialistas) da área de renovação do canavial (AEII).

A Tabela 10 mostra os valores calculados de frequência de ocorrência relativa (F_i) e nível de dominância (ND) das espécies de FMAs registradas em ambas áreas de estudo. Na AEI foram identificadas 12 espécies raras, oito comuns, cinco muito comuns e seis

dominantes. No caso da AEII, 15 espécies foram classificadas como raras, dois como comuns, cinco como muito comuns e sete como dominantes. Desta forma, em ambas áreas o número de espécies raras foi elevado, comparado aos outros níveis de dominância, representando 38,7 e 51,72% do total de espécies de FMAs registradas nas áreas experimentais I e II, respectivamente.

As espécies com valores de frequência de ocorrência relativa (F_i) superiores a 50% e conseqüentemente classificadas como dominantes foram para a AEI, em ordem decrescente: *G. macrocarpum*, *A. scrobiculata*, *A. mellea*, *Gigaspora sp.*, *Am. leptoticha* e *R. fulgida*. No caso da AEII, as espécies que corresponderam a essa categoria foram: *A. scrobiculata*, *Am. leptoticha*, *D. tortuosa*, *G. macrocarpum*, *A. foveata*, *A. mellea* e *Gigaspora sp.*; apresentando cinco espécies em comum com a AEI (Tabela 11) (Figura 8). Nesse sentido, as espécies dominantes, representaram 19,4 e 24,1% do total de espécies identificadas nas áreas experimentais I e II, respectivamente.

O alto número de espécies raras e dominantes, comparado ao baixo número de espécies comuns, particularmente na AEII, pode ser o resultado da monocultura. Um ambiente mais diverso em termos de riqueza de espécies vegetais, favorece a equitabilidade das espécies de FMAs. Nesse sentido, os resultados obtidos apóiam as evidências relacionadas ao efeito negativo do monocultivo em longo prazo sobre a diversidade de FMAs (Carrenho *et al.*, 2010), efeito particularmente verificado na amostragem de dezembro de 2014, quando a cana apresentava 9 meses de idade. Segundo Carrenho *et al.* (2010), a monocultura seleciona determinadas espécies desses fungos, reduzindo assim a equitabilidade nas comunidades. Por tal motivo, as comunidades de FMAs sob monocultura, em geral, correspondem a espécies fúngicas autóctones que apresentam alta capacidade de esporular e com frequência baixa eficiência simbiótica (Johnson & Pflieger, 1992; Carrenho *et al.*, 2010).

A Figura 9 apresenta a variação temporal da densidade de esporos de FMAs no solo ao longo do período de estudo. Em ambas áreas esta variável mostrou uma tendência ao incremento ao longo do ciclo da “cana planta”, o que foi mais evidente na AEI. Nesta última, o número de esporos oscilou entre 83 e 1149 esporos por cada 50 cm³ de solo. Em junho de 2014, com a cana de três meses a densidade média de esporos nesta área foi de 214 em 50 cm³ de solo. Já em dezembro de 2014 (cana de nove meses) foram detectados em média 156 esporos em 50 cm³ de solo. Finalmente, em julho de 2015 (momento de coleta da cana de ano e meio), a densidade média de esporos aumentou notavelmente (618 esporos em 50 cm³ de solo) chegando a triplicar o valor registrado no início do ciclo, e sendo significativamente diferente das duas avaliações prévias.

Na área de renovação do canavial (AE II) a densidade de esporos, entre junho de 2014 e julho de 2015, mostrou valores mínimos e máximos de 78 e 648 esporos por cada 50 cm³ de solo, respectivamente. Em relação aos valores médios desta variável, os mesmos foram de 144 (junho, 2014), 266 (dezembro, 2014) e 427 esporos por cada 50 cm³ de solo.

Os incrementos na densidade de esporos na fase final do ciclo da cultura (maturação - colheita) podem estar associados à fenologia e/ou fisiologia vegetal da cana. Entre os fatores que podem ter influenciado a esporulação, destaca-se a senescência de parte do sistema radicular nesta época. Os últimos meses de canavial correspondem ao período de estiagem e baixas temperaturas. Nesta fase há paralisação do crescimento vegetal, e em sintonia com a redução do potencial hídrico do solo, inicia-se a morte de grande parte das raízes. As primeiras porções do sistema radicular a morrer são os pelos radiculares, as extremidades a partir da coifa e as partes mais tenras (Vasconcelos & Casagrande, 2010), que a sua vez são as mais susceptíveis à colonização micorrízica. Conjuntamente, nesta fase tem lugar uma redução no fluxo de metabólitos da parte aérea para a raiz, o qual favorece o acúmulo de sacarose nos colmos, mas pode resultar prejudicial para os FMAs.

Tabela 10. Frequência relativa (F_i) (%) e nível de dominância (ND) das espécies de FMAs registradas nas Áreas Experimentais I (Expansão do canavial) e II (Renovação canavial em área de monocultivo de cana há 18 anos) ao longo de um ciclo de “cana planta” de um ano e meio (Março de 2014 a Julho de 2015) em Quatá, SP.

Espécies de FMAs	Área Experimental I		Área Experimental II	
	F_i (%)	ND	F_i (%)	ND
<i>D. tortuosa</i>	42	MC	56	D
<i>Acaulospora</i> sp.	3	R	-	-
<i>A. colombiana</i>	7	R	2	R
<i>A. foveata</i>	22	C	52	D
<i>A. laevis</i>	25	C	42	MC
<i>A. lacunosa</i>	-	-	4	R
<i>A. mellea</i>	78	D	52	D
<i>A. rehmi</i>	7	R	2	R
<i>A. scrobiculata</i>	88	D	92	D
<i>A. spinosa</i>	3	R	-	-
<i>A. tuberculata</i>	8	R	4	R
<i>E. infrequens</i>	-	-	2	R
<i>D. heterogama</i>	38	MC	8	R
<i>R. fulgida</i>	52	D	38	MC
<i>R. gregaria</i>	-	-	4	R
<i>R. persica</i>	18	C	10	R
<i>Scutellospora</i> sp.	2	R	4	R
<i>S. calospora</i>	17	C	2	R
<i>S. cerradensis</i>	13	C	13	C
<i>S. scutata</i>	2	R	6	R
<i>Gigaspora</i> sp.	70	D	52	D
<i>C. etunicatum</i>	18	C	40	MC
<i>F. geosporum</i>	10	R	23	C
<i>F. verruculosum</i>	2	R	-	-
<i>Glomus</i> sp. ornamentado	-	-	4	R
<i>Gl. clavispurum</i>	30	MC	46	MC
<i>Gl. formosanum</i>	12	C	-	-
<i>Gl. glomerulatum</i>	35	MC	6	R
<i>Gl. macrocarpum</i>	97	D	56	D
<i>Gl. microaggregatum</i>	48	MC	33	MC
<i>Gl. pachycaule</i>	-	-	2	R
<i>Gl. rubiforme</i>	2	R	-	-
<i>R. diaphanus</i>	3	R	-	-
<i>R. fasciculatus</i>	18	C	10	R
<i>Am. leptoticha</i>	60	D	71	D
<i>Ar. trappei</i>	5	R	-	-

D = dominante; MC = muito comum; C = comum e R = rara.

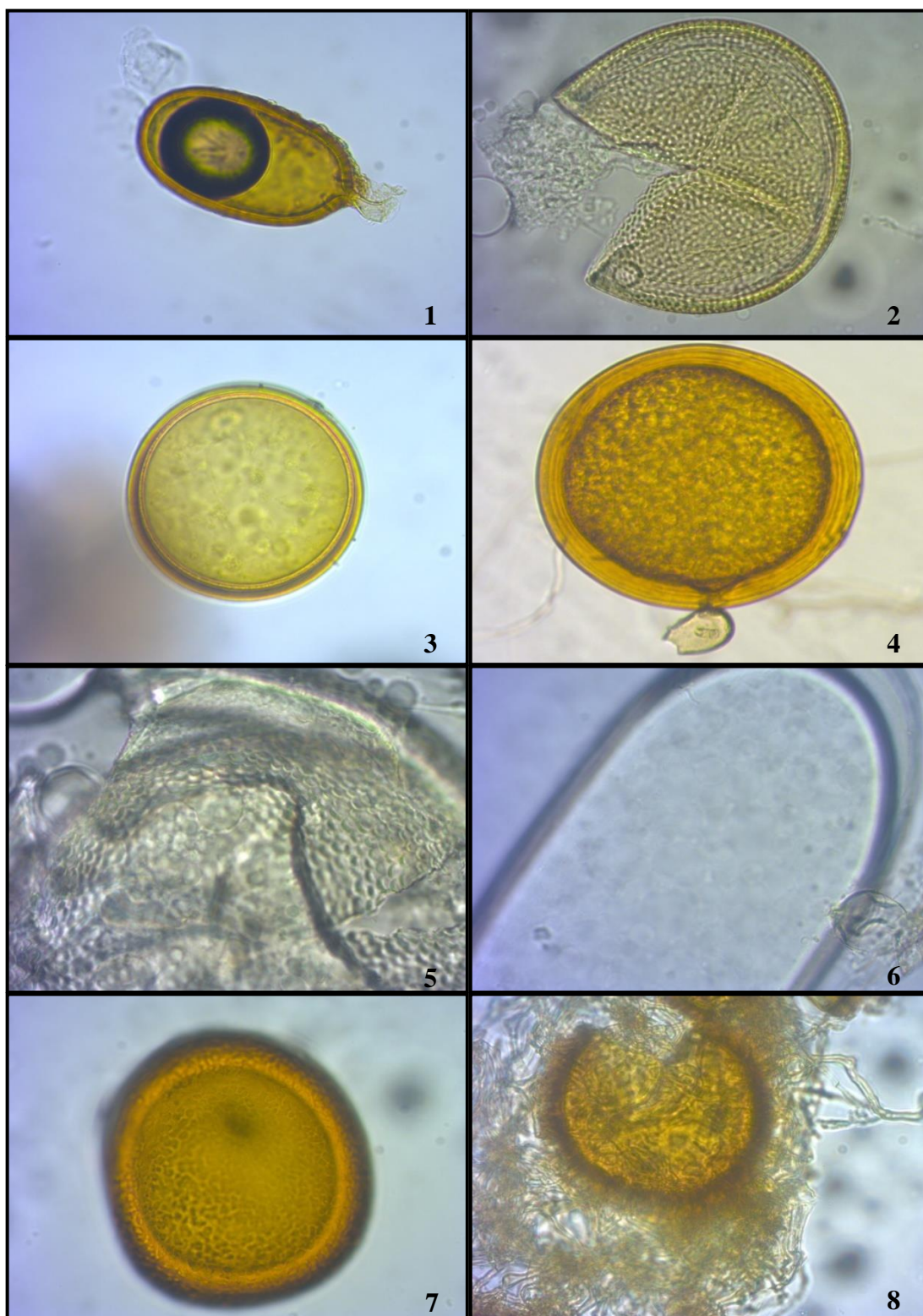


Figura 8. Esporos das espécies classificadas como dominantes ($F_i > 50\%$) para as Áreas Experimentais I (Expansão do canavial) e II (Renovação canavial em área de monocultivo de cana há 18 anos) ao longo de um ciclo de “cana planta” de um ano e meio (Março de 2014 a Julho de 2015) em Quatá, SP1: *G. macrocarpum*; 2: *A. scrobiculata*; 3: *A. mellea*; 4: *Gigaspora* sp.; 5: *Am. leptoticha*; 6: *R. fulgida*; 7: *A. foveata*; 8: *D. tortuosa*.

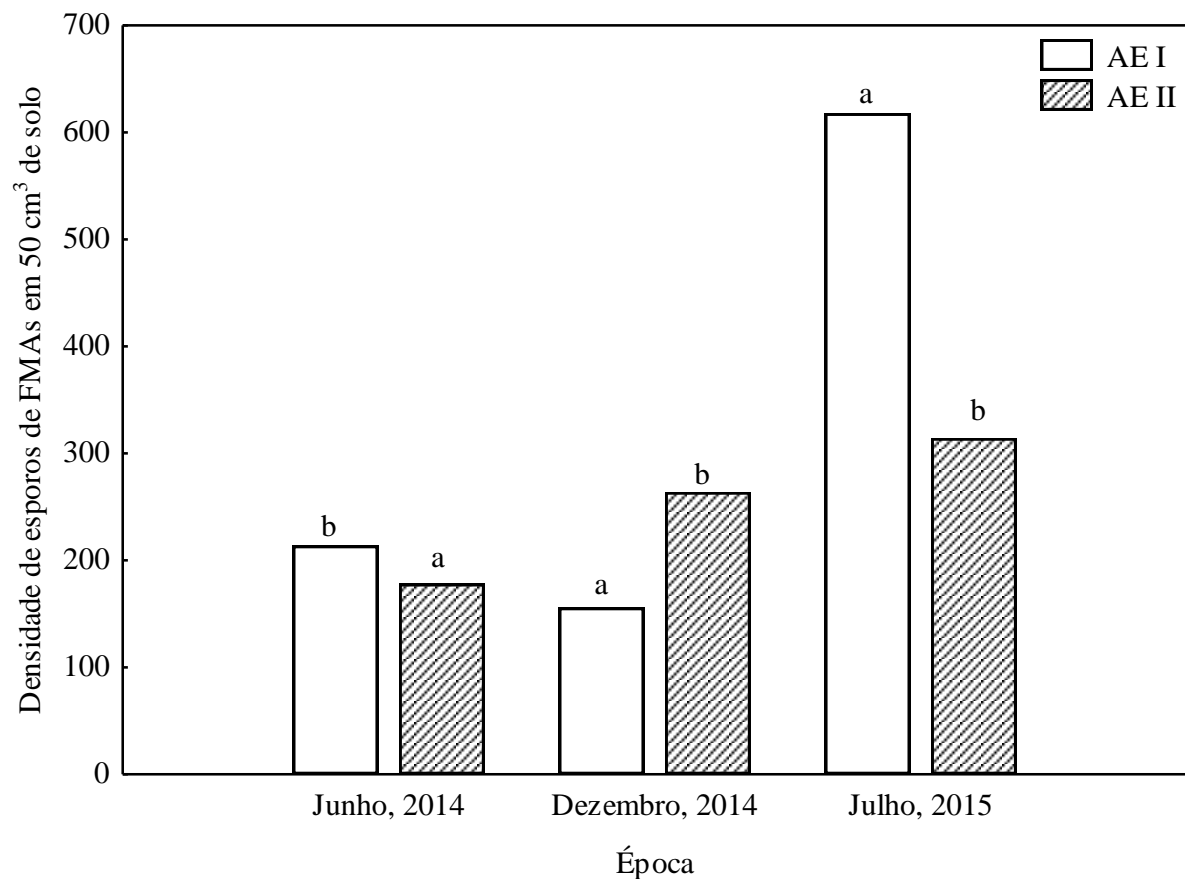


Figura 9. Valores médios de densidade de esporos de FMAs em 50 cm³ de solo nos meses de junho e dezembro de 2014 e julho de 2015 nas áreas Experimentais I (Expansão do canavial) e II (Renovação canavial em área de monocultivo de cana há 18 anos) em Quatá, SP. Letras nas colunas, dentro de cada área de estudo, comparam as médias pelo teste de Scott Knott 5%.

De forma particular, o corte realizado no meio da safra (junho-agosto), como foi o caso das áreas aqui estudadas (julho), tem lugar no período mais seco. Nesse caso as plantas começam sofrer os efeitos da baixa disponibilidade de água por dias ou até meses antes da retirada dos colmos (Vasconcelos & Casagrande, 2010). Nesse sentido, o efeito conjunto da senescência radicular, a paralisação do desenvolvimento da parte aérea e a consequente diminuição no fluxo de carbono para a raiz, podem representar aspectos desfavoráveis para a simbiose micorrízica. Em tal caso, incrementos na esporulação constituem mecanismos de sobrevivência destes fungos.

O número de esporos de FMAs no solo foi significativamente maior na AEI, ao ser comparada com a AEII em julho, 2015. Este resultado pode estar associado aos maiores teores de nutrientes, especialmente de P, na área de renovação do canavial (AEII) em relação à área de expansão (AEI) (Tabela 2). Esta correlação negativa entre a esporulação dos FMAs e a disponibilidade de P no solo tem sido registrada por outros autores para várias culturas agrícolas (Liu et al., 2009; Xiang et al., 2014), incluída a cana-de-açúcar (Datta & Kulkarni, 2012).

4.3 Seleção de Espécies FMAs para Inoculação de Cana-de-Açúcar em Diferentes Solos

No experimento realizado em casa de vegetação para selecionar linhagens de FMAs para inoculação de cana-de-açúcar em diferentes solos, a maioria das variáveis estudadas não apresentaram interação significativa entre os fatores solo e inoculação. Os diferentes solos apresentaram acentuado efeito na maioria das variáveis analisadas. Já a inoculação de diferentes linhagens de FMAs apresentou efeito no início da condução do experimento, mas diminuiu o efeito ao final da condução.

A altura das plantas foi influenciada pelo tipo de solo em todas as avaliações realizadas entre os 13 e 120 dias após o plantio (Anexo B). Isto pode ser bem observado na Tabela 11, que apresenta a comparação dos diferentes solos pelo teste de Scott Knott 5%. Verifica-se que o Argissolo da Área do Experimento I (PV1) promoveu maior altura das canas, particularmente após 60 dias do plantio, seguido do Planossolo coletado no campo experimental "Terraço" (PLt) e depois pelo Argissolo da Área do Experimento II (PV2). O Argissolo Vermelho (PV3) de Itumirim, MG foi o solo que promoveu a menor altura das plantas na maioria das épocas de avaliação.

Tabela 11. Altura, em centímetros, de mudas de cana-de-açúcar cultivadas em diferentes solos em avaliações periódicas após o plantio. Efeito principal de solo.

Solos	Tempo após o plantio (dias)					
	13	33	61	80	105	120
PV1	101 a	174 a	216 a	292 a	399 a	431 a
PV2	98 a	177 a	187 c	244 b	341 c	379 c
PV3	73 b	97 c	117 d	147 c	167 d	174 d
PLt	77 b	153 b	199 b	253 b	368 b	409 b

PV1: Argissolo da Área do Experimento I; **PV2:** Argissolo da Área do Experimento II; **PV3:** Argissolo Vermelho de Itumirim, MG; **PLt:** Planossolo do campo experimental "Terraço". Letras nas colunas, dentro de cada solo, comparam as médias pelo teste de Scott Knott 5%.

As diferenças nas características químicas e biológicas entre os quatro tipos de solo certamente foram marcantes sobre o desenvolvimento das plantas. Do ponto de vista químico (Tabela 4), os solos diferiam particularmente no teor de fósforo disponível e de cálcio e magnésio trocáveis, porém os teores desses últimos foram uniformizados entre os solos pelos diferentes níveis de calagem, restando apenas a diferença no teor de P, e na sua capacidade de fixar esse nutriente. Porém, as maiores alturas de plantas foram verificadas no PV1 (Tabela 11), sendo que esse solo possuía um teor de P intermediário entre o PLt e PV2. É possível que no PV1 a simbiose micorrízica conseguiu ser mais eficiente tornando a produtividade maior que no solo com maior nível de P disponível (PV2). Igualmente, pode ter favorecido o crescimento das plantas cultivadas no PLt, uma vez que nesse solo as canas apresentaram alturas iguais ou até maiores do que aquelas plantadas no solo da AEII, que possuía três vezes mais P disponível que o PLt.

O fósforo é nutriente essencial para o desenvolvimento vegetal e ao mesmo tempo regulador da resposta micorrízica das plantas (Saggin Junior & Siqueira, 1995), de forma que pode ter influenciado os resultados obtidos. Estudos têm reportado que a simbiose micorrízica arbuscular é prejudicada por valores extremos de P (mínimos e máximos) (Saggin Junior et al., 1994; Rocha et al., 2006; Kiriachek et al., 2009). Nesse sentido o PV2 pode ter apresentado concentrações muito elevadas deste nutriente. Ao mesmo tempo, o teor de P no PV3 pode ter sido muito baixo, chegando a não ser favorável para o desenvolvimento das plantas e/ou da micorriza arbuscular. Concentrações muito baixas de P no solo podem fazer

com que a simbiose micorrízica seja insustentável pela planta, o qual também foi observado por Kelly et al. (2005) para a própria cana-de-açúcar. Estes resultados igualmente, podem estar indicando que em alguns casos a adubação pode ser excessiva e/ou desnecessária para as plantas, como seria o caso do PV2. Porém, alguns solos, como o PV3, podem precisar de uma adubação que esteja totalmente em correspondência com o recomendado na literatura, sendo que diminuições na aplicação de adubos fosfáticos, como foi realizado no presente estudo, podem atuar em detrimento do desenvolvimento das plantas de cana.

Por outro lado, um estudo recente realizado por Köhl et al. (2016) mostra como a disponibilidade de nutrientes de um solo, e de P de modo particular, não representa em todos os casos o melhor indicador do sucesso da inoculação com FMAs. Os autores sugerem que outros fatores como potencial de inóculo e composição da comunidade FMAs nativa do solo, podem ter maior influência sobre o efeito da inoculação. Essa influência certamente ocorreu no presente experimento, pois os solos utilizados não foram autoclavados, sofrendo apenas um processo de redução da comunidade nativa por formaldeído diluído e solarização.

Os tratamentos de inoculação influenciaram significativamente a altura das plantas apenas nas três primeiras medições (13, 33 e 61 dias após o plantio) (Anexo B). Isso indica que o efeito positivo da inoculação de mudas de cana-de-açúcar com FMAs é rápido após a inoculação, possivelmente pelo acelerado crescimento que essa planta possui. Certamente esse efeito deve persistir por um tempo superior aos 61 dias. Entretanto, devido ao acelerado crescimento da cana, particularmente das raízes que tomaram abundantemente o espaço dos vasos (Figura 10), possivelmente houve um equilíbrio no crescimento das plantas entre os tratamentos a partir dos 80 dias. Futuros estudos de inoculação de cana-de-açúcar devem ser reduzidos quanto ao tempo de condução, ou ampliado o tamanho dos vasos para no mínimo o dobro do volume utilizado aqui.

A interação dos fatores solo x inoculação foi significativa para altura das plantas nas avaliações feitas aos 80 e 105 dias após o plantio (Anexo B). Desta forma, o efeito da inoculação sobre a altura das plantas neste período experimental foi diferenciado em cada solo. Resultados similares foram obtidos por Köhl et al. (2016) ao avaliar o efeito da inoculação de duas espécies vegetais com *Rhizoglyphus irregularis* em oito tipos de solo.

Na Tabela 12 pode ser observado o efeito principal da inoculação sobre a altura das plantas, assim como o efeito do desdobramento dentro de cada solo. O efeito principal da inoculação sobre a altura até 61 dias após o plantio mostra que a inoculação com as linhagens *A. colombiana*, *C. etunicatum* e *Gi. margarita* se destacam nas duas primeiras medições e que na terceira medição apenas as linhagens *A. morrowiae*, *A. scrobiculata* e *D. heterogama* não foram superiores à testemunha não inoculada. Aos 80 e 105 dias os efeitos da inoculação foram diferenciados por solo. No solo de maior nível de P (PV2) e no de menor nível de P (PV3) já não havia diferença entre os tratamentos de inoculação. Já no PLt, as diferenças entre os tratamentos de inoculação foram detectáveis apenas aos 61, 80 e 105 dias após o plantio. Isso pode estar vinculado ao crescimento mais lento nesse solo, em relação ao PV1 e ao PV2. Os tratamentos de inoculação que promoveram maior altura no PLt foram *A. colombiana*, *A. scrobiculata*, *C. etunicatum*, *Gi. margarita* e *R. clarus*, além de *E. contigua* (em duas das medições) e *S. calospora* (em uma das medições). Aos 120 dias após o plantio, não se observou efeito da inoculação sobre a altura das plantas em nenhum dos solos, sugerindo forte uniformização do crescimento das plantas pelo tamanho dos vasos.

O perfilhamento também mostrou variações associadas ao tratamento de inoculação. As mesmas estiveram restritas apenas às medições realizadas aos 61 e 80 dias após o plantio, sendo que aos 80 dias houve interação do efeito da inoculação com o solo (Anexo C). De modo geral as linhagens de FMAs que promoveram o perfilhamento foram *A. colombiana*, *A. scrobiculata*, *C. etunicatum* e *R. clarus* (Tabela 14). Ao desdobrar o efeito da inoculação em cada solo verifica-se que *A. colombiana*, *A. scrobiculata* e *R. clarus* estimularam a formação

de perfilhos no PV1 e no PLt. Ao mesmo tempo, *D. heterogama* só teve efeito sobre o perfilhamento no PV1 e *C. etunicatum*, *E. contigua* e *S. calospora* no PLt.

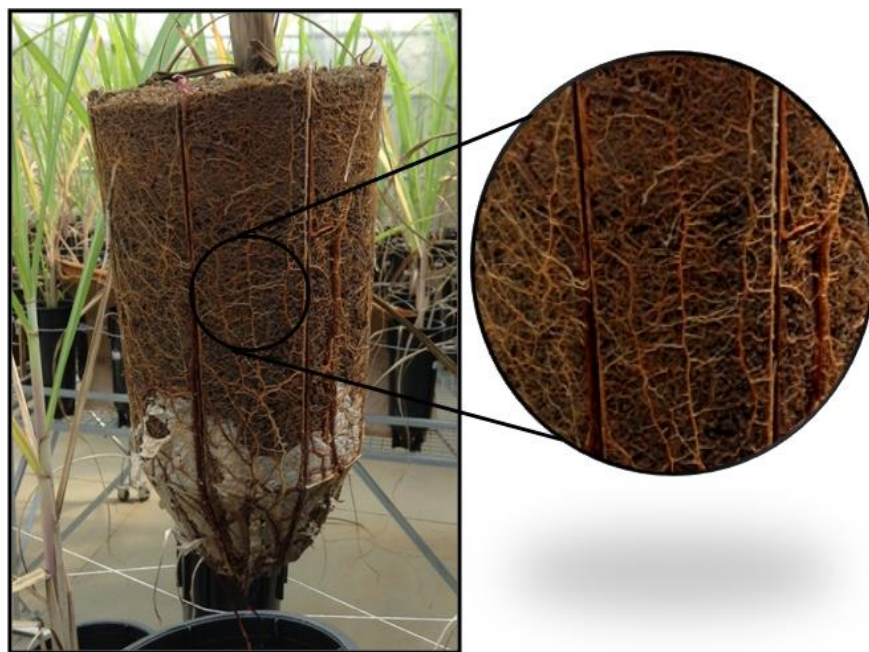


Figura 10. Sistema radicular de mudas de cana-de-açúcar tomando completamente o volume de solo utilizado nos tubetes para citros, aos 120 dias após o plantio.

A área foliar das plantas também foi analisada somente a partir dos 61 dias. A partir desta época somente observou-se efeito dos diferentes solos, não havendo mais efeito da inoculação, exceto aos 61 dias que ainda houve efeito da interação inoculação x solo (Anexo C). As maiores áreas foliares foram verificadas nas plantas do PV1, seguido pelas do PV2 e PLt. As menores áreas foliares ocorreram nas plantas do PV3 (Tabela 14), corroborando os resultados verificados para altura do colmo. Quanto ao efeito da inoculação, somente a interação inoculação x solo foi significativa aos 61 dias, onde se verificou que no PV1, as plantas inoculadas com *R. clarus* e *S. calospora* apresentavam maior área foliar. As plantas inoculadas com *A. colombiana*, *C. etunicatum*, *E. contigua* e *Gi. margarita*, apresentavam áreas foliares intermediárias e não distintas da testemunha não inoculada, e as plantas inoculadas com *A. morrowiae*, *A. scrobiculata* e *D. heterogama* apresentavam a menor área foliar, não distintas da testemunha não inoculada com adubação completa (Tabela 14). Apesar da análise de variância não indicar efeito significativo da inoculação nas épocas posteriores, o teste de médias de Scott Knott (5%) apontou algumas diferenças da inoculação dentro de cada solo aos 80 e 105 dias (Anexo C e Tabela 14). Aos 120 dias não se observou definitivamente efeito dos tratamentos de inoculação sobre a área foliar.

A área foliar apresentou em várias épocas efeito significativo do bloco na análise de variância (Anexo C). Isto indica a correta escolha do delineamento blocos ao acaso para conduzir este experimento. Esse efeito sugere que a casa de vegetação utilizada não apresenta condições homogêneas, sendo que as variações provavelmente estejam associadas à luminosidade e umidade.

As medidas da folha +1 (largura e comprimento) ao longo do tempo de condução dos experimentos mostraram um elevado efeito do tipo de solo (Anexo D). Como pode ser observado na Tabela 15, o efeito claramente distinguiu o PV1 como o que promoveu maior crescimento da folha +1, seguido pelo PV2 e o PLt, sendo o PV3 o que produziu menores folhas +1.

Tabela 12. Altura, em centímetros, de mudas de cana-de-açúcar inoculadas com diferentes fungos micorrízicos arbusculares em avaliações periódicas após o plantio. Efeito principal da inoculação e desdobramento dentro de cada solo.

Tratamentos de inoculação	Tempo após o plantio (dias)					
	13	33	61	80	105	120
Efeito principal da inoculação						
ACOL	95 a	162 a	189 a	235 a	329 a	354 a
AMOR	77 b	143 b	173 b	223 a	310 a	344 a
ASCR	81 b	142 b	172 b	230 a	321 a	349 a
CETU	102 a	163 a	187 a	246 a	322 a	348 a
DHET	85 b	143 b	172 b	230 a	308 a	331 a
ECON	86 b	151 b	181 a	239 a	322 a	352 a
GMAR	91 a	159 a	185 a	244 a	324 a	345 a
RCLA	86 b	148 b	182 a	233 a	311 a	336 a
SCAL	86 b	151 b	190 a	242 a	315 a	361 a
TEST1	83 b	141 b	165 b	220 a	309 a	344 a
TEST2+Ad	85 b	150 b	179 a	233 a	336 a	366 a
Desdobramento da inoculação dentro do Argissolo do experimento I						
ACOL	105 b	172 a	211 a	251 b	375 a	408 a
AMOR	79 b	150 a	212 a	280 b	406 a	438 a
ASCR	93 b	169 a	209 a	284 b	388 a	419 a
CETU	130 a	192 a	213 a	308 a	377 a	413 a
DHET	94 b	164 a	216 a	276 b	380 a	413 a
ECON	104 b	180 a	226 a	303 a	398 a	429 a
GMAR	101 b	175 a	219 a	299 a	406 a	426 a
RCLA	100 b	179 a	219 a	291 b	386 a	413 a
SCAL	105 b	183 a	233 a	317 a	406 a	453 a
TEST1	97 b	169 a	205 a	314 a	428 a	461 a
TEST2+Ad	97 b	177 a	210 a	285 b	434 a	464 a
Desdobramento da inoculação dentro do Argissolo do experimento II						
ACOL	114 a	197 a	207 a	254 a	345 a	370 a
AMOR	98 b	183 a	190 a	231 a	334 a	385 a
ASCR	89 b	165 b	179 a	236 a	342 a	377 a
CETU	117 a	199 a	193 a	251 a	341 a	381 a
DHET	91 b	167 b	168 a	243 a	322 a	339 a
ECON	88 b	163 b	184 a	245 a	353 a	396 a
GMAR	106 a	190 a	202 a	260 a	351 a	377 a
RCLA	91 b	168 b	181 a	224 a	309 a	345 a
SCAL	94 b	179 b	186 a	249 a	326 a	360 a
TEST1	91 b	169 b	177 a	242 a	359 a	409 a
TEST2+Ad	93 b	172 b	192 a	247 a	375 a	434 a
Desdobramento da inoculação dentro do Argissolo Vermelho Escuro						
ACOL	74 a	108 a	128 a	163 a	188 a	198 a
AMOR	63 a	89 b	107 b	135 a	157 a	162 a
ASCR	66 a	79 b	92 b	135 a	171 a	181 a
CETU	77 a	108 a	127 a	157 a	181 a	167 a
DHET	74 a	88 b	111 b	160 a	185 a	197 a
ECON	84 a	112 a	124 a	149 a	154 a	162 a
GMAR	75 a	106 a	120 a	144 a	159 a	162 a
RCLA	80 a	89 b	113 b	144 a	157 a	167 a
SCAL	73 a	100 a	141 a	162 a	183 a	192 a
TEST1	63 a	88 b	92 b	111 a	127 a	140 a
TEST2+Ad	74 a	101 a	130 a	155 a	176 a	187 a
Desdobramento da inoculação dentro do Planossolo do Terraço						
ACOL	85 a	170 a	212 a	271 a	408 a	440 a
AMOR	68 a	152 a	182 b	244 b	344 b	390 a
ASCR	74 a	154 a	210 a	264 a	383 a	421 a
CETU	84 a	153 a	217 a	268 a	388 a	431 a
DHET	80 a	151 a	191 b	240 b	347 b	376 a
ECON	68 a	150 a	190 b	257 a	382 a	422 a
GMAR	83 a	165 a	200 a	272 a	382 a	414 a
RCLA	73 a	157 a	215 a	272 a	391 a	418 a
SCAL	71 a	141 a	201 a	241 b	343 b	440 a
TEST1	81 a	137 a	186 b	213 b	321 b	365 a
TEST2+Ad	75 a	150 a	184 b	244 b	359 b	379 a

ACOL: *A. colombiana*; AMOR: *A. morrowiae*; ASCR: *A. scrobiculata*; CETU: *C. etunicatum*; DHET: *D. heterogama*; ECON: *E. contigua*; GMAR: *Gi. margarita*; RCLA: *R. clarus*; SCAL: *S. calospora*; TEST1: Testemunha não inoculada; TEST2+Ad: Testemunha não inoculada com adubação recomendada. Letras nas colunas, dentro de cada solo, comparam as médias pelo teste de Scott Knott 5%.

Tabela 13. Número de perfilhos e área foliar de mudas de cana-de-açúcar cultivadas em diferentes solos em avaliações periódicas após o plantio. Efeito principal de solo.

Solos	Número de perfilhos				Área foliar (cm ²)			
	Tempo após o plantio (dias)							
	61	80	105	120	61	80	105	120
PV1	1,1 a	1,1 b	1,0 a	1,0 a	734 a	979 a	840 a	768 a
PV2	1,0 b	1,0 c	1,0 b	1,0 b	592 b	867 b	716 b	689 b
PV3	1,0 a	1,0 c	1,0 b	1,0 b	258 c	329 d	313 c	271 c
PLt	1,1 a	1,1 a	1,1 a	1,0 a	593 b	789 c	716 b	680 b

Dados de número de perfilhos transformados por raiz quadrada de (X+1); **PV1**: Argissolo da Área do Experimento I; **PV2**: Argissolo da Área do Experimento II; **PV3**: Argissolo Vermelha de Itumirim, MG; **PLt**: Planossolo do campo experimental "Terraço". Letras nas colunas, dentro de cada solo, comparam as médias pelo teste de Scott Knott 5%.

O efeito geral da inoculação sobre o tamanho da folha +1 (comprimento e largura) chegou a ser significativo até os 105 dias (Anexo D). Porém, o teste de Scott Knott mostrou diferenças entre as médias de inoculação até os 120 dias (Tabela 16), o que sugere ser essa uma variável bastante sensível na análise de experimentos de cana-de-açúcar, sendo, portanto, essencial sua análise, particularmente em casa de vegetação. As linhagens que menos contribuíram à largura e comprimento da folha +1, com plantas apresentando folhas +1 menores e não distintas da testemunha não inoculada, foram *A. scrobiculata*, *A. morrowiae*, *E. contigua* e *R. clarus*. *A. colombiana* e *C. etunicatum* apresentam efeitos controversos, hora promovendo, hora diminuindo o tamanho da folha +1, dependendo do solo e época de avaliação. As demais linhagens (*D. heterogama*, *Gi. margarita* e *S. calospora*), em geral, promovem folhas +1 maiores que a testemunha não inoculada (Tabela 16).

O efeito de bloco também esteve presente no tamanho da folha +1, corroborando os resultados observados na área foliar.

A massa fresca e seca das plantas aos 120 dias corroboraram os resultados observados para altura das plantas e área foliar, não apresentando efeito da inoculação nesta época de avaliação (Anexo E). Apenas o efeito de solos e dos blocos apresentaram significância. A interação inoculação x solo somente foi significativa para massa fresca de raízes (Anexo E), embora o teste de Scott Knott 5% não tenha indicado essa diferença nos tratamentos de inoculação dentro de cada solo (Tabela 18). Esse teste mostrou algumas diferenças entre médias de variáveis que não apresentaram interação significativa (Anexo E e Tabela 18), os quais foram considerados não consistentes.

De modo geral, o efeito do solo foi o mesmo já apresentado para altura, área foliar e tamanho da folha +1, onde o PV1 promove maiores plantas, seguido do PV2 e o PLt, e o solo PV3 promove as menores plantas (Tabela 17). Também de forma geral, os tratamentos de inoculação não influenciaram o acúmulo de massa hipógea, epígea e total das plantas. Mais uma vez indicando que a restrição do tamanho dos vasos diminuiu a resposta a inoculação.

A nutrição fosfatada das plantas foi analisada periodicamente pelo teor e quantidade de P em discos tomados nas folhas +1. Essa variável mostrou-se também bastante sensível apresentando efeito significativo do tipo do solo e dos tratamentos de inoculação no período entre 60 e 120 dias (Anexo F). O efeito de solo reflete claramente a disponibilidade de fósforo nos diferentes solos (Tabela 4), sendo que o PV2 promoveu maior teor e quantidade de P nos discos de folha (Tabela 19). Em segundo lugar vem o PV1 e em terceiro, o PLt. O PV3 promoveu os menores teores e quantidades de P nos discos de folha.

Tabela 14. Número de perfilhos e área foliar de mudas de cana-de-açúcar inoculadas com diferentes fungos micorrízicos arbusculares em avaliações periódicas após o plantio. Efeito principal da inoculação e desdobramento dentro de cada solo.

Tratamentos de inoculação	Número de perfilhos				Área foliar (cm ²)			
	Tempo após o plantio (dias)							
	61	80	105	120	61	80	105	120
Efeito principal da inoculação								
ACOL	1,21 a	1,19 a	1,16 a	1,10 a	522 a	723 a	673 a	599 a
AMOR	1,04 b	1,04 b	1,02 b	1,02 a	529 a	714 a	632 a	582 a
ASCR	1,17 a	1,12 a	1,06 b	1,06 a	471 a	716 a	662 a	645 a
CETU	1,08 b	1,10 a	1,04 b	1,02 a	563 a	772 a	688 a	629 a
DHET	1,04 b	1,04 b	1,02 b	1,02 a	525 a	766 a	669 a	607 a
ECON	1,04 b	1,06 b	1,04 b	1,02 a	545 a	744 a	636 a	603 a
GMAR	1,08 b	1,00 b	1,02 b	1,02 a	559 a	768 a	625 a	588 a
RCLA	1,12 b	1,16 a	1,04 b	1,04 a	598 a	759 a	647 a	585 a
SCAL	1,10 b	1,02 b	1,04 b	1,02 a	612 a	803 a	632 a	571 a
TEST1	1,02 b	1,08 b	1,06 b	1,06 a	491 a	666 a	573 a	582 a
TEST2+Ad	1,10 b	1,02 b	1,02 b	1,02 a	571 a	718 a	672 a	631 a
Desdobramento da inoculação dentro do Argissolo do experimento I								
ACOL	1,25 a	1,23 a	1,23 a	1,17 a	742 b	793 b	812 a	739 a
AMOR	1,00 a	1,00 b	1,00 a	1,00 a	658 c	994 a	869 a	828 a
ASCR	1,17 a	1,23 a	1,17 a	1,17 a	550 c	1033 a	788 a	786 a
CETU	1,00 a	1,08 b	1,08 a	1,08 a	765 b	979 a	857 a	836 a
DHET	1,08 a	1,17 a	1,08 a	1,08 a	572 c	1092 a	901 a	785 a
ECON	1,08 a	1,00 b	1,00 a	1,00 a	767 b	976 a	875 a	777 a
GMAR	1,08 a	1,00 b	1,08 a	1,00 a	723 b	996 a	829 a	792 a
RCLA	1,08 a	1,23 a	1,00 a	1,00 a	897 a	1051 a	857 a	714 a
SCAL	1,17 a	1,08 b	1,08 a	1,08 a	950 a	1140 a	787 a	621 a
TEST1	1,00 a	1,00 b	1,08 a	1,08 a	773 b	822 b	787 a	751 a
TEST2+Ad	1,31 a	1,08 b	1,08 a	1,08 a	681 c	890 b	874 a	818 a
Desdobramento da inoculação dentro do Argissolo do experimento II								
ACOL	1,00 a	1,17 a	1,17 a	1,17 a	531 a	889 a	701 a	689 a
AMOR	1,00 a	1,00 a	1,00 a	1,00 a	642 a	799 a	718 a	623 a
ASCR	1,00 a	1,00 a	1,00 a	1,00 a	449 a	807 a	723 a	710 a
CETU	1,00 a	1,00 a	1,00 a	1,00 a	625 a	943 a	757 a	704 a
DHET	1,00 a	1,00 a	1,00 a	1,00 a	724 a	903 a	696 a	688 a
ECON	1,00 a	1,00 a	1,00 a	1,00 a	644 a	881 a	783 a	650 a
GMAR	1,00 a	1,00 a	1,00 a	1,00 a	629 a	860 a	689 a	676 a
RCLA	1,08 a	1,08 a	1,00 a	1,08 a	560 a	893 a	710 a	682 a
SCAL	1,00 a	1,00 a	1,00 a	1,00 a	595 a	886 a	637 a	657 a
TEST1	1,00 a	1,00 a	1,00 a	1,00 a	468 a	838 a	706 a	797 a
TEST2+Ad	1,00 a	1,00 a	1,00 a	1,00 a	647 a	840 a	755 a	703 a
Desdobramento da inoculação dentro do Planossolo do Terraço								
ACOL	1,23 a	1,00 a	1,00 a	1,00 a	264 a	400 a	369 a	326 a
AMOR	1,08 a	1,08 a	1,00 a	1,00 a	218 a	278 a	297 b	247 a
ASCR	1,17 a	1,00 a	1,00 a	1,00 a	192 a	290 a	362 a	300 a
CETU	1,00 a	1,00 a	1,00 a	1,00 a	315 a	336 a	320 a	267 a
DHET	1,00 a	1,00 a	1,00 a	1,00 a	258 a	319 a	415 a	333 a
ECON	1,08 a	1,00 a	1,00 a	1,00 a	257 a	309 a	189 b	208 a
GMAR	1,08 a	1,00 a	1,00 a	1,00 a	277 a	334 a	261 b	217 a
RCLA	1,15 a	1,00 a	1,00 a	1,00 a	257 a	300 a	254 b	206 a
SCAL	1,00 a	1,00 a	1,00 a	1,00 a	307 a	408 a	421 a	358 a
TEST1	1,08 a	1,00 a	1,00 a	1,00 a	205 a	243 a	218 b	218 a
TEST2+Ad	1,08 a	1,00 a	1,00 a	1,00 a	287 a	399 a	342 a	301 a
Desdobramento da inoculação dentro do Planossolo do Terraço								
ACOL	1,38 a	1,38 a	1,23 a	1,08 a	551 a	809 a	811 a	642 a
AMOR	1,08 b	1,08 b	1,08 a	1,08 a	599 a	785 a	645 b	629 a
ASCR	1,33 a	1,25 a	1,08 a	1,08 a	692 a	734 a	774 a	783 a
CETU	1,31 a	1,31 a	1,08 a	1,00 a	549 a	829 a	817 a	709 a
DHET	1,08 b	1,00 b	1,00 a	1,00 a	548 a	750 a	662 b	621 a
ECON	1,00 b	1,25 a	1,17 a	1,08 a	512 a	808 a	697 b	777 a
GMAR	1,17 b	1,00 b	1,00 a	1,08 a	608 a	882 a	719 b	667 a
RCLA	1,17 b	1,33 a	1,17 a	1,08 a	679 a	794 a	769 a	735 a
SCAL	1,25 a	1,00 b	1,08 a	1,00 a	594 a	781 a	681 b	648 a
TEST1	1,00 b	1,33 a	1,17 a	1,17 a	518 a	762 a	581 b	563 a
TEST2+Ad	1,00 b	1,00 b	1,00 a	1,00 a	669 a	742 a	715 b	703 a

Dados de número de perfilho transformados por raiz quadrada de $(X+1)$; ACOL: *A. colombiana*; AMOR: *A. morrowiae*; ASCR: *A. scrobiculata*; CETU: *C. etunicatum*; DHET: *D. heterogama*; ECON: *E. contigua*; GMAR: *Gi. margarita*; RCLA: *R. clarus*; SCAL: *S. calospora*; TEST1: Testemunha não inoculada; TEST2+Ad: Testemunha não inoculada com adubação recomendada. Letras nas colunas, dentro de cada solo, comparam as médias pelo teste de Scott Knott 5%.

Tabela 15. Comprimento e largura da folha +1 de mudas de cana-de-açúcar cultivadas em diferentes solos em avaliações periódicas após o plantio. Efeito principal de solo.

Solos	Comprimento da folha +1 (mm)				Largura da folha +1 (mm)			
	Tempo após o plantio (dias)							
	61	80	105	120	61	80	105	120
PV1	855 a	898 a	877 a	879 a	19 a	25 a	24 a	23 a
PV2	801 b	821 b	763 b	757 b	17 b	23 b	22 b	22 b
PV3	525 c	566 c	600 c	608 c	11 c	13 c	15 c	15 c
PLt	808 b	835 b	772 b	769 b	17 b	22 b	22 b	22 b

PV1: Argissolo do Experimento I; **PV2:** Argissolo da Área do Experimento II; **PV3:** Argissolo Vermelho de Itumirim, MG; **PLt:** Planossolo do campo experimental "Terraço". Letras nas colunas, dentro de cada solo, comparam as médias pelo teste de Scott Knott 5%.

Tabela 16. Comprimento e largura da folha +1 de mudas de cana-de-açúcar inoculadas com diferentes fungos micorrízicos arbusculares em avaliações periódicas após o plantio. Efeito principal da inoculação e desdobramento dentro de cada solo.

Tratamentos de inoculação	Comprimento da folha +1 (mm)				Largura da folha +1 (mm)			
	Tempo após o plantio (dias)							
	61	80	105	120	61	80	105	120
Efeito principal da inoculação								
ACOL	748 a	798 a	768 a	777 a	15 b	21 a	21 a	20 a
AMOR	737 a	776 a	730 a	728 b	16 b	21 a	21 a	20 a
ASCR	690 a	756 b	764 a	762 a	15 b	20 a	21 a	21 a
CETU	788 a	811 a	763 a	768 a	16 a	21 a	22 a	21 a
DHET	726 a	786 a	775 a	765 a	16 a	21 a	21 a	21 a
ECON	745 a	785 a	728 a	738 b	17 a	21 a	21 a	21 a
GMAR	769 a	783 a	759 a	770 a	16 a	22 a	21 a	20 a
RCLA	769 a	770 a	751 a	737 b	17 a	21 a	21 a	21 a
SCAL	761 a	812 a	778 a	767 a	17 a	21 a	21 a	20 a
TEST1	715 a	726 b	724 a	730 b	15 b	20 a	19 b	19 a
TEST2+Ad	772 a	778 a	740 a	744 b	17 a	21 a	21 a	21 a
Desdobramento da inoculação dentro do Argissolo do experimento I								
ACOL	871 a	902 a	829 a	827 a	20 a	24 a	23 b	22 a
AMOR	822 a	896 a	868 a	868 a	18 a	26 a	25 a	24 a
ASCR	701 b	865 a	853 a	840 a	18 a	25 a	24 b	23 a
CETU	870 a	868 a	883 a	933 a	19 a	24 a	25 a	22 a
DHET	820 a	929 a	900 a	864 a	17 a	25 a	26 a	23 a
ECON	873 a	886 a	903 a	876 a	20 a	26 a	25 a	24 a
GMAR	880 a	903 a	876 a	916 a	19 a	24 a	24 a	23 a
RCLA	941 a	877 a	904 a	887 a	21 a	26 a	23 b	23 a
SCAL	892 a	955 a	892 a	885 a	23 a	26 a	25 a	19 b
TEST1	841 a	899 a	899 a	913 a	20 a	24 a	22 b	22 a
TEST2+Ad	893 a	895 a	844 a	865 a	19 a	26 a	23 b	23 a
Desdobramento da inoculação dentro do Argissolo do experimento II								
ACOL	789 a	845 a	774 a	782 a	15 b	22 a	22 a	21 a
AMOR	818 a	869 a	751 a	742 a	18 a	23 a	23 a	22 a
ASCR	766 a	796 a	762 a	755 a	14 b	22 a	22 a	22 a
CETU	924 a	882 a	768 a	750 a	16 b	23 a	23 a	22 a
DHET	817 a	825 a	766 a	762 a	21 a	22 a	21 a	22 a

ECON	780 a	784 a	761 a	744 a	18 a	22 a	23 a	22 a
GMAR	769 a	809 a	768 a	774 a	18 a	24 a	22 a	22 a
RCLA	807 a	832 a	759 a	742 a	18 a	23 a	22 a	22 a
SCAL	767 a	805 a	746 a	741 a	19 a	22 a	22 a	22 a
TEST1	758 a	748 a	769 a	794 a	15 b	23 a	22 a	22 a
TEST2+Ad	817 a	838 a	765 a	741 a	18 a	23 a	23 a	21 a
Desdobramento da inoculação dentro do Argissolo Vermelho Escuro								
ACOL	522 a	571 a	671 a	700 a	12 a	14 a	16 a	16 a
AMOR	504 a	522 b	564 b	580 b	10 a	12 a	14 b	13 b
ASCR	443 a	506 b	628 a	647 a	10 a	12 a	14 b	15 b
CETU	562 a	615 a	611 a	610 a	13 a	13 a	15 b	15 b
DHET	505 a	578 a	658 a	684 a	10 a	13 a	16 a	16 a
ECON	571 a	589 a	508 b	552 b	12 a	13 a	14 b	15 b
GMAR	571 a	577 a	564 b	569 b	12 a	14 a	15 b	15 b
RCLA	497 a	527 b	560 b	526 b	11 a	13 a	14 b	14 b
SCAL	545 a	653 a	682 a	677 a	12 a	14 a	18 a	18 a
TEST1	482 a	459 b	528 b	502 b	11 a	12 a	13 b	14 b
TEST2+Ad	579 a	630 a	622 a	634 a	12 a	15 a	17 a	16 a
Desdobramento da inoculação dentro do Planossolo do Terraço								
ACOL	811 a	875 a	800 a	799 a	15 a	22 a	22 a	21 b
AMOR	805 a	815 a	736 b	723 a	16 a	22 a	22 a	21 b
ASCR	850 a	857 a	815 a	806 a	18 a	22 a	23 a	23 a
CETU	796 a	878 a	792 a	777 a	17 a	23 a	24 a	22 a
DHET	764 a	812 a	777 a	749 a	17 a	22 a	21 a	21 b
ECON	755 a	879 a	741 b	781 a	16 a	23 a	23 a	23 a
GMAR	855 a	842 a	829 a	819 a	16 a	24 a	22 a	23 a
RCLA	830 a	845 a	782 a	792 a	18 a	23 a	23 a	23 a
SCAL	841 a	836 a	792 a	767 a	17 a	21 a	21 a	21 b
TEST1	780 a	799 a	700 b	712 a	16 a	22 a	20 a	19 b
TEST2+Ad	799 a	749 a	727 b	737 a	19 a	22 a	22 a	22 a

ACOL: *A. colombiana*; AMOR: *A. morrowiae*; ASCR: *A. scrobiculata*; CETU: *C. etunicatum*; DHET: *D. heterogama*; ECON: *E. contigua*; GMAR: *Gi. margarita*; RCLA: *R. clarus*; SCAL: *S. calospora*; TEST1: Testemunha não inoculada; TEST2+Ad: Testemunha não inoculada com adubação recomendada. Letras nas colunas, dentro de cada solo, comparam as médias pelo teste de Scott Knott 5%.

Tabela 17. Massas secas e frescas de mudas de cana-de-açúcar cultivadas em diferentes solos aos 120 dias após o plantio. Efeito principal de solo.

Solos	Massa seca (g)				Massa fresca (g)			
	Folhas	Colmo	Raízes	Total	Folhas	Colmo	Raízes	Total
PV1	8,4 a	8,1 a	24,0 a	40,5 a	26,1 b	31,1 a	120,9 a	178,0 a
PV2	8,5 a	5,9 c	18,9 b	33,3 c	27,6 a	24,9 b	103,3 b	155,8 b
PV3	3,0 b	0,1 d	9,1 c	12,1 d	10,1 c	0,3 c	46,5 c	56,9 c
PLt	8,0 a	6,9 b	20,7 b	35,6 b	25,7 b	26,6 b	109,1 b	161,5 b

PV1: Argissolo da Área do Experimento I; **PV2:** Argissolo da Área do Experimento II; **PV3:** Argissolo Vermelho de Itumirim, MG; **PLt:** Planossolo do campo experimental "Terraço". Letras nas colunas, dentro de cada solo, comparam as médias pelo teste de Scott Knott 5%.

Tabela 18. Massas secas e frescas de mudas de cana-de-açúcar inoculadas com diferentes fungos micorrízicos arbusculares aos 120 dias após o plantio. Efeito principal da inoculação e desdobramento dentro de cada solo.

Tratamentos de inoculação	Massa seca (g)				Massa fresca (g)			
	Folhas	Colmo	Raízes	Total	Folhas	Colmo	Raízes	Total
	Efeito principal da inoculação							
ACOL	7,1 a	5,3 a	19,2 a	31,6 a	22,3 a	19,8 a	97,3 a	139,3 a
AMOR	6,8 a	5,0 a	17,0 a	28,8 a	22,6 a	20,3 a	98,4 a	141,3 a
ASCR	7,1 a	5,2 a	16,9 a	29,2 a	23,0 a	20,1 a	95,8 a	138,9 a
CETU	7,2 a	5,6 a	19,6 a	32,5 a	23,1 a	21,7 a	99,5 a	144,2 a
DHET	6,8 a	4,5 a	16,6 a	27,9 a	21,4 a	18,1 a	83,6 a	123,2 a
ECON	7,0 a	5,6 a	17,2 a	29,8 a	22,6 a	22,1 a	92,0 a	136,7 a
GMAR	6,8 a	5,4 a	19,5 a	31,7 a	21,6 a	21,3 a	97,4 a	140,3 a
RCLA	7,0 a	5,0 a	19,1 a	31,0 a	21,8 a	19,5 a	94,4 a	135,7 a
SCAL	6,9 a	5,1 a	18,3 a	30,3 a	22,3 a	20,7 a	89,8 a	132,8 a
TEST1	6,7 a	5,0 a	16,8 a	28,4 a	21,8 a	20,1 a	94,0 a	135,9 a
TEST2+Ad	7,2 a	6,0 a	19,6 a	32,8 a	23,6 a	24,2 a	102,4 a	150,1 a
	Desdobramento da inoculação dentro do Argissolo do experimento I							
ACOL	8,8 a	6,9 a	27,0 a	42,7 a	27,9 a	26,4 a	142,6 a	196,9 a
AMOR	7,7 a	7,7 a	19,6 b	35,0 b	24,2 a	31,2 a	102,0 a	157,5 a
ASCR	8,8 a	8,0 a	20,1 b	36,8 b	26,4 a	30,7 a	118,6 a	175,7 a
CETU	8,6 a	8,1 a	25,8 a	42,5 a	26,5 a	30,0 a	128,7 a	185,2 a
DHET	8,1 a	7,4 a	25,2 a	40,7 a	25,6 a	29,9 a	111,5 a	167,0 a
ECON	8,4 a	8,6 a	24,0 a	41,0 a	26,1 a	30,8 a	129,8 a	186,6 a
GMAR	7,8 a	8,2 a	25,9 a	41,8 a	24,7 a	32,4 a	123,0 a	180,0 a
RCLA	7,7 a	7,4 a	25,6 a	40,6 a	22,6 a	28,0 a	118,5 a	169,1 a
SCAL	8,7 a	9,5 a	24,9 a	43,2 a	26,5 a	34,6 a	115,2 a	176,3 a
TEST1	8,7 a	8,3 a	17,7 b	34,8 b	28,8 a	31,2 a	99,3 a	159,3 a
TEST2+Ad	8,7 a	9,3 a	28,0 a	46,1 a	27,5 a	36,6 a	140,2 a	204,2 a
	Desdobramento da inoculação dentro do Argissolo do experimento II							
ACOL	8,3 a	5,8 a	20,9 a	35,0 a	26,2 a	22,7 b	98,4 a	147,3 a
AMOR	8,6 a	5,9 a	19,2 a	33,7 a	28,7 a	24,7 b	112,5 a	165,9 a
ASCR	8,4 a	5,4 a	17,9 a	31,7 a	27,6 a	22,5 b	105,1 a	155,1 a
CETU	8,8 a	6,0 a	19,8 a	34,7 a	28,3 a	25,2 b	103,9 a	157,4 a
DHET	8,1 a	4,7 a	16,4 a	29,2 a	25,0 a	19,2 b	94,7 a	138,9 a
ECON	8,9 a	6,5 a	17,1 a	32,6 a	28,9 a	27,2 a	96,8 a	152,8 a
GMAR	8,8 a	6,6 a	21,3 a	36,7 a	27,1 a	25,6 b	111,2 a	163,9 a
RCLA	8,4 a	4,8 a	18,2 a	31,4 a	27,6 a	21,2 b	101,7 a	150,5 a
SCAL	8,2 a	4,8 a	16,3 a	29,2 a	27,3 a	22,3 b	87,4 a	137,0 a
TEST1	8,5 a	6,4 a	21,2 a	36,0 a	28,2 a	28,1 a	113,0 a	169,3 a
TEST2+Ad	8,4 a	8,3 a	19,7 a	36,4 a	29,2 a	34,7 a	112,1 a	176,0 a
	Desdobramento da inoculação dentro do Planossolo Vermelho							
ACOL	3,4 a	0,1 a	8,8 a	12,3 a	10,9 a	0,5 a	42,1 a	53,4 a
AMOR	2,9 a	0,0 a	9,3 a	12,2 a	10,3 a	0,0 a	49,9 a	60,3 a
ASCR	3,5 a	0,0 a	7,7 a	11,2 a	12,1 a	0,0 a	39,1 a	51,2 a
CETU	3,3 a	0,2 a	11,2 a	14,7 a	12,2 a	0,8 a	60,2 a	73,3 a
DHET	3,5 a	0,0 a	9,8 a	13,3 a	10,6 a	0,0 a	48,0 a	58,6 a
ECON	2,2 a	0,0 a	6,9 a	9,1 a	7,4 a	0,0 a	38,5 a	45,8 a
GMAR	2,5 a	0,0 a	7,8 a	10,4 a	9,3 a	0,0 a	45,3 a	54,6 a
RCLA	2,6 a	0,1 a	8,3 a	11,0 a	8,9 a	0,4 a	44,5 a	53,8 a
SCAL	3,6 a	0,1 a	14,0 a	17,8 a	12,3 a	0,4 a	61,7 a	74,4 a
TEST1	1,9 a	0,0 a	5,3 a	7,2 a	6,5 a	0,0 a	32,5 a	39,0 a
TEST2+Ad	3,4 a	0,3 a	10,7 a	14,4 a	10,4 a	1,2 a	49,5 a	61,2 a
	Desdobramento da inoculação dentro do Planossolo do Terraço							
ACOL	7,8 a	8,2 a	20,3 a	36,4 a	24,2 a	29,4 a	106,1 a	159,6 a
AMOR	8,0 a	6,5 b	20,1 a	34,6 a	27,2 a	25,2 a	129,1 a	181,5 a
ASCR	7,9 a	7,3 a	21,8 a	37,0 a	25,8 a	27,4 a	120,5 a	173,7 a
CETU	8,2 a	8,3 a	21,6 a	38,1 a	25,3 a	30,7 a	105,0 a	161,0 a
DHET	7,5 a	6,0 b	15,1 a	28,5 a	24,4 a	23,4 a	80,3 a	128,1 a
ECON	8,5 a	7,5 a	20,7 a	36,7 a	28,0 a	30,5 a	102,8 a	161,3 a
GMAR	8,1 a	6,8 b	23,0 a	38,0 a	25,4 a	27,1 a	110,2 a	162,6 a
RCLA	9,2 a	7,6 a	24,4 a	41,2 a	28,0 a	28,5 a	112,8 a	169,3 a
SCAL	7,0 a	6,2 b	18,0 a	31,2 a	23,2 a	25,4 a	95,0 a	143,6 a
TEST1	7,7 a	5,1 b	22,9 a	35,7 a	23,7 a	21,2 a	131,2 a	176,0 a
TEST2+Ad	8,3 a	6,3 b	19,8 a	34,3 a	27,2 a	24,3 a	107,7 a	159,2 a

ACOL: *A. colombiana*; AMOR: *A. morrowiae*; ASCR: *A. scrobiculata*; CETU: *C. etunicatum*; DHET: *D. heterogama*; ECON: *E. contigua*; GMAR: *Gi. margarita*; RCLA: *R. clarus*; SCAL: *S. calospora*; TEST1: Testemunha não inoculada; TEST2+Ad: Testemunha não inoculada com adubação recomendada. Letras nas colunas, dentro de cada solo, comparam as médias pelo teste de Scott Knott 5%.

Tabela 19. Teor e quantidade de P em discos de limbo foliar de mudas de cana-de-açúcar cultivadas em diferentes solos em avaliações periódicas após o plantio. Efeito principal de solo.

Solos	Teor de P no tecido de disco foliar (g/kg)			Quantidade de P no disco foliar (µg P/disco)		
	Tempo após o plantio (dias)					
	60	90	120	60	90	120
PV1	1,05 b	0,95 b	1,03 b	4,12 a	3,89 b	4,19 b
PV2	1,22 a	1,04 a	1,17 a	4,00 a	4,27 a	4,78 a
PV3	0,57 d	0,48 d	0,60 d	1,79 c	1,58 c	1,95 d
PLt	0,89 c	0,84 c	0,89 c	3,39 b	3,66 b	3,77 c

PV1: Argissolo da Área do Experimento I; **PV2:** Argissolo da Área do Experimento II; **PV3:** Argissolo Vermelho de Itumirim, MG; **PLt:** Planossolo do campo experimental "Terraço". Letras nas colunas comparam as médias pelo teste de Scott Knott 5%.

O efeito da inoculação pode ser observado principalmente na variável quantidade de P no disco de folha e dentro doPV1 e oPV2 (Tabela 20). De modo geral o teor de P no disco foliar foi aumentado pela inoculação com *A. colombiana* ou pela testemunha não inoculada com adubação completa. A quantidade de P no disco foi aumentada, além de por estes dois tratamentos, pela inoculação com *D. heterogama*. A inoculação com *C. etunicatum*, *A. morrowiae* e *S. calospora* promoveu maior quantidade dependendo da época de avaliação (Tabela 20). A interação em algumas épocas ficou no limite da significância (Anexo F). O desdobramento feito utilizando a comparação de médias de Scott Knott 5% indicou que os efeitos da inoculação se concentraram noPV1 e o PV2 (Tabela 20). No primeiro destes solos, as linhagens que mais promoveram o teor e a quantidade de P nos discos de folha foram *A. colombiana*, *C. etunicatum*, *D. heterogama* e *R. clarus*. No PV2 destacaram-se principalmente *A. colombiana* e *C. etunicatum*.

Os teores de macronutrientes analisados no tecido foliar foram apenas influenciados pelo tipo de solo (Anexo G). Houve efeito de diluição, particularmente do teor de N e K, nas plantas de maior crescimento, de forma que no PV3, onde as plantas cresceram menos, os teores de N e K foram mais elevados (Tabela 21). Já os teores de Ca, Mg e S sofreram menos efeito de diluição e foram mais relacionados com as respostas em crescimento das plantas nos diferentes solos.

A Tabela 22 mostra a comparação dos tratamentos de inoculação quanto aos teores de macronutrientes. Como pode ser observado não houve efeito principal de inoculação sobre os macronutrientes sugerindo que a aplicação de solução nutritiva durante a condução do experimento foi eficiente em manter os níveis de macronutrientes de forma que não fossem limitantes para o desenvolvimento das plantas ou às respostas dos tratamentos. Os maiores teores no tecido foliar foram de potássio e nitrogênio, corroborando o reportado na literatura em relação a estes nutrientes em cana-de-açúcar (Vitti et al., 2010).

Entretanto, apesar da análise de variância indicar efeito não significativo da interação (Anexo G), o teste de Scott Knott 5% indicou alguns efeitos dos tratamentos de inoculação, particularmente no PV3. Entretanto, esses efeitos aparentam ser aleatórios, não mostrando efeito da testemunha com adubação completa (Tabela 22).

Tabela 20. Teor e quantidade de P em discos de limbo foliar de mudas de cana-de-açúcar inoculadas com diferentes fungos micorrízicos arbusculares em avaliações periódicas após o plantio. Efeito principal da inoculação e desdobramento dentro de cada solo.

Solos	Teor de P no tecido de disco foliar (g/kg)			Quantidade de P no disco foliar (μg de P/disco)		
	Tempo após o plantio (dias)					
	60	90	120	60	90	120
Efeito principal da inoculação						
ACOL	1,12 a	0,93 a	1,06 a	3,70 a	3,74 a	4,00 a
AMOR	0,90 b	0,86 a	0,94 a	3,22 b	3,42 a	3,74 a
ASCR	0,83 b	0,77 a	0,86 a	3,00 b	3,11 b	3,40 b
CETU	0,97 b	0,81 a	0,97 a	3,49 a	3,25 b	3,86 a
DHET	0,95 b	0,84 a	0,94 a	3,55 a	3,45 a	3,73 a
ECON	0,88 b	0,75 a	0,82 a	3,11 b	3,12 b	3,42 b
GMAR	0,89 b	0,80 a	0,87 a	3,20 b	3,23 b	3,42 b
RCLA	0,93 b	0,78 a	0,92 a	3,33 b	3,13 b	3,63 b
SCAL	0,92 b	0,83 a	0,91 a	3,18 b	3,52 a	3,76 a
TEST1	0,88 b	0,84 a	0,89 a	3,06 b	3,24 b	3,43 b
TEST2+Ad	1,01 a	0,88 a	0,95 a	3,69 a	3,61 a	4,01 a
Desdobramento da inoculação dentro do Argissolo do experimento I						
ACOL	1,18 a	1,12 a	1,13 a	4,74 a	4,43 a	4,43 a
AMOR	1,01 b	0,96 a	1,05 a	3,80 b	3,72 a	4,17 a
ASCR	0,93 b	0,78 a	0,84 a	3,74 b	3,38 a	3,59 b
CETU	1,19 a	0,94 a	1,09 a	4,88 a	3,89 a	4,38 a
DHET	1,25 a	1,03 a	1,24 a	5,04 a	4,38 a	4,84 a
ECON	0,83 b	0,76 a	0,85 a	3,33 b	3,47 a	3,67 b
GMAR	1,00 b	1,04 a	0,99 a	3,87 b	4,03 a	3,76 b
RCLA	1,14 a	0,92 a	1,05 a	4,33 a	3,71 a	4,24 a
SCAL	1,02 b	0,92 a	1,02 a	3,90 b	3,99 a	4,32 a
TEST1	0,88 b	0,97 a	0,94 a	3,22 b	3,74 a	3,77 b
TEST2+Ad	1,15 a	1,03 a	1,17 a	4,44 a	4,03 a	4,96 a
Desdobramento da inoculação dentro do Argissolo do experimento II						
ACOL	1,65 a	1,22 a	1,57 a	4,72 a	5,07 a	5,76 a
AMOR	1,16 b	1,09 a	1,17 b	3,88 a	4,43 a	4,99 a
ASCR	1,06 b	0,96 a	1,05 b	3,58 a	3,99 a	4,22 b
CETU	1,26 b	1,02 a	1,36 a	4,03 a	4,01 a	5,43 a
DHET	1,05 b	0,96 a	0,99 b	3,74 a	4,05 a	4,31 b
ECON	1,38 a	0,98 a	1,01 b	4,44 a	4,13 a	4,12 b
GMAR	1,07 b	0,89 a	1,03 b	3,73 a	3,76 a	4,29 b
RCLA	1,26 b	1,00 a	1,19 b	4,21 a	4,12 a	5,03 a
SCAL	1,01 b	1,06 a	1,14 b	3,33 a	4,49 a	4,85 a
TEST1	1,23 b	1,08 a	1,12 b	4,14 a	4,28 a	4,38 b
TEST2+Ad	1,24 b	1,13 a	1,20 b	4,19 a	4,60 a	5,24 a
Desdobramento da inoculação dentro do Argissolo Vermelho						
ACOL	0,69 a	0,51 a	0,59 a	1,92 a	1,80 a	1,86 a
AMOR	0,61 a	0,49 a	0,62 a	1,99 a	1,53 a	1,94 a
ASCR	0,56 a	0,54 a	0,64 a	1,75 a	1,62 a	2,07 a
CETU	0,56 a	0,46 a	0,54 a	1,92 a	1,52 a	1,75 a
DHET	0,65 a	0,57 a	0,72 a	2,06 a	1,81 a	2,24 a
ECON	0,46 a	0,42 a	0,55 a	1,42 a	1,51 a	1,89 a
GMAR	0,54 a	0,45 a	0,57 a	1,49 a	1,54 a	1,85 a
RCLA	0,53 a	0,42 a	0,57 a	1,72 a	1,21 a	1,66 a
SCAL	0,54 a	0,44 a	0,61 a	1,68 a	1,72 a	2,30 a
TEST1	0,62 a	0,49 a	0,65 a	1,82 a	1,48 a	1,91 a
TEST2+Ad	0,56 a	0,44 a	0,57 a	1,89 a	1,61 a	1,98 a
Desdobramento da inoculação dentro do Planossolo do Terraço						
ACOL	0,95 a	0,87 a	0,95 a	3,44 a	3,66 a	3,96 a
AMOR	0,83 a	0,89 a	0,93 a	3,24 a	4,00 a	3,87 a
ASCR	0,77 a	0,79 a	0,91 a	2,92 a	3,43 a	3,72 a
CETU	0,88 a	0,82 a	0,91 a	3,14 a	3,57 a	3,89 a
DHET	0,86 a	0,79 a	0,82 a	3,36 a	3,56 a	3,55 a
ECON	0,87 a	0,84 a	0,88 a	3,25 a	3,39 a	4,00 a
GMAR	0,94 a	0,81 a	0,88 a	3,73 a	3,59 a	3,78 a
RCLA	0,78 a	0,78 a	0,86 a	3,08 a	3,50 a	3,58 a
SCAL	1,09 a	0,90 a	0,89 a	3,81 a	3,89 a	3,58 a
TEST1	0,81 a	0,81 a	0,85 a	3,05 a	3,47 a	3,65 a
TEST2+Ad	1,07 a	0,93 a	0,87 a	4,24 a	4,19 a	3,84 a

ACOL: *A. colombiana*; AMOR: *A. morrowiae*; ASCR: *A. scrobiculata*; CETU: *C. etunicatum*; DHET: *D. heterogama*; ECON: *E. contigua*; GMAR: *Gi. margarita*; RCLA: *R. clarus*; SCAL: *S. calospora*; TEST1: Testemunha não inoculada; TEST2+Ad: Testemunha não inoculada com adubação recomendada. Letras nas colunas, dentro de cada solo, comparam as médias pelo teste de Scott Knott 5%.

Tabela 21. Teor de macronutrientes nas folhas de mudas de cana-de-açúcar cultivadas em diferentes solos em avaliações periódicas após o plantio. Efeito principal de solo.

Solos	Teor de macronutrientes nas folhas (g/kg)				
	Nitrogênio	Potássio	Cálcio	Magnésio	Enxofre
PV1	5,68 b	8,66 d	2,60 a	2,29 a	1,65 a
PV2	4,96 c	11,22 b	2,32 b	1,77 b	1,10 c
PV3	7,36 a	14,71 a	2,34 b	1,77 b	1,46 a
PLt	5,57 b	10,57 c	2,15 c	1,75 b	1,34 b

PV1: Argissolo da Área do Experimento I; **PV2:** Argissolo da Área do Experimento II; **PV3:** Argissolo Vermelho de Itumirim, MG; **PLt:** Planossolo do campo experimental "Terraço". Letras nas colunas comparam as médias pelo teste de Scott Knott 5%.

Os teores de micronutrientes analisados no tecido foliar foram apenas influenciados pelo tipo de solo (Anexo H). Apenas o manganês apresentou efeito da interação solo x inoculação. Como pode ser observado na Tabela 23, houve maior acúmulo de cobre no tecido foliar das plantas crescidas nos PV1 e PV3 em relação aos outros dois solos. O teor de ferro foi maior nas plantas crescidas no PV3. Já o teor de zinco foi menor no PV3. O teor de manganês nas plantas diferiu muito entre os solos. O maior teor de manganês foi observado nas plantas do PLt, seguido daquelas dos PV3, PV1 e PV2, sempre um distinto do outro. Os teores de boro nas plantas foram maiores no PV3, seguidos do PLt e o PV1; o PV2 promoveu os menores teores desse micronutriente. Essas diferenças entre os solos em promover os teores foliares de micronutrientes possivelmente se devem a variações no material de origem de cada solo. As diferenças na presença desses micronutrientes entre os solos devem ser marcantes, de modo que a fertilização periódica com solução nutritiva não minimizou as diferenças nos teores foliares.

A Tabela 24 mostra pouca diferença entre os tratamentos de inoculação em relação aos teores foliares de micronutrientes. A interação somente foi significativa para o manganês, porém diferenças nos tratamentos de inoculação foram observadas apenas no PV3 que foi o segundo solo em promover os maiores teores foliares de Mn, o que pode ser interessante nos solos brasileiros com alto nível de Mn solúvel. Nesse solo a inoculação com *A. colombiana*, *A. scrobiculata* e *D. heterogamae* a testemunha com adubação completa foram responsáveis pelos menores teores de Mn. O teste de Scott Knott 5% também apontou algumas diferenças nos teores de Cu (PV1) e Fe (PV3), onde alguns tratamentos aumentaram o teor de Cu em relação às testemunhas não inoculadas, ou reduziram o teor de Fe em relação às testemunhas. Entretanto, tais variações têm alta possibilidade de serem resultado do acaso.

De modo geral, os teores de macro e micronutrientes foram influenciados apenas pelo tipo de solo, não sofrendo efeito dos tratamentos de inoculação. A simbiose micorrízica arbuscular é especialmente importante no caso de nutrientes que formam zona de depleção no entorno das raízes por sua difusão no solo ser mais lenta que sua absorção (Stürmer & Siqueira, 2013). Também é comum os FMAs promoverem redução nos teores de nutrientes por efeito de diluição (Christie et al., 2004; Silva et al., 2006) ou por diminuir a absorção de nutrientes em excesso, sendo isso comum para o Fe e Mn (Kanwal et al., 2015). A fertilização periódica do experimento com solução nutritiva diminuiu esses efeitos, uniformizando as condições experimentais para que a resposta fosse mais evidente no principal benefício dos FMAs, que é a nutrição fosfatada.

Tabela 22. Teor de macronutrientes nas folhas de mudas de cana-de-açúcar inoculadas com diferentes fungos micorrízicos arbusculares em avaliações periódicas após o plantio. Efeito principal da inoculação e desdobramento dentro de cada solo.

Solos	Teor de macronutrientes nas folhas (g/kg)				
	Nitrogênio	Potássio	Cálcio	Magnésio	Enxofre
Efeito principal da inoculação					
ACOL	5,64 a	10,83 a	2,27 a	1,88 a	1,31 a
AMOR	6,13 a	11,42 a	2,49 a	1,93 a	1,31 a
ASCR	6,06 a	11,00 a	2,33 a	1,85 a	1,56 a
CETU	5,71 a	11,40 a	2,40 a	1,94 a	1,51 a
DHET	5,92 a	11,30 a	2,26 a	1,80 a	1,31 a
ECON	6,44 a	11,11 a	2,40 a	1,93 a	1,36 a
GMAR	6,23 a	11,40 a	2,35 a	1,91 a	1,36 a
RCLA	5,43 a	11,33 a	2,41 a	1,98 a	1,32 a
SCAL	5,74 a	11,35 a	2,30 a	1,94 a	1,59 a
TEST1	5,74 a	11,35 a	2,45 a	1,92 a	1,45 a
TEST2+Ad	5,81 a	11,72 a	2,26 a	1,77 a	1,21 a
Desdobramento da inoculação dentro do Argissolo do experimento I					
ACOL	5,32 a	8,36 a	2,66 a	2,38 a	1,52 b
AMOR	5,88 a	8,76 a	2,90 a	2,36 a	1,40 b
ASCR	5,46 a	8,40 a	2,48 a	2,22 a	2,38 a
CETU	5,18 a	8,50 a	2,58 a	2,29 a	1,74 b
DHET	6,16 a	9,18 a	2,58 a	2,31 a	1,40 b
ECON	5,60 a	8,12 a	2,78 a	2,42 a	1,44 b
GMAR	6,86 a	8,92 a	2,36 a	2,18 a	1,54 b
RCLA	4,76 a	9,30 a	2,44 a	2,16 a	1,48 b
SCAL	6,02 a	8,50 a	2,46 a	2,32 a	2,34 a
TEST1	5,88 a	8,40 a	2,84 a	2,34 a	1,60 b
TEST2+Ad	5,32 a	8,78 a	2,50 a	2,23 a	1,26 b
Desdobramento da inoculação dentro do Argissolo do experimento II					
ACOL	4,34 a	10,90 a	2,18 a	1,93 a	1,26 a
AMOR	5,46 a	11,30 a	2,26 a	1,76 a	1,10 a
ASCR	5,32 a	10,90 a	2,46 a	1,79 a	1,06 a
CETU	5,18 a	11,30 a	2,48 a	1,98 a	1,12 a
DHET	4,90 a	11,02 a	2,34 a	1,80 a	1,12 a
ECON	5,04 a	10,78 a	2,28 a	1,69 a	1,10 a
GMAR	4,76 a	11,02 a	2,32 a	1,68 a	1,06 a
RCLA	4,76 a	11,16 a	2,50 a	2,03 a	1,06 a
SCAL	5,04 a	11,28 a	2,22 a	1,77 a	1,02 a
TEST1	4,20 a	11,40 a	2,12 a	1,53 a	1,14 a
TEST2+Ad	5,60 a	12,34 a	2,40 a	1,56 a	1,04 a
Desdobramento da inoculação dentro do Argissolo Vermelho Escuro					
ACOL	7,28 b	13,54 b	2,06 b	1,55 b	1,18 a
AMOR	7,42 b	14,86 a	2,54 a	1,81 a	1,54 a
ASCR	7,84 b	14,44 b	2,26 b	1,59 b	1,30 a
CETU	6,86 b	15,42 a	2,30 b	1,73 b	1,76 a
DHET	7,00 b	14,22 b	2,12 b	1,51 b	1,42 a
ECON	9,52 a	15,42 a	2,46 a	1,90 a	1,56 a
GMAR	7,28 b	15,28 a	2,50 a	1,87 a	1,30 a
RCLA	7,14 b	15,14 a	2,46 a	1,84 a	1,44 a
SCAL	6,44 b	14,06 b	2,30 b	1,95 a	1,56 a
TEST1	7,56 b	14,72 a	2,64 a	2,08 a	1,72 a
TEST2+Ad	6,58 b	14,72 a	2,10 b	1,62 b	1,32 a
Desdobramento da inoculação dentro do Planossolo do Terraço					
ACOL	5,60 a	10,52 a	2,16 a	1,67 a	1,28 a
AMOR	5,74 a	10,76 a	2,26 a	1,80 a	1,18 a
ASCR	5,60 a	10,24 a	2,12 a	1,80 a	1,48 a
CETU	5,60 a	10,38 a	2,22 a	1,75 a	1,40 a
DHET	5,60 a	10,78 a	1,98 a	1,59 a	1,30 a
ECON	5,60 a	10,10 a	2,06 a	1,70 a	1,32 a
GMAR	6,02 a	10,36 a	2,22 a	1,92 a	1,52 a
RCLA	5,04 a	9,70 a	2,24 a	1,87 a	1,28 a
SCAL	5,46 a	11,54 a	2,22 a	1,71 a	1,44 a
TEST1	5,32 a	10,88 a	2,20 a	1,72 a	1,34 a
TEST2+Ad	5,74 a	11,02 a	2,02 a	1,66 a	1,20 a

ACOL: *A. colombiana*; AMOR: *A. morrowiae*; ASCR: *A. scrobiculata*; CETU: *C. etunicatum*; DHET: *D. heterogama*; ECON: *E. contigua*; GMAR: *Gi. margarita*; RCLA: *R. clarus*; SCAL: *S. calospora*; TEST1: Testemunha não inoculada; TEST2+Ad: Testemunha não inoculada com adubação recomendada. Letras nas colunas, dentro de cada solo, comparam as médias pelo teste de Scott Knott 5%.

Tabela 23. Teor de micronutrientes nas folhas de mudas de cana-de-açúcar cultivadas em diferentes solos em avaliações periódicas após o plantio. Efeito principal de solo.

Solos	Teor de micronutrientes nas folhas (mg/kg)				
	Cobre	Ferro	Zinco	Manganês	Boro
PV1	4,04 a	44,80 b	36,60 a	150,80 c	10,00 b
PV2	3,38 b	32,65 b	31,04 a	121,56 d	5,20 c
PV3	4,11 a	212,36 a	21,67 b	188,69 b	17,04 a
PLt	2,80 b	37,89 b	34,69 a	236,00 a	10,80 b

PV1: Argissolo da Área do Experimento I; **PV2:** Argissolo da Área do Experimento II; **PV3:** Argissolo Vermelho de Itumirim, MG; **PLt:** Planossolo do campo experimental "Terraço". Letras nas colunas comparam as médias pelo teste de Scott Knott 5%.

O teor de P nos tecidos das plantas, ao contrário dos demais macronutrientes apresentados nas Tabelas 21 e 22 e dos micronutrientes, apresentou efeito altamente significativo do tipo de solo, dos tratamentos de inoculação e da interação solo x inoculação (Anexo I). Isto sugere que a capacidade dos FMAs interferirem na absorção deste nutriente em função do solo é grande. Esse efeito já havia sido verificado pela análise do teor e quantidade de P nos discos de folha.

O teor de P no tecido foliar das plantas foi diretamente proporcional a sua disponibilidade nos diferentes solos (Tabela 4; Figura 11). O maior teor de P nas folhas foi nas plantas do PV2 e o menor na plantas cultivadas no PV3.

Em relação aos tratamentos de inoculação, ao desdobrar seu efeito dentro de cada solo, detectou-se a capacidade de algumas linhagens incrementarem o teor de P nas folhas (Figura 12). Em geral essas linhagens promoveram teores de P foliar tão elevados quanto aqueles observados na testemunha que recebeu adubação completa. Estes resultados estão em concordância com o documentado em literatura a respeito do caráter benéfico da associação micorrízica favorecendo a absorção de P pelas plantas. Segundo Cardoso et al. (2010) a melhora na nutrição fosfatada representa a principal vantagens desta associação para o simbionte vegetal.

No PV3, que possuía níveis muito baixos de P disponível, não houve efeito da inoculação, nem da adubação completa da testemunha sobre o teor foliar de P, sugerindo que esse solo também apresenta alta capacidade de fixação de fosfato. Porém, nos outros três solos a inoculação com *S. calospora* promoveu nas folhas o teor de P. No PV2, não apenas *S. calospora*, mas também *A. colombiana* e *R. clarus* promoveram o teor foliar de P. Já no PV1, além destas três linhagens, *A. morrowiae*, *D. heterogama* e *Gi. margarita* também estimularam o teor foliar de P.

Os resultados do teor de P nas folhas com material obtido de todas as folhas após colheita mostrou resultados similares àqueles da análise de P em discos amostrados da folha +1 aos 120 dias, evidenciando-se pouca divergência. Em ambas as análises, nas plantas do PV1 o teor de P foi favorecido pelos tratamentos *A. colombiana*, *A. morrowiae*, *D. heterogama*, *R. clarus* e *S. calospora*; e no PV2 por *A. colombiana*, *R. clarus* e *S. calospora*. A diagnose foliar (não destrutiva) para avaliar o estado nutricional de plantas de cana-de-açúcar apresenta várias limitações, incluindo entre estas o fato de apenas uma folha ser amostrada (Rossetto et al., 2010). Geralmente, a folha +1 (primeira folha com bainha visível) é coletada, e a análise é feita a partir de amostras compostas de aproximadamente 100 plantas. No caso da diagnose foliar realizada no presente trabalho por apenas um disco de 8 mm de diâmetro retirado da folha +1, mostrou boa concordância com os resultados obtidos analisando todas as folhas. Isto altamente indica a análise de disco de P para avaliações nutricionais da cana-de-açúcar em experimentos de inoculação desta cultura com FMAs em casa de vegetação.

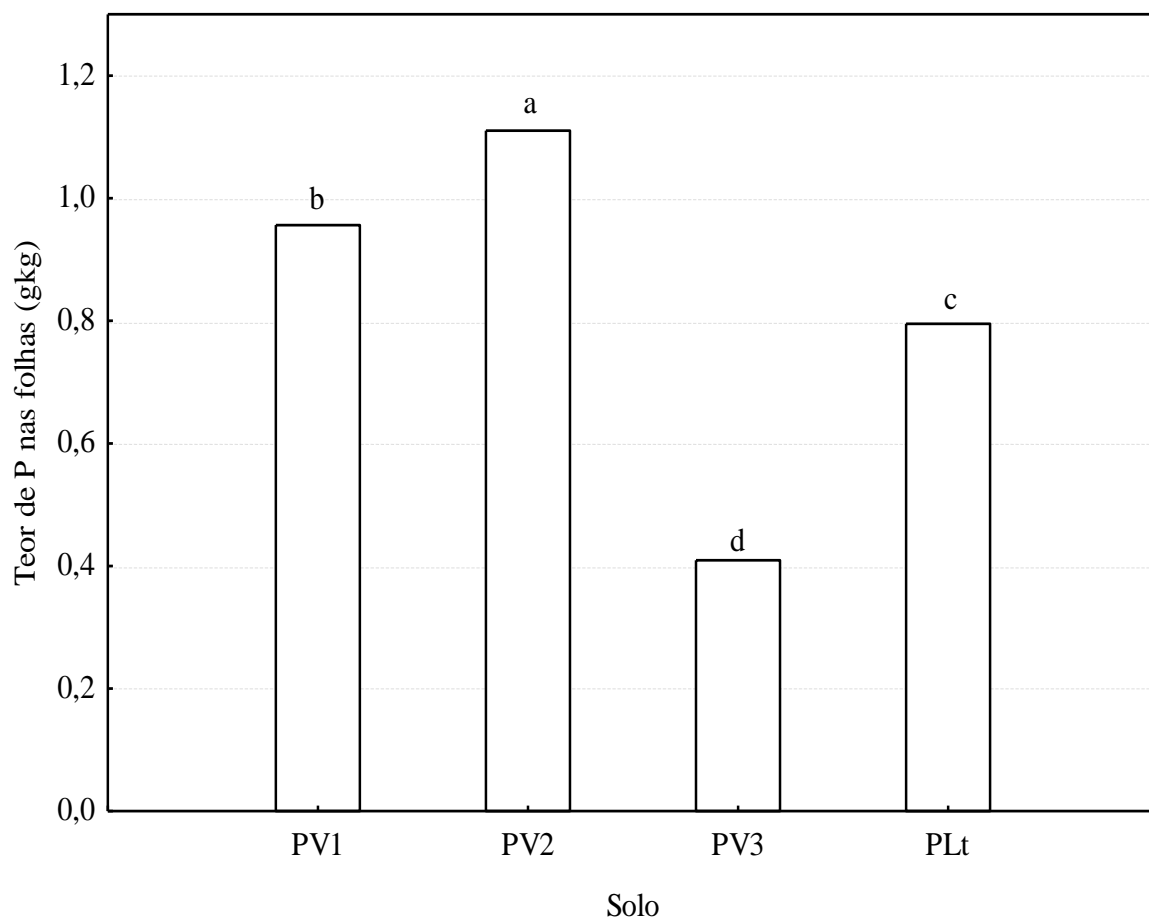


Figura 11. Teor de fósforo nas folhas de mudas de cana-de-açúcar cultivadas em diferentes solos aos 120 dias após o plantio. Efeito principal de solo. PV1: Argissolo da Área do Experimento I; PV2: Argissolo da Área do Experimento II; PV3: Argissolo Vermelho de Itumirim, MG; PLt: Planossolo do campo experimental "Terraço". Letras sobre as barras comparam as médias pelo teste de Scott Knott 5%.

Tabela 24. Teor de micronutrientes nas folhas de mudas de cana-de-açúcar inoculadas com diferentes fungos micorrízicos arbusculares em avaliações periódicas após o plantio. Efeito principal da inoculação e desdobramento dentro de cada solo.

Solos	Teor de micronutrientes nas folhas (mg/kg)				
	Cobre	Ferro	Zinco	Manganês	Boro
Efeito principal da inoculação					
ACOL	3,80 a	73,20 a	25,10 a	172,00 a	10,90 a
AMOR	4,50 a	130,80 a	31,75 a	176,10 a	11,40 a
ASCR	3,40 a	48,00 a	25,95 a	180,00 a	8,85 a
CETU	3,40 a	69,20 a	34,50 a	180,10 a	9,50 a
DHET	3,90 a	63,80 a	30,65 a	161,70 a	10,75 a
ECON	3,40 a	108,60 a	34,30 a	175,30 a	12,40 a
GMAR	3,70 a	43,00 a	26,70 a	164,20 a	10,60 a
RCLA	3,40 a	99,40 a	29,95 a	182,40 a	9,30 a
SCAL	3,60 a	71,40 a	39,75 a	173,00 a	13,35 a
TEST1	3,40 a	96,00 a	32,00 a	182,10 a	10,80 a
TEST2+Ad	2,90 a	97,80 a	30,35 a	170,00 a	10,50 a

Desdobramento da inoculação dentro do Argissolo do experimento I

ACOL	4,00 b	43,20 a	27,80 a	166,80 a	11,20 a
AMOR	5,60 a	43,20 a	39,40 a	138,40 a	10,00 a
ASCR	2,80 b	45,60 a	42,40 a	190,40 a	9,60 a
CETU	4,80 a	40,80 a	33,00 a	148,80 a	8,20 a
DHET	5,20 a	48,00 a	38,80 a	174,80 a	10,40 a
ECON	3,60 b	48,00 a	41,00 a	155,60 a	12,80 a
GMAR	5,60 a	44,00 a	35,00 a	128,00 a	6,00 a
RCLA	4,80 a	39,20 a	33,00 a	133,20 a	10,80 a
SCAL	2,80 b	48,80 a	37,60 a	147,60 a	12,80 a
TEST1	2,40 b	42,40 a	30,40 a	125,60 a	7,40 a
TEST2+Ad	2,80 b	49,60 a	44,20 a	149,60 a	10,80 a

Desdobramento da inoculação dentro do Argissolo do experimento II

ACOL	2,40 a	28,80 a	35,60 a	115,20 a	7,60 a
AMOR	4,40 a	30,40 a	33,20 a	124,00 a	4,60 a
ASCR	3,60 a	29,60 a	25,00 a	136,80 a	4,60 a
CETU	3,20 a	40,00 a	36,20 a	131,20 a	4,00 a
DHET	4,40 a	31,20 a	34,20 a	103,20 a	8,40 a
ECON	3,20 a	30,40 a	36,20 a	119,60 a	4,60 a
GMAR	2,80 a	36,00 a	17,60 a	117,20 a	4,80 a
RCLA	2,80 a	37,60 a	27,20 a	144,00 a	1,80 a
SCAL	4,00 a	29,60 a	33,40 a	102,00 a	7,40 a
TEST1	3,60 a	32,80 a	26,60 a	104,80 a	6,00 a
TEST2+Ad	2,80 a	32,80 a	36,20 a	139,20 a	3,40 a

Desdobramento da inoculação dentro do Argissolo Vermelho Escuro

ACOL	5,20 a	188,80 b	18,40 a	157,20 b	16,80 a
AMOR	5,20 a	421,60 a	26,60 a	200,80 a	22,60 a
ASCR	4,00 a	83,20 b	19,00 a	163,20 b	13,60 a
CETU	3,60 a	104,00 b	18,20 a	190,40 a	14,60 a
DHET	3,60 a	145,60 b	17,20 a	152,40 b	14,80 a
ECON	4,00 a	320,00 a	27,00 a	198,40 a	19,20 a
GMAR	3,60 a	57,60 b	16,40 a	184,80 a	16,40 a
RCLA	3,60 a	287,20 a	18,60 a	211,20 a	16,20 a
SCAL	4,40 a	168,80 b	28,00 a	209,20 a	18,80 a
TEST1	5,20 a	277,60 a	23,60 a	250,00 a	15,80 a
TEST2+Ad	2,80 a	281,60 a	25,40 a	158,00 b	18,60 a

Desdobramento da inoculação dentro do Planossolo do Terraço

ACOL	3,60 a	32,00 a	18,60 a	248,80 a	8,00 a
AMOR	2,80 a	28,00 a	27,80 a	241,20 a	8,40 a
ASCR	3,20 a	33,60 a	17,40 a	229,60 a	7,60 a
CETU	2,00 a	92,00 a	50,60 a	250,00 a	11,20 a
DHET	2,40 a	30,40 a	32,40 a	216,40 a	9,40 a
ECON	2,80 a	36,00 a	33,00 a	227,60 a	13,00 a
GMAR	2,80 a	34,40 a	37,80 a	226,80 a	15,20 a
RCLA	2,40 a	33,60 a	41,00 a	241,20 a	8,40 a
SCAL	3,20 a	38,40 a	60,00 a	233,20 a	14,40 a
TEST1	2,40 a	31,20 a	47,40 a	248,00 a	14,00 a
TEST2+Ad	3,20 a	27,20 a	15,60 a	233,20 a	9,20 a

ACOL: *A. colombiana*; AMOR: *A. morrowiae*; ASCR: *A. scrobiculata*; CETU: *C. etunicatum*; DHET: *D. heterogama*; ECON: *E. contigua*; GMAR: *Gi. margarita*; RCLA: *R. clarus*; SCAL: *S. calospora*; TEST1: Testemunha não inoculada; TEST2+Ad: Testemunha não inoculada com adubação recomendada. Letras nas colunas, dentro de cada solo, comparam as médias pelo teste de Scott Knott 5%.

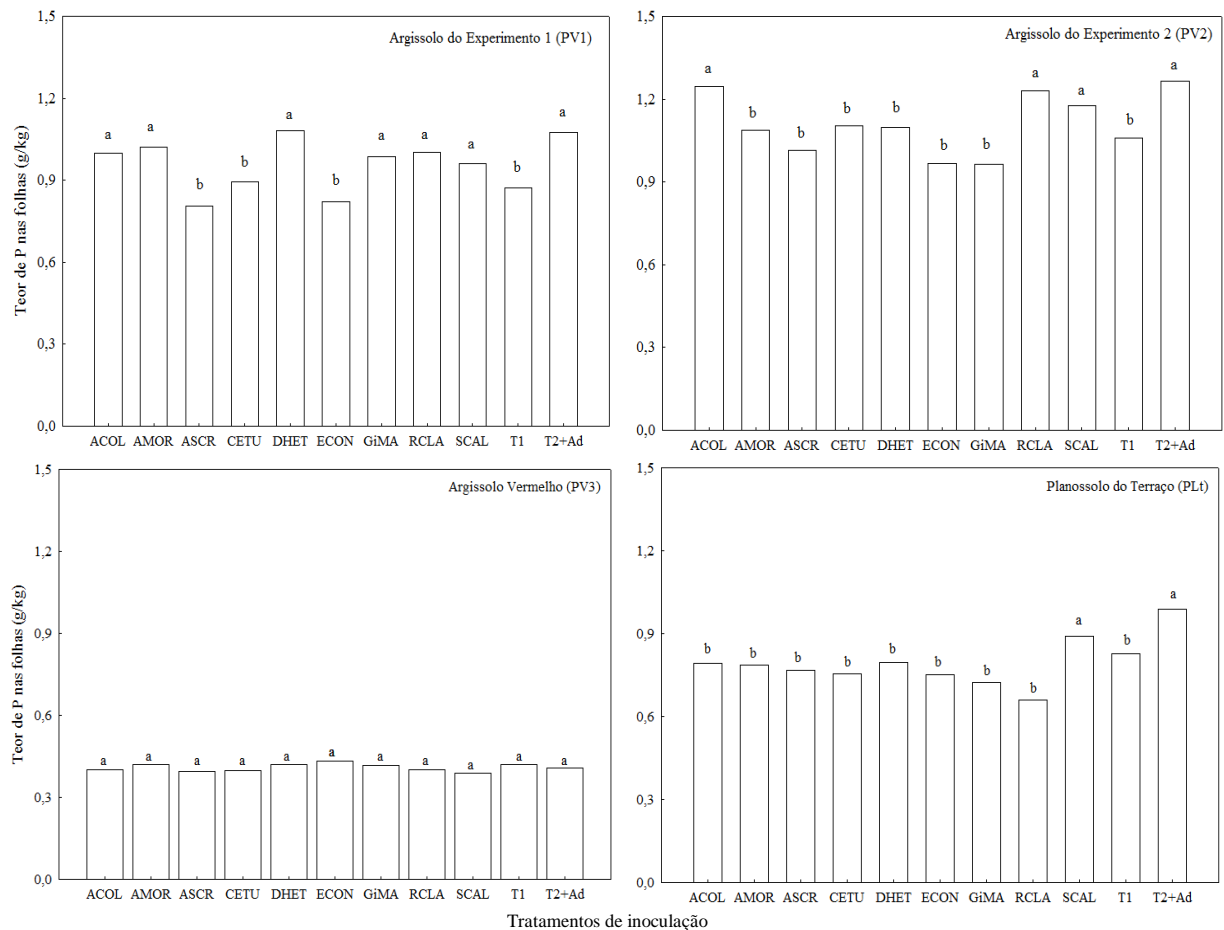


Figura 12. Teor de fósforo nas folhas de mudas de cana-de-açúcar inoculadas com diferentes fungos micorrízicos arbusculares aos 120 dias após o plantio. Desdobramento dentro de cada solo. ACOL: *A. colombiana*; AMOR: *A. morrowiae*; ASCR: *A. scrobiculata*; CETU: *C. etunicatum*; DHET: *D. heterogama*; ECON: *E. contigua*; GMAR: *Gi. margarita*; RCLA: *R. clarus*; SCAL: *S. calospora*; TEST1: Testemunha não inoculada; TEST2+Ad: Testemunha não inoculada com adubação recomendada. Letras sobre as barras, dentro de cada solo, comparam as médias pelo teste de Scott Knott 5%.

A avaliação da colonização radicular das plantas do experimento mostrou as estruturas típicas dos FMAs, mas também a presença abundante de fungos endófitos septados escuros (*Dark septate endophytes* - DSE) (Figura 13). O conhecimento sobre os DSE e sua função em promover o crescimento de plantas tem sido foco de alguns estudos (Mandyam & Jumpponen, 2015), mas ainda é muito pouco o que se conhece sobre este grupo de fungos. Sua coexistência com FMAs tem sido registrada por alguns autores em vários grupos de plantas, (Zubek et al., 2009; Zubek et al., 2011; García et al., 2012; Muthuraja et al., 2014; Seerangan & Thangavelu, 2014; Nagaraj et al., 2015). Entre os poucos estudos encontrados sobre a relação desses fungos com cana-de-açúcar estão de Nasim et al. (2008), no qual foram observados DSE em 80% das amostras de raízes tomadas, sugerindo terem um papel no biocontrole de doenças em cana. Mais recentemente, Xie et al. (2013) avaliaram a inoculação de seis linhagens de fungos DSE de origem japonesa em promover o crescimento de mudas de cana-de-açúcar, verificando a capacidade desses fungos, e particularmente da linhagem LtVB3 (*Meliniomyces variabilis*) de aumentarem 69 e 57% a altura e a massa das mudas, respectivamente, comparada com o controle não inoculado.

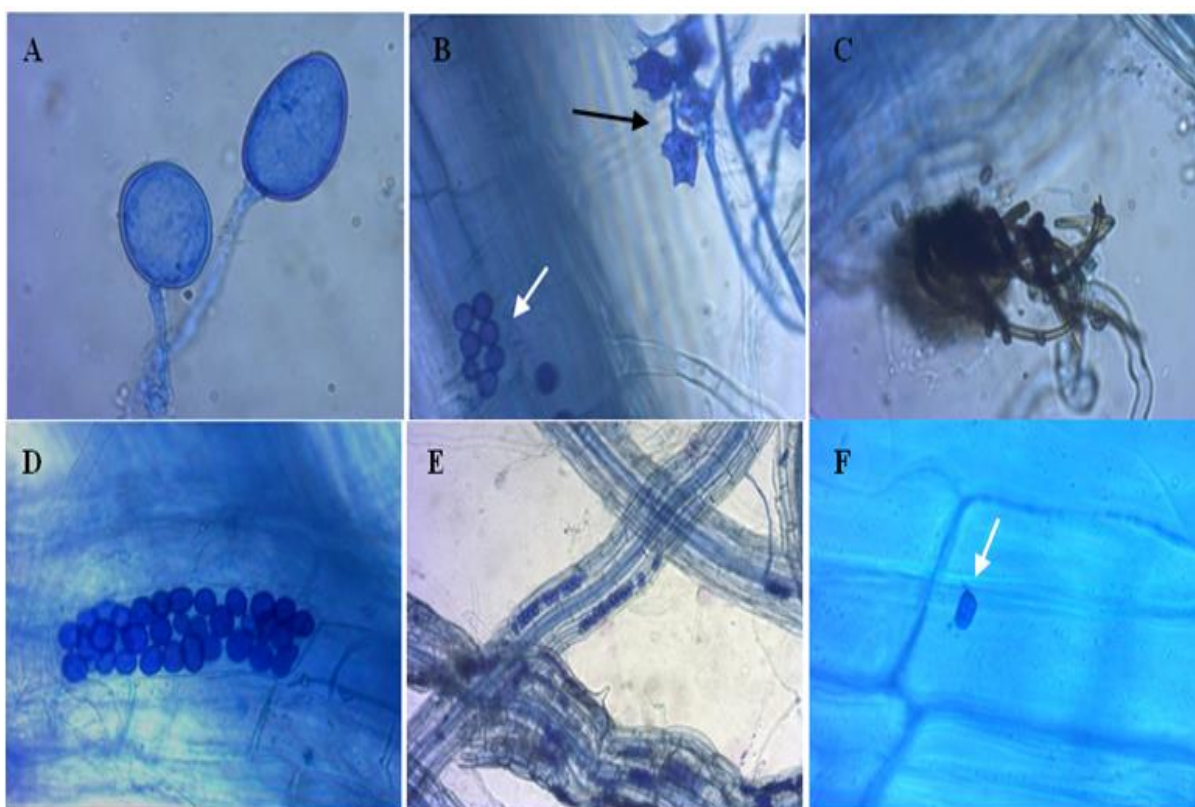


Figura 13. Estruturas fúngicas visualizadas nas raízes (A-E) e colmo (F) coloridos de mudas de cana-de-açúcar inoculadas com diferentes fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) aos 120 dias após o plantio. **A:** Esporos glomóides; **B:** Células auxiliares de FMAs (seta preta) e estruturas de *Dark Septate Endophytes* (DSE) (seta branca); **C:** Hifas enveladas de DSE; **D:** Microescleródios de DSE; **E:** Aspecto da colonização radicular por DSE; **F:** Estrutura similar aos DSE (seta branca) observada em cortes de colmo próximos às gemas.

A presença de abundante colonização radicular por DSE no presente experimento deve-se a algumas possibilidades de infecção. Uma delas é que a fonte tenha sido os solos utilizados no experimento, já que estes não foram autoclavados e apenas sofreram um processo de redução da comunidade nativa de FMAs por vapores de formaldeído e solarização, o que não é suficiente para eliminar todos os propágulos de fungos do solo. Outra possibilidade é que esses fungos tenham sido introduzidos junto com o solo-inóculo utilizado para inocular os FMAs. Uma terceira alternativa é que esse fungo tenha sido introduzido com a água de irrigação filtrada para reter esporos de FMAs. E a quarta possibilidade é que esses fungos tenham sido introduzidos pelas próprias gemas da cana-de-açúcar utilizadas para pré-brotar as mudas utilizadas. Alguns cortes posteriores feitos em colmos de cana-de-açúcar evidenciaram a presença de estruturas de fungos semelhantes aos DSE no tecido próximo à gema (Figura 13F). Isto sugere que a própria gema da cana-de-açúcar possa ser a principal fonte de entrada para a colonização dos DSE nas mudas. Diversos autores relatam a ocorrência de endófitos em vários órgãos vegetais (Peterson et al., 2004). De modo particular, os DSE têm sido detectados apenas ocupando raízes de plantas. Não obstante, a sua ocorrência nos colmos de cana-de-açúcar não deve ser descartada, mas precisa de estudos futuros para a sua comprovação.

Verificou-se a influência dos tipos de solo, dos tratamentos de inoculação e da interação solo x inoculação sobre a porcentagem de colonização radicular (Anexo I). O

efeito dos solos é apresentado na Figura 14. A colonização por DSE alcançou seus máximos valores nas plantas do PV3 e PV2, (100 e 97%, respectivamente) e foi menor naquelas do PLt (59%). A colonização por FMAs e DSE, de forma conjunta, foi maior nas plantas do PV2 (27%) e menor naquelas do PLt (7%) (Figura 14). A colonização de FMAs total (incluindo a colonização apenas por FMAs) diferiu muito pouco da colonização por FMAs+DSE, sendo que os maiores valores foram nas plantas do PV2 e PV1 (27 e 22%, respectivamente) e a menor naquelas do PLt (9%).

A porcentagem de colonização das raízes por FMAs foi baixa quando comparada à colonização por DSE (Figura 14). Enquanto a primeira não ultrapassou valores médios de 27%, a segunda chegou a ser de até 100%. A colonização por FMAs praticamente ocorreu apenas acompanhada pela de DSE. Desta forma, apesar de ter sido verificada coexistência de ambos grupos fúngicos, observou-se uma prevalência dos DSE nas raízes de cana-de-açúcar da variedade SP81-3250.

O efeito dos tratamentos de inoculação dentro de cada solo para a colonização por DSE é apresentado na Figura 15. Nas plantas dos PV2 e PV3, a porcentagem de colonização por DSE mostrou valores sempre superiores a 85%, com independência do tratamento de inoculação. No caso das plantas de cana correspondentes ao PV1 e PLt a inoculação com algumas espécies de FMAs aparentemente teve um efeito inibitório sobre a colonização por DSE. No primeiro destes solos (PV1) a inoculação das mudas de cana com *A. scrobiculata*, *Gi. margarita* e *R. clarus* propiciou valores de colonização por DSE dentre 60 e 70%, sendo que nos restantes tratamentos a ocupação por DSE foi sempre superior a 80%. Por outro lado, nas plantas do PLt a menor ocorrência de DSE esteve relacionada à inoculação com *A. colombiana*, *A. scrobiculata*, *C. etunicatum* e *S. calospora*, assim como à testemunha sem adubação. Nas plantas desses tratamentos a colonização por DSE oscilou entre 10 e 50%, sendo que nos restantes tratamentos sempre ultrapassou 75%.

O efeito dos tratamentos de inoculação dentro de cada solo para a colonização por FMAs + DSE e por FMAs total (incluindo a exclusiva de FMAs) é apresentado na Figura 16. A colonização por FMAs+DSE foi em geral maior nas linhagens *A. colombiana*, *D. heterogama* e *S. calospora*. Não foi influenciado pelos tratamentos no solo PLt. A colonização total por FMAs no PV1 foi maior nos tratamentos inoculados com *D. heterogama*, seguido de *A. colombiana*, *A. morrowiae* e *R. clarus*. No PV2 foi maior em *A. colombiana*, *D. heterogama*, *R. clarus* e *S. calospora*; no PV3 por *A. colombiana*, *D. heterogama*, *S. calospora*; e no PLt por *S. calospora*.

Os estudos abordando a interação tripla FMA:DSE:plantas são ainda escassos (Mónica et al., 2015). Como referido acima, alguns trabalhos reportam o compartilhamento de nicho por ambos simbioses. Porém, poucas pesquisas têm visado avaliar possíveis vínculos entre os FMAs e os DSE. Um dos trabalhos pioneiros no tema foi desenvolvido por Scervino et al., (2009). Os autores, verificaram o efeito de várias concentrações de exsudatos de um isolado de *Dreschlera* sp. (DSE) sobre o desenvolvimento da espécie de FMA *Gigaspora rosea*. Detectaram assim que os referidos exsudatos, dependendo da sua concentração, representam moduladores do desenvolvimento hifal, podendo estimular ou inibir o crescimento das hifas de FMAs.

O resumo das análises de variância da densidade de glomerosporos totais, dos fungos inoculados e por espécie na rizosfera das mudas de cana após 120 dias de cultivo é apresentada no Anexo J. O efeito de solo nos glomerosporos totais e dos fungos inoculados é apresentado na Figura 17. Observa-se que o solo PV2 apresentou maior densidade de glomerosporos totais que o PV1 e esse por sua vez maior que os solos PLt e PV3. Em relação aos glomerosporos dos fungos inoculados, verifica-se que nos solos PV2 e PLt foi maior que nos outros dois solos.

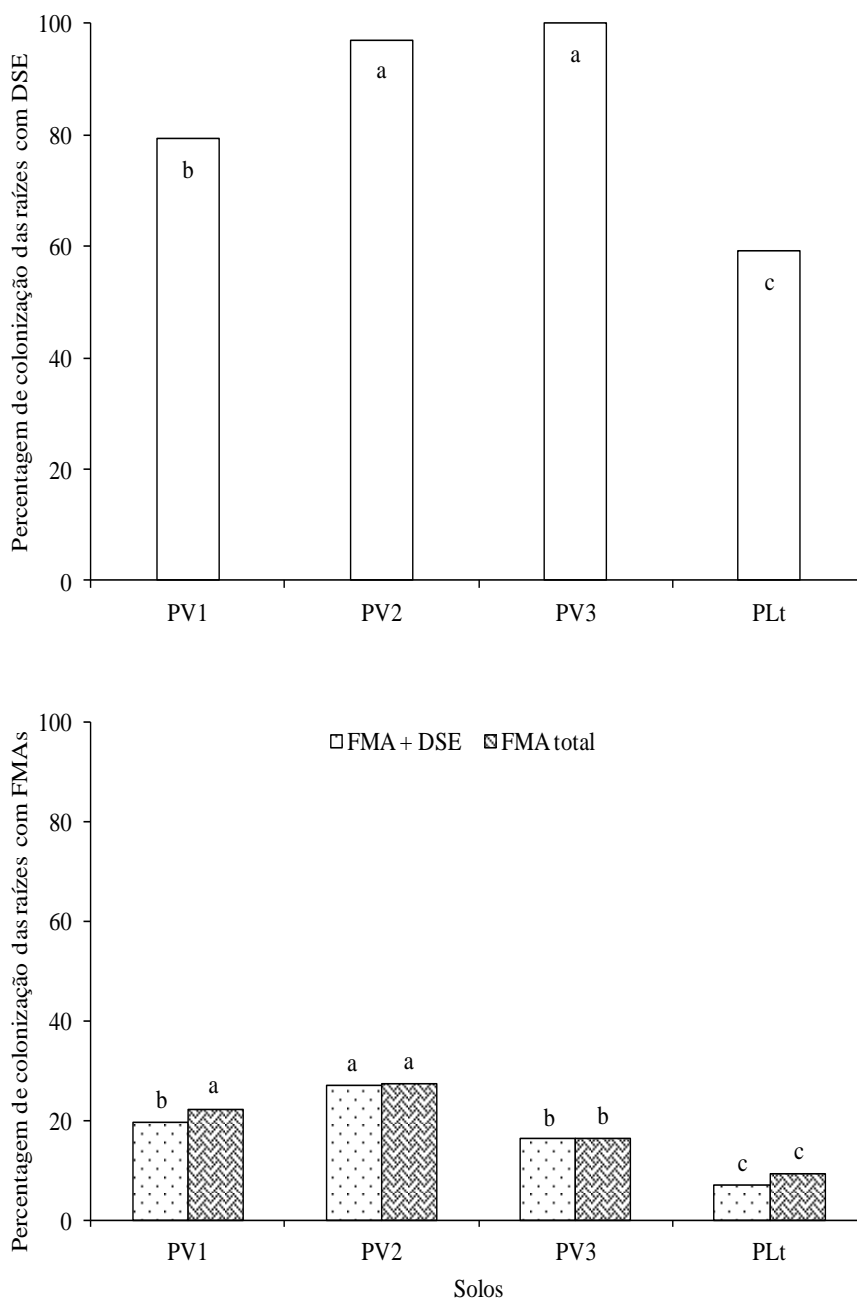


Figura 14. Taxa de colonização radicular por endófitos septados escuros (*Dark Septate Endophytes* - DSE) e por fungos micorrízicos arbusculares (FMA) em mudas de cana-de-açúcar cultivadas em diferentes solos aos 120 dias após o plantio. Efeito principal de solo. DSE: colonização total de DSE incluindo DSE na presença de FMA (FMA+DSE); FMA total: Colonização total de FMA incluindo FMA+DSE e apenas FMA. **PV1**: Argissolo da Área do Experimento I; **PV2**: Argissolo da Área do Experimento II; **PV3**: Argissolo Vermelho de Itumirim, MG; **PLt**: Planossolo do campo experimental "Terraço". Letras em barras de mesma cor comparam as médias pelo teste de Scott Knott 5%.

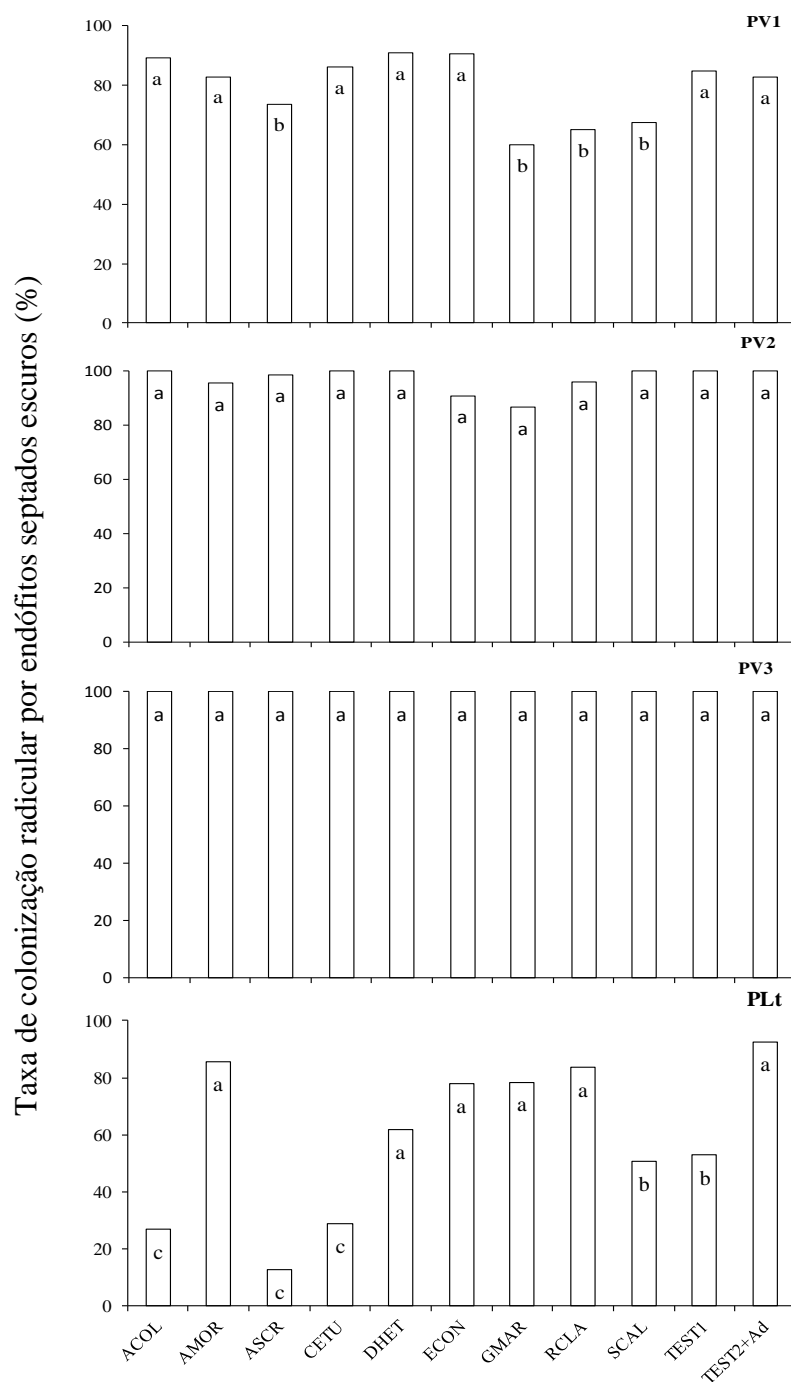


Figura 15. Taxa de colonização radicular por endófitos septados escuros (*Dark Septate Endophytes* - DSE) em mudas de cana-de-açúcar inoculadas com diferentes fungos micorrízicos arbusculares aos 120 dias após o plantio. Desdobramento dentro de cada solo. Barras cinzas: colonização apenas por DSE. Barras hachuradas: colonização total de DSE incluindo DSE na presença de fungos micorrízicos arbusculares. ACOL: *A. colombiana*; AMOR: *A. morrowiae*; ASCR: *A. scrobiculata*; CETU: *C. etunicatum*; DHET: *D. heterogama*; ECON: *E. contigua*; GMAR: *Gi. margarita*; RCLA: *R. clarus*; SCAL: *S. calospora*; TEST1: Testemunha não inoculada; TEST2+Ad: Testemunha não inoculada com adubação recomendada. Letras em barras da mesma cor, dentro de cada solo, comparam as médias pelo teste de Scott Knott 5%.

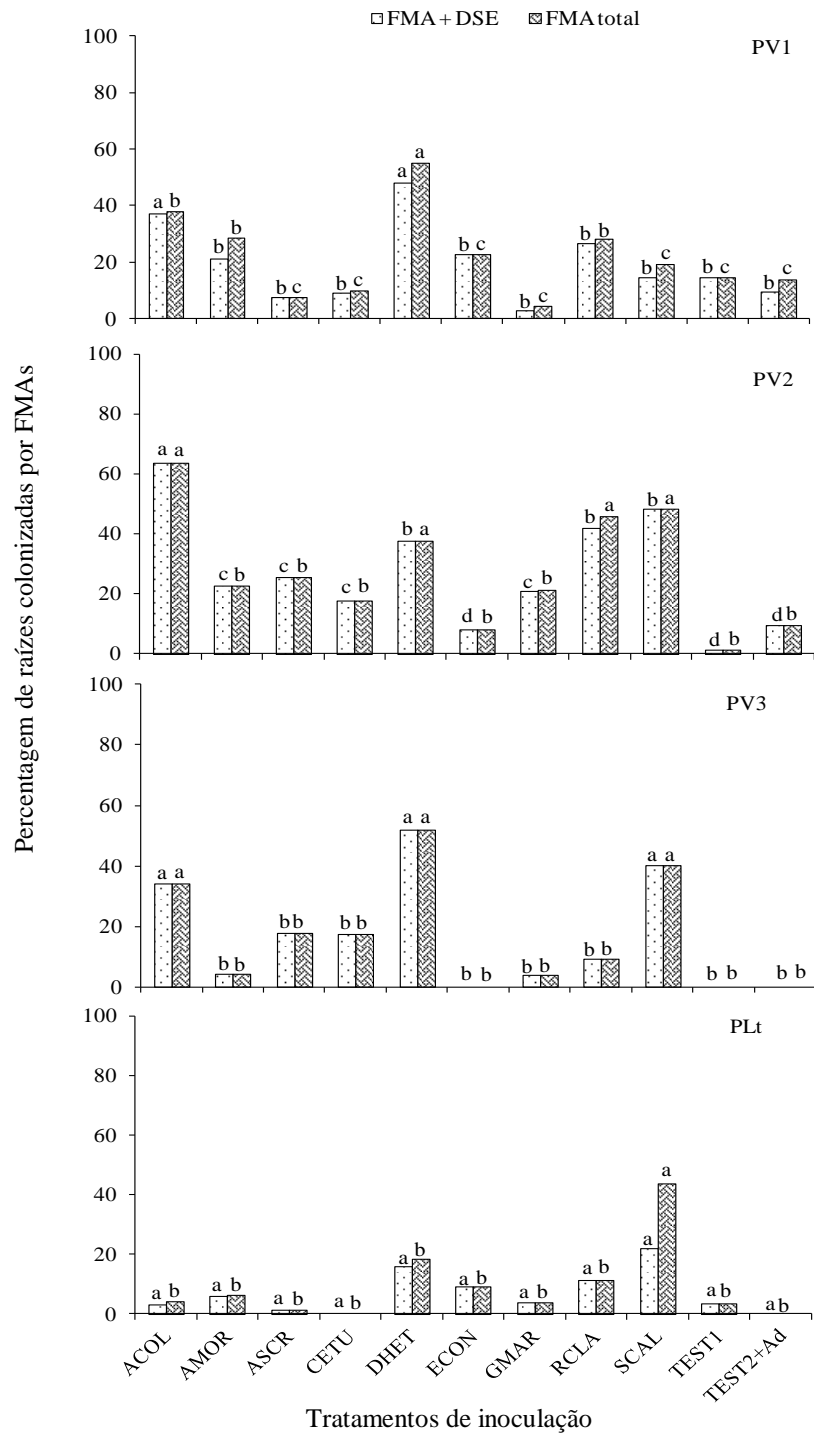


Figura 16. Taxa de colonização radicular por fungos micorrízicos arbusculares (FMA) em mudas de cana-de-açúcar inoculadas com diferentes fungos micorrízicos arbusculares aos 120 dias após o plantio. Desdobramento dentro de cada solo. Barras com pontos: colonização associada de FMA e endófitos septados escuros (Dark Septate Endophytes - DSE). Barras texturizada: colonização total de FMA incluindo apenas FMA e FMA + DSE. ACOL: *A. colombiana*; AMOR: *A. morrowiae*; ASCR: *A. scrobiculata*; CETU: *C. etunicatum*; DHET: *D. heterogama*; ECON: *E. contigua*; GMAR: *Gi. margarita*; RCLA: *R. clarus*; SCAL: *S. calospora*; TEST1: Testemunha não inoculada; TEST2+Ad: Testemunha não inoculada com adubação recomendada. Letras em barras da mesma cor, dentro de cada solo, comparam as médias pelo teste de Scott Knott 5%.

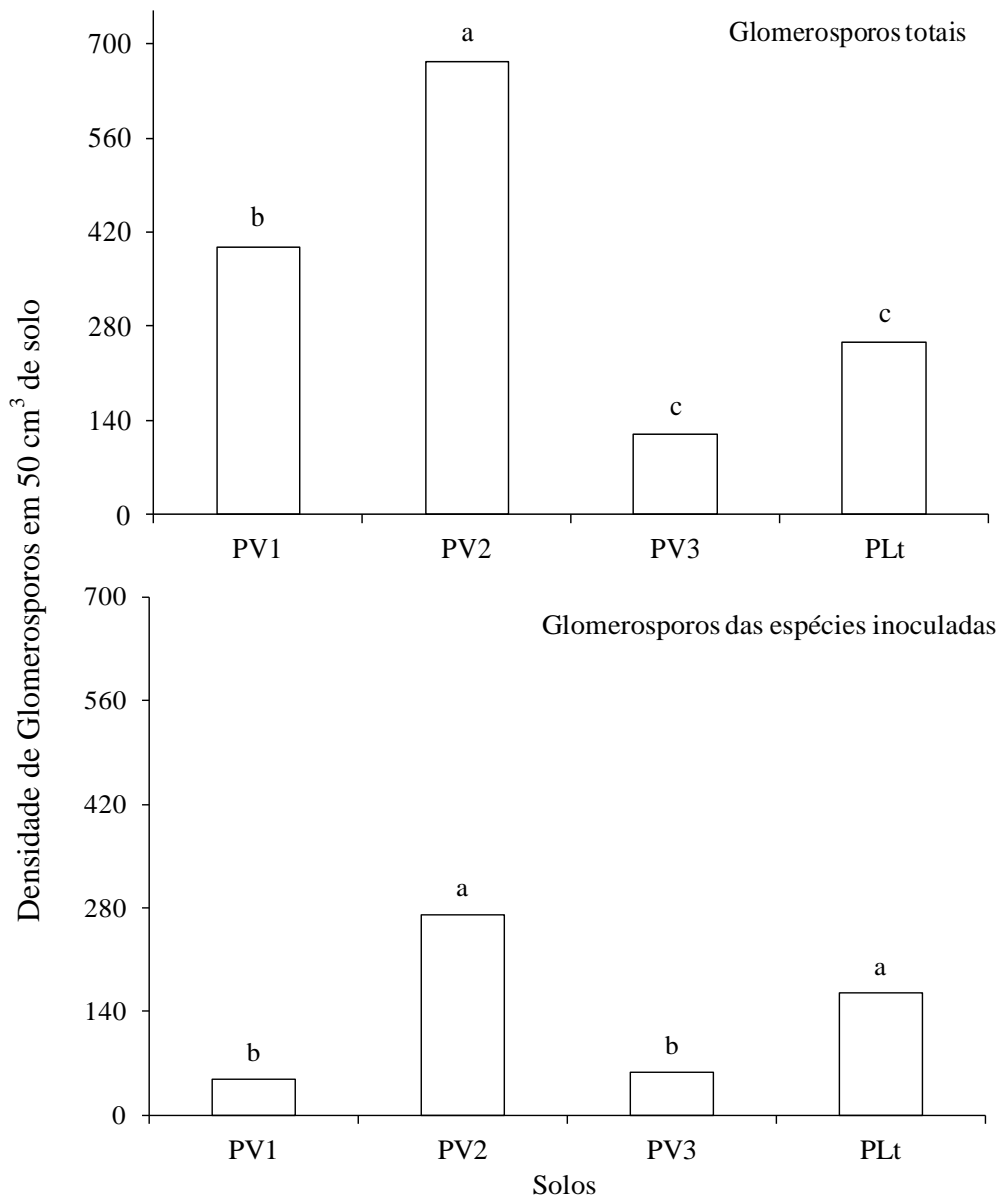


Figura 17. Densidade de esporos de fungos micorrízicos arbusculares (Glomerosporos) em mudas de cana-de-açúcar cultivadas em diferentes solos aos 120 dias após o plantio. Efeito principal de solo. PV1: Argissolo da Área do Experimento I; PV2: Argissolo da Área do Experimento II; PV3: Argissolo Vermelho de Itumirim, MG; PLt: Planossolo do campo experimental "Terraço". Letras comparam as médias pelo teste de Scott Knott 5%.

O efeito de solo na densidade de glomeroporos de diferentes espécies é apresentado na Figura 18. Nas Figuras 18A e 18B verifica-se que houve esporulação abundante de *Rhizophagus diaphanus* no PV1 (271 esporos/50 mL) e de *A. morrowiae* no PV2 (434 esporos/50 mL). O fungo *R. diaphanus* não foi inoculado, e como ocorreu particularmente no PV1, sugere sua presença abundante nesse solo como espécie nativa, e que se adapta bem a esporular com cana-de-açúcar. Esse fungo pode ter sido o responsável pela melhor resposta em crescimento da cana-de-açúcar nesse solo, apesar deste solo apresentar uma fertilidade intermediária entre o PV2 e o PLt. Deve ser um fungo presente na pastagem de capim baquiária a que esse solo foi submetido antes de sua coleta e que se adaptou bem a cana-de-açúcar. Esse fungo foi isolado e será avaliado em experimentação futura com cana-de-açúcar.

Já *A. morrowiae* apresentou alta esporulação na cana-de-açúcar, mas frequentemente estava entre os tratamentos de inoculação que promoviam pouco crescimento. Fungos que conseguem se associar abundantemente às raízes e esporular muito podem não ser eficientes em promover o crescimento da planta (Feldmann & Boyle, 1999). Isto pode ter ocorrido com *A. morrowiae* que apresentou elevada esporulação e colonização no PV2, mas que não promoveu maior desenvolvimento das plantas. Porém, outras funções da simbiose desta espécie de FMA na cana-de-açúcar não devem ser descartadas precisando de futuros estudos. Níveis elevados na esporulação de *A. morrowiae* poderiam estar associados a melhoras na estrutura do solo através de uma maior produção de glomalina.

A esporulação de *C. etunicatum* ocorreu quase que exclusivamente no solo PV2, mas devido a sua variabilidade seu resultado médio (46 esporos/50mL de solo) não diferiu estatisticamente de sua baixa ocorrência nos outros solos. *A. colombiana* esporulou mais no PLt e PV3 que no PV1 e PV2 (Figura 18C), sugerindo ser mais adaptada a solos de baixa fertilidade. *Glomus* sp. (espécie também não inoculada) e *Gi. margarita* esporularam mais no PV2 (Figuras 18G e 18H), porém apresentando baixo número de esporos (4 e 6 esporos/50 cm³ de solo, respectivamente). A esporulação de *A. mellea* e *A. scrobiculata* foi baixa (Figura 18I e 18J) e não diferiu entre os solos.

O efeito dos tratamentos de inoculação dentro de cada solo na densidade de glomeroporos totais e dos fungos inoculados é apresentado na Figura 19. No PV1 e no PV3 não se observou diferença na esporulação entre os diferentes tratamentos de inoculação. Mas no PV2 e no PLt a esporulação total foi maior nos tratamentos inoculados com *A. morrowiae* e *C. etunicatum* devido à presença de grande quantidade de esporos de *A. morrowiae* nesses tratamentos. A grande esporulação de *A. morrowiae* associada ao tratamento de *C. etunicatum* sugere que esse inoculante pudesse estar contaminado com esporos dessa espécie, que em cana-de-açúcar apresenta alta esporulação. Essa ocorrência de *A. morrowiae* no tratamento inoculado com *C. etunicatum* pode ser melhor observado na Figura 20 que mostra a densidade de glomeroporos por espécies de FMAs comparando os tratamentos de inoculação. Por outro lado, a ocorrência de *Glomus* sp. foi associada à inoculação com *R. clarus*, fungo esse que não esporulou em cana-de-açúcar, não sendo recuperado na rizosfera desta planta após 120 dias de cultivo. As demais espécies de fungos que apresentaram efeito significativo são apresentadas na Figura 20 e esporularam dentro dos tratamentos onde foram inoculados.

Os tratamentos de inoculação que em geral promoveram maior crescimento das mudas de cana-de-açúcar até os 60 dias do plantio, enquanto havia espaço para o volume radicular, foram *A. colombiana*, *C. etunicatum* e *Gi. margarita*. Aos 120 dias os tratamentos de inoculação foram muito uniformizados. Tratamentos que na fase inicial mostravam boa resposta (como *Gi. margarita*, *C. etunicatum*, *S. calospora* e *R. clarus*) em crescimento da cana, quando houve a limitação do vaso tenderam até em apresentar efeito contrário, possivelmente por limitação em promover benefícios a planta em troca do dreno de fotossintatos.

O efeito dos tratamentos na nutrição fosfatada em discos de folha da cana-de-açúcar foi altamente dependente do solo, sendo observado apenas nos dois solos com maior nível de P disponível (PV1 e PV2). No PV1 destacaram-se os tratamentos inoculados com *A. colombiana*, *C. etunicatum*, *D. heterogama* e *R. clarus* em promover a nutrição fosfatada, já no PV2 apenas *A. colombiana* e *C. etunicatum* apresentaram efeito mais consistente. Como no tratamento de *C. etunicatum* estava muito presente *A. morrowiae* e na inoculação desta espécie, o tratamento não foi muito eficiente, acredita-se que a linhagem de *A. morrowiae* que ocorreu junto com *C. etunicatum* seja diferente da inoculada no tratamento de *A. morrowiae*, ou que a presença conjunta dessas duas espécies tenha um efeito favorável ao crescimento e nutrição da cana. Os resultados de teor de P nas folhas ao final do experimento, confirmaram em grande extensão esses resultados.

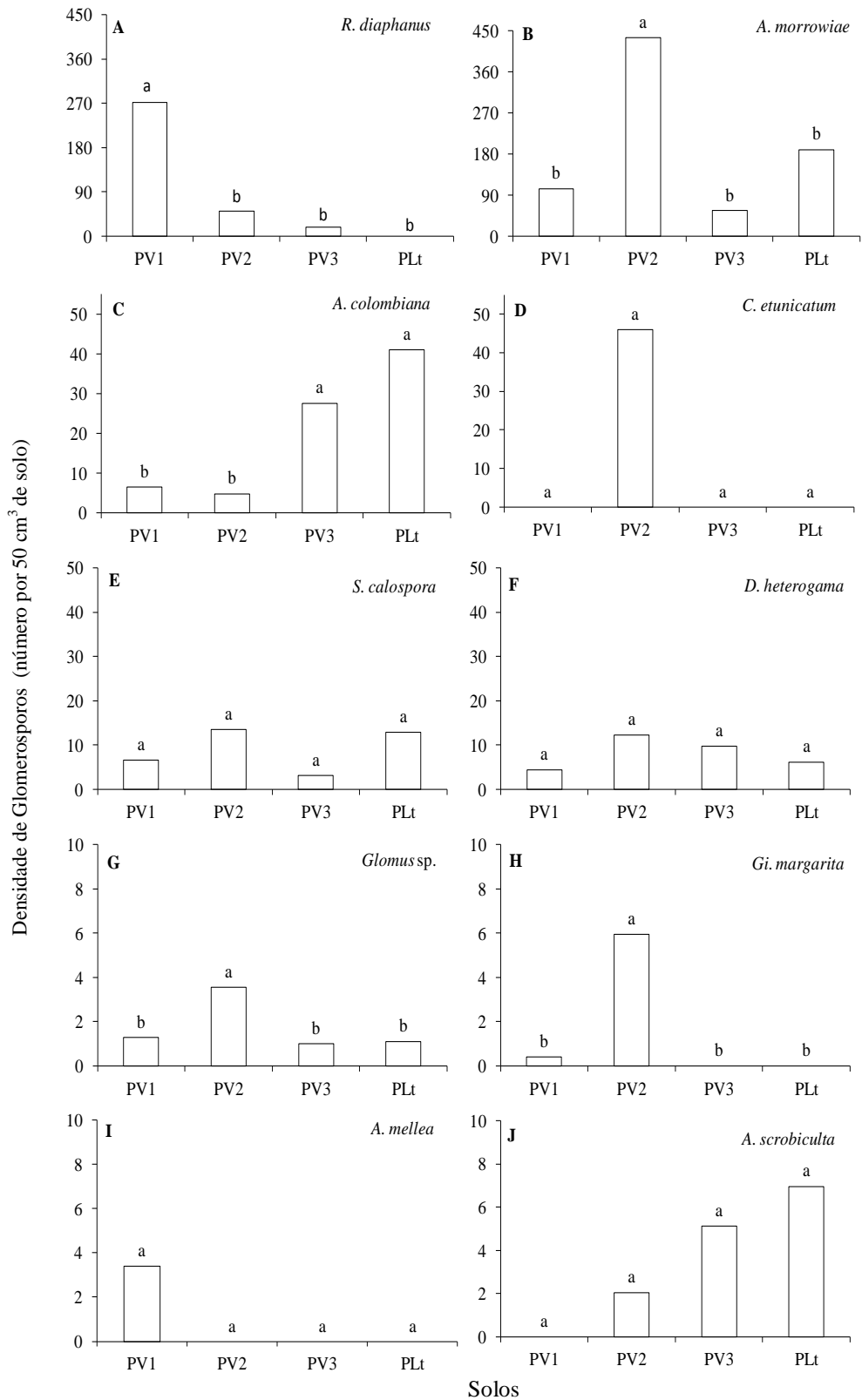


Figura 18. Densidade de glomerosporos de diferentes espécies fungos micorrízicos arbusculares recuperadas na rizosfera de mudas de cana-de-açúcar cultivadas em diferentes solos aos 120 dias após o plantio. Efeito principal de solo. PV1: Argissolo da Área do Experimento I; PV2: Argissolo da Área do Experimento II; PV3: Argissolo Vermelho de Itumirim, MG; PLt: Planossolo do campo experimental "Terraço". Letras comparam as médias pelo teste de Scott Knott 5%.

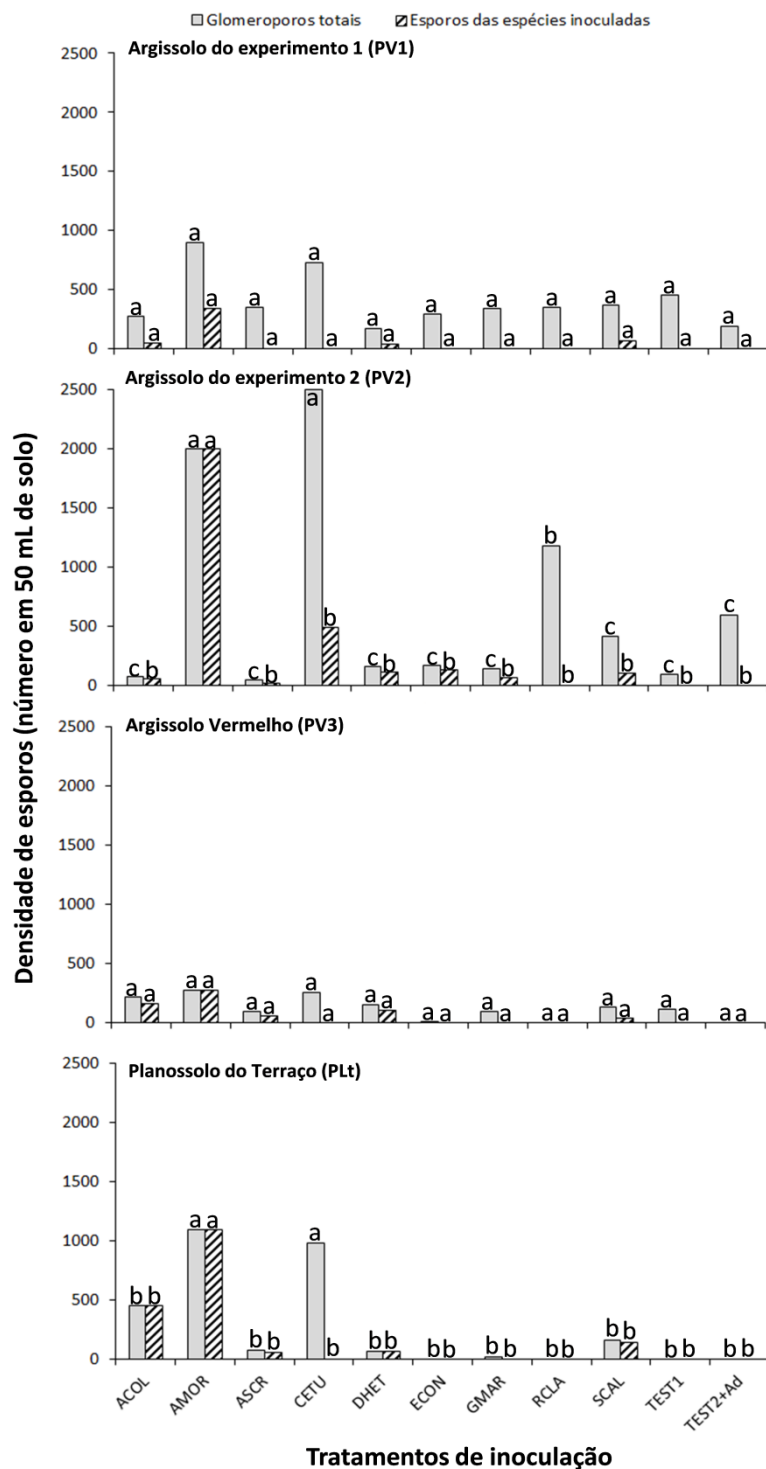


Figura 19. Densidade de esporos de fungos micorrízicos arbusculares (Glomerosporos) em mudas de cana-de-açúcar inoculadas com diferentes fungos micorrízicos arbusculares aos 120 dias após o plantio. Desdobramento dentro de cada solo. ACOL: *A. colombiana*; AMOR: *A. morrowiae*; ASCR: *A. scrobiculata*; CETU: *C. etunicatum*; DHET: *D. heterogama*; ECON: *E. contigua*; GMAR: *Gi. margarita*; RCLA: *R. clarus*; SCAL: *S. calospora*; TEST1: Testemunha não inoculada; TEST2+Ad: Testemunha não inoculada com adubação recomendada. Letras em barras da mesma cor, dentro de cada solo, comparam as médias pelo teste de Scott Knott 5%.

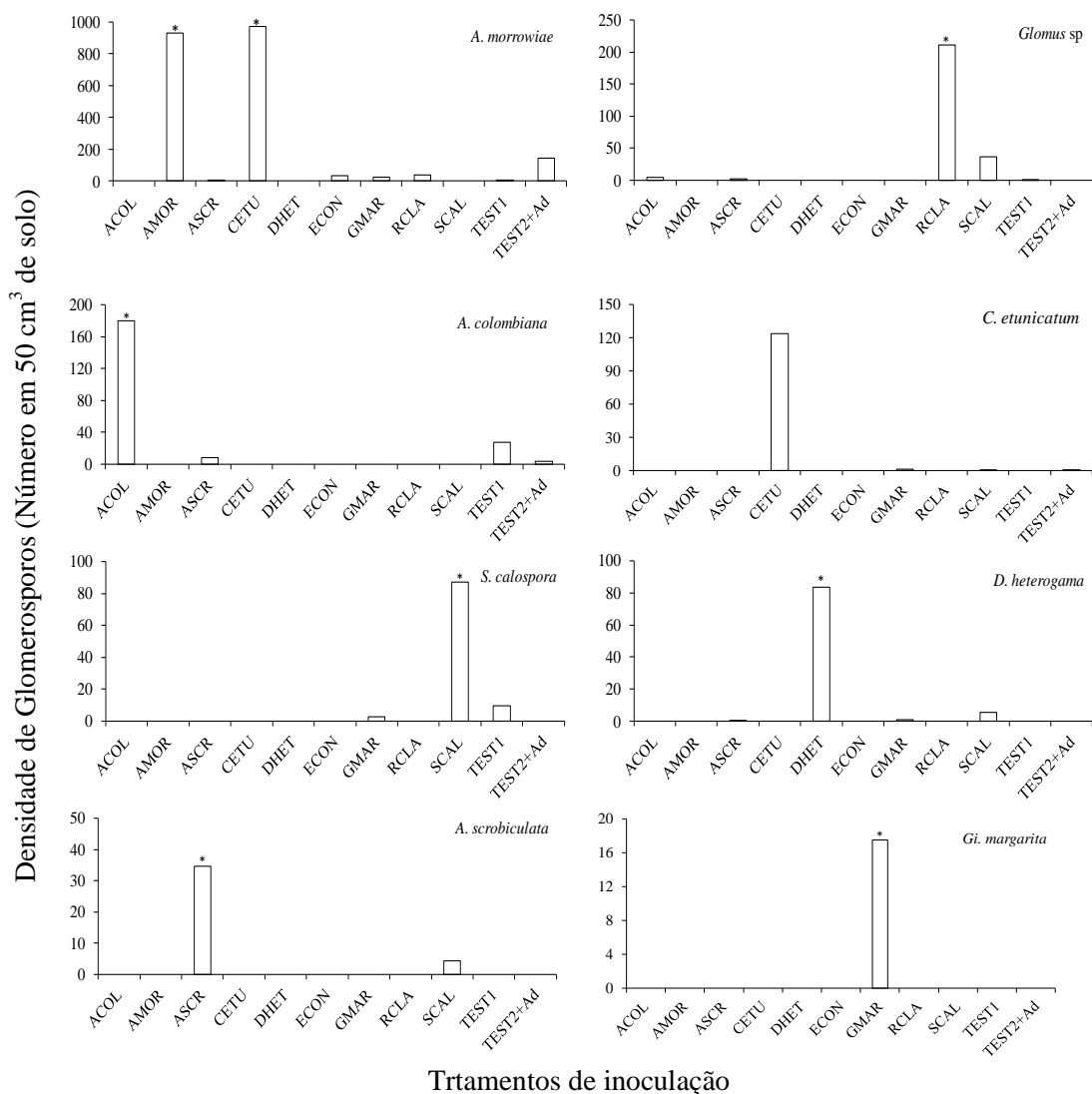


Figura 20. Densidade de glomerosporos de diferentes espécies fungos micorrízicos arbusculares recuperadas na rizosfera de mudas de cana-de-açúcar inoculadas com diferentes fungos micorrízicos arbusculares aos 120 dias após o plantio. Efeito principal dos tratamentos de inoculação. ACOL: *A. colombiana*; AMOR: *A. morrowiae*; ASCR: *A. scrobiculata*; CETU: *C. etunicatum*; DHET: *D. heterogama*; ECON: *E. contigua*; GMAR: *Gi. margarita*; RCLA: *R. clarus*; SCAL: *S. calospora*; TEST1: Testemunha não inoculada; TEST2+Ad: Testemunha não inoculada com adubação recomendada. Asteriscos indicam tratamento superior aos demais pelo teste de Scott Knott 5%.

4.4 Seleção de Espécies de FMAs para Inoculação de Cana-de-Açúcar em Diferentes Substratos

No experimento realizado em casa de vegetação para selecionar linhagens de FMAs para inoculação de mudas pré-brotadas (MBPs) de cana-de-açúcar em diferentes substratos a maioria absoluta das variáveis estudadas apresentaram interação significativa entre os fatores substrato e inoculação.

Através da avaliação periódica (20 e 40 dias após o plantio) de variáveis biométricas das MPB (altura, diâmetro do colmo e número de folhas) foi verificado efeito do tipo de

substrato, dos tratamentos de inoculação e da interação entre esses fatores (Anexo K). De modo geral, os maiores valores de altura, diâmetro do colmo e número de folhas foram verificados nas plantas crescidas nos substratos Multiplant e Turfa Fértil (Tabela 25). Por outro lado, o substrato proveniente da usina, gerou o menor crescimento da parte aérea das plantas.

Em relação aos efeitos dos tratamentos de inoculação (Tabela 26), verifica-se que dentro do substrato Fazendinha, foram pequenos e pouco consistentes, praticamente invertendo os efeitos entre as duas épocas de avaliação (20 e 40 dias após o transplante). Isso sugere que as diferenças entre os tratamentos de inoculação nesse substrato sejam efeitos do acaso. Os tratamentos que apresentaram reduções no crescimento mais consistentes foram os inoculados com a mistura de FMAs e a testemunha não inoculada fertilizada com a adubação completa para formação de MPB. Dentro do substrato Multiplant os efeitos foram mais consistentes. As plantas inoculadas com *A. morrowiae*, *Gi. margarita* e a testemunha não inoculada com adubação completa apresentaram os menores crescimentos em altura e diâmetro do colmo. No substrato Turfa Fértil somente a testemunha não inoculada com adubação completa apresentou, em geral, crescimento menor que os demais tratamentos de inoculação. No substrato da Usina, os tratamentos inoculados com *S. calospora*, mistura de linhagens e testemunha não inoculada sem adubação apresentaram menor crescimento que os demais.

A produção de biomassa vegetal, expressa pela massa fresca e seca das plantas, da mesma forma que as variáveis biométricas, foi influenciada pelos substratos, pelos tratamentos de inoculação e por sua interação (Anexo L). O efeito da interação entre ambos fatores apenas não foi significativo sobre o desenvolvimento radicular. O padrão detectado na análise biométrica, em relação ao desenvolvimento das plantas nos substratos, foi mantido, com a maior biomassa acumulada nas mudas plantadas no Multiplant e Turfa Fértil e a menor biomassa no substrato da Usina (Tabela 27).

Em relação aos tratamentos de inoculação, uma visão integral das plantas avaliadas neste experimento destaca a menor produção de biomassa das plantas com o tratamento testemunha não inoculada com adubação completa recomendada para MPB (Tabela 28). Desdobrando os efeitos dentro de cada substrato, verifica-se que nos substratos da Fazendinha e da Usina, não houve diferença entre os tratamentos de inoculação. Dentro do Multiplant, a inoculação com *A. morrowiae* e *Gi. margarita* e a testemunha não inoculada com adubação completa diminuiu a massa fresca da parte aérea e seca de raízes. Outros efeitos verificados nesse substrato parecem não consistentes. No substrato Turfa Fértil, o efeito consistente foi a redução do crescimento na testemunha não inoculada com adubação completa para MPB.

Tabela 25. Altura, diâmetro do colmo e número de folhas de mudas pré-brotadas de cana-de-açúcar cultivadas em diferentes substratos aos 20 e 40 dias após o plantio e inoculação com FMAs. Efeito principal de substrato.

Substratos	Altura (mm)		Diâmetro do colmo (mm)		Número de folhas	
	20 dias	40 dias	20 dias	40 dias	20 dias	40 dias
Fazendinha	44,8 b	73,6 b	4,0 a	4,7 b	2,7 b	4,3 a
Multiplant	71,4 a	109,6 a	4,2 a	5,4 a	3,3 a	4,4 a
Turfa Fértil	72,7 a	105,7 a	4,3 a	5,4 a	3,5 a	4,2 a
Usina	33,7 c	58,2 c	3,7 b	4,2 c	1,7 c	3,4 b

Letras nas colunas comparam as médias pelo teste de Scott Knott 5%.

Tabela 26. Altura, diâmetro do caule e número de folhas de mudas pré-brotadas de cana-de-açúcar inoculadas com diferentes fungos micorrízicos arbusculares aos 20 e 40 dias após o plantio e inoculação com FMAs. Efeito principal da inoculação e desdobramento dentro de cada substrato.

Tratamentos de inoculação	Altura (mm)		Diâmetro do colmo (mm)		Número de folhas	
	20 dias	40 dias	20 dias	40 dias	20 dias	40 dias
Efeito principal da inoculação						
ACOL	65,3 a	98,9 a	4,3 a	5,4 a	2,7 b	4,6 a
AMOR	59,6 a	91,6 a	4,2 a	4,9 b	3,1 a	3,8 b
CETU	59,2 a	92,0 a	3,8 b	5,0 b	3,2 a	3,8 b
GMAR	63,2 a	95,7 a	4,5 a	5,4 a	3,1 a	4,5 a
SCAL	57,1 a	90,8 a	4,1 a	5,1 a	3,0 a	4,3 a
Mistura	54,1 a	85,5 b	4,0 b	4,8 b	2,7 b	4,2 a
Test1	63,3 a	83,7 b	4,4 a	5,2 a	2,8 b	3,6 b
Test2+Ad	43,7 b	81,4 b	3,6 b	4,4 b	2,6 b	4,5 a
Desdobramento da inoculação dentro do substrato da Fazendinha						
ACOL	39,6 a	84,6 a	3,9 b	4,9 a	2,1 b	5,3 a
AMOR	57,2 a	80,3 a	4,5 a	4,7 a	3,2 a	3,2 b
CETU	46,9 a	74,0 a	3,8 b	4,9 a	3,1 a	4,0 b
GMAR	59,9 a	77,9 a	4,9 a	5,3 a	3,1 a	4,5 a
SCAL	38,3 a	76,2 a	3,6 b	4,5 a	2,7 b	4,8 a
Mistura	38,1 a	68,6 a	3,8 b	4,4 a	2,4 b	4,8 a
Test1	31,2 a	50,0 b	3,8 b	4,4 a	2,4 b	3,8 b
Test2+Ad	40,6 a	69,4 a	3,8 b	4,5 a	2,1 b	4,3 a
Desdobramento da inoculação dentro do substrato Multiplant						
ACOL	90,1 a	127,0 a	4,7 a	6,0 a	3,6 a	4,8 a
AMOR	57,5 b	93,8 b	3,8 b	4,8 b	3,0 a	3,8 a
CETU	73,5 a	112,6 a	4,0 b	5,2 b	3,5 a	4,5 a
GMAR	62,3 b	104,9 b	4,1 b	5,1 b	3,1 a	4,4 a
SCAL	79,6 a	122,1 a	4,6 a	5,8 a	3,6 a	4,7 a
Mistura	67,8 b	110,3 a	4,3 a	5,6 a	3,4 a	4,2 a
Test1	88,5 a	116,4 a	5,1 a	6,0 a	3,4 a	4,1 a
Test2+Ad	52,0 b	90,6 b	3,4 b	4,5 b	3,0 a	4,7 a
Desdobramento da inoculação dentro do substrato Turfa Fértil						
ACOL	81,1 a	104,3 a	4,6 a	5,7 a	3,3 a	4,1 a
AMOR	68,4 a	107,1 a	4,2 a	5,3 a	3,6 a	4,2 a
CETU	65,3 a	100,4 a	3,5 b	5,1 a	3,6 a	3,6 a
GMAR	83,8 a	114,9 a	5,0 a	6,0 a	3,6 a	4,6 a
SCAL	70,6 a	108,6 a	4,4 a	5,5 a	3,7 a	4,4 a
Mistura	77,5 a	106,3 a	4,4 a	5,4 a	3,5 a	4,5 a
Test1	91,9 a	115,8 a	5,1 a	6,1 a	3,8 a	3,8 a
Test2+Ad	38,1 b	85,1 a	3,3 b	4,1 b	2,6 b	4,6 a
Desdobramento da inoculação dentro do substrato da Usina						
ACOL	33,2 a	61,2 a	3,9 a	4,5 a	1,2 b	4,2 a
AMOR	38,5 a	64,0 a	4,2 a	4,8 a	1,5 b	4,0 a
CETU	46,5 a	74,2 a	3,7 a	4,4 a	2,3 a	2,8 b
GMAR	41,5 a	83,3 a	3,9 a	5,1 a	2,3 a	4,3 a
SCAL	29,3 a	42,3 b	3,7 a	4,1 b	1,5 b	3,2 b
Mistura	26,5 a	46,0 b	3,3 a	3,5 b	1,0 b	2,8 b
Test1	18,2 a	25,3 b	3,0 a	3,4 b	1,0 b	2,3 b
Test2+Ad	42,0 a	81,5 a	4,1 a	4,7 a	2,5 a	4,3 a

ACOL: *A. colombiana*; AMOR: *A. morrowiae*; CETU: *C. etunicatum*; GMAR: *Gi. margarita*; SCAL: *S. calospora*; Mistura: mistura de ACOL, AMOR, CETU, GMAR e SCAL; Test1: Testemunha não inoculada; Test2+Ad: Testemunha não inoculada com adubação recomendada para mudas pré-brotadas. Letras nas colunas, dentro de cada substrato, comparam as médias pelo teste de Scott Knott 5.

Tabela 27. Massas secas e frescas de mudas pré-brotadas de cana-de-açúcar cultivadas em diferentes substratos aos 40 dias após o plantio e inoculação com FMAs. Efeito principal de substrato.

Substratos	Massa fresca (g)			Massa seca (g)		
	Parte aérea	Raízes	Total	Parte aérea	Raízes	Total
Fazendinha	2,78 b	1,02 b	3,79 b	0,55 c	0,14 b	0,69 b
Multiplant	6,55 a	2,25 a	8,80 a	1,07 b	0,38 a	1,46 a
Turfa Fértil	7,07 a	2,33 a	9,40 a	1,24 a	0,36 a	1,59 a
Usina	2,11 c	0,62 c	2,73 c	0,38 d	0,08 b	0,46 c

Letras nas colunas comparam as médias pelo teste de Scott Knott 5%.

Da mesma forma que as demais variáveis já apresentadas, a colonização radicular foi influenciada pelo substrato, pelos tratamentos de inoculação e pela interação entre esses fatores (Anexo M). Verificou-se também nesse experimento uma altíssima colonização das raízes com fungos *Dark Septate Endophytes* (DSE) (Figura 21). A porcentagem de colonização por DSE nas plantas de todos os substratos mostrou valores sempre superiores a 90%. Apenas o substrato Multiplant foi mais conduscente a à colonização por FMAs, sendo que nele a colonização total por FMAs atingiu 35%. A colonização exclusiva de FMAs (apenas por FMAs) foi insignificante em todos os substratos. Deste modo, os resultados aqui obtidos indicam uma colonização simultânea desses dois endófitos radiculares na cana-de-açúcar, estando em correspondência com o registrado em estudos anteriores. Porém, os DSEs parecem muito mais adaptados que os FMAs em tolerarem substratos ricos em nutrientes apresentando alta colonização radicular independente do substrato, podendo ser muito mais agressivos comparados aos FMAs.

O desdobramento dentro de cada substrato do efeito dos tratamentos de inoculação sobre a colonização radicular pode ser observado na Figura 22. De modo geral, a colonização por DSE não foi afetada pelos tratamentos de inoculação, exceto no tratamento inoculado com *C. etunicatum* no substrato Multiplant, que apresentou menor colonização por DSE.

A colonização por FMAs, alcançou os maiores níveis nas mudas do substrato Multiplant e Turfa Fértil, particularmente no primeiro (Figura 23). Dentre as espécies de FMAs que apresentaram maior capacidade de colonização no substrato Multiplant destacaram-se: *Gi. margarita*, *A. colombiana*, *A. morrowiae* e *C. etunicatum*. Embora a colonização micorrízica nas plantas destes tratamentos chegou a alcançar valores de até 80%, a mesma sempre esteve acompanhada pela ocorrência de DSE, sendo que a colonização exclusiva por FMAs foi insignificante. No substrato Turfa Fértil a maior colonização foi observada nas plantas do tratamento de inoculação com *A. colombiana*, alcançando valores de 30%.

A maior colonização radicular por parte dos tratamentos *A. morrowiae* e *Gi. margarita* refletiu na maior produção de biomassa e de crescimento das plantas no substrato Multiplant. A mistura das linhagens de FMAs não refletiu em melhora no crescimento e na colonização. Pode ter havido competição entre as com predominância das menos eficientes, ou as condições foram muito desfavoráveis aos FMAs resultando em menor eficiência de colonização e número de propágulos de cada linhagem. Outra informação importante que emana desses dados de colonização radicular é a origem da colonização por DSE. Como os substratos foram autoclavados antes da condução do experimento, aumenta a possibilidade que o próprio tecido do colmo contendo a gema (minirrebolos) tenha sido a origem dos propágulos de DSE.

Tabela 28. Massas secas e frescas de mudas pré-brotadas de cana-de-açúcar inoculadas com diferentes fungos micorrízicos arbusculares aos 40 dias após o plantio e inoculação com FMAs. Efeito principal da inoculação e desdobramento dentro de cada substrato.

Tratamentos de inoculação	Massa fresca (g)			Massa seca (g)		
	Parte aérea	Raízes	Total	Parte aérea	Raízes	Total
Efeito principal da inoculação						
ACOL	5,355 a	1,587 a	6,942 a	0,934 a	0,232 a	1,166 a
AMOR	4,720 b	1,836 a	6,556 a	0,856 a	0,285 a	1,141 a
CETU	4,409 b	1,799 a	6,209 a	0,814 a	0,322 a	1,136 a
GMAR	5,236 a	1,872 a	7,108 a	0,933 a	0,285 a	1,219 a
SCAL	5,450 a	1,787 a	7,237 a	0,901 a	0,262 a	1,163 a
Mistura	5,252 a	1,524 a	6,776 a	0,889 a	0,238 a	1,127 a
Test1	5,043 a	1,925 a	6,967 a	0,877 a	0,313 a	1,190 a
Test2+Ad	3,897 b	1,026 b	4,924 b	0,673 b	0,148 b	0,821 b
Desdobramento da inoculação dentro do substrato da Fazendinha						
ACOL	3,293 a	0,691 a	3,983 a	0,562 a	0,107 a	0,669 a
AMOR	2,532 a	1,164 a	3,696 a	0,563 a	0,179 a	0,742 a
CETU	2,353 a	1,140 a	3,493 a	0,544 a	0,162 a	0,706 a
GMAR	3,701 a	1,345 a	5,047 a	0,732 a	0,157 a	0,889 a
SCAL	3,375 a	1,326 a	4,701 a	0,604 a	0,159 a	0,763 a
Mistura	2,667 a	0,859 a	3,526 a	0,521 a	0,133 a	0,654 a
Test1	1,492 a	0,885 a	2,377 a	0,325 a	0,132 a	0,457 a
Test2+Ad	2,498 a	0,787 a	3,285 a	0,479 a	0,108 a	0,587 a
Desdobramento da inoculação dentro do substrato Multiplant						
ACOL	7,088 a	2,393 a	9,481 a	1,145 a	0,363 b	1,509 a
AMOR	4,875 b	2,084 a	6,959 b	0,847 a	0,351 b	1,197 a
CETU	6,173 b	2,430 a	8,602 b	1,075 a	0,575 a	1,650 a
GMAR	5,953 b	2,196 a	8,149 b	1,019 a	0,366 b	1,385 a
SCAL	7,351 a	2,543 a	9,894 a	1,151 a	0,390 b	1,541 a
Mistura	7,536 a	2,228 a	9,763 a	1,156 a	0,344 b	1,500 a
Test1	7,598 a	2,899 a	10,497 a	1,256 a	0,487 a	1,743 a
Test2+Ad	5,738 b	1,361 a	7,099 b	0,940 a	0,211 b	1,151 a
Desdobramento da inoculação dentro do substrato Turfa Fértil						
ACOL	7,290 a	2,267 a	9,557 a	1,403 a	0,309 a	1,712 a
AMOR	7,297 a	2,569 a	9,865 a	1,255 a	0,377 a	1,633 a
CETU	5,989 b	2,377 a	8,365 a	1,079 a	0,365 a	1,444 a
GMAR	7,313 a	2,757 a	10,070 a	1,311 a	0,451 a	1,762 a
SCAL	7,961 a	2,303 a	10,264 a	1,295 a	0,350 a	1,645 a
Mistura	8,414 a	2,432 a	10,846 a	1,406 a	0,387 a	1,793 a
Test1	7,918 a	2,908 a	10,826 a	1,400 a	0,467 a	1,867 a
Test2+Ad	3,769 c	0,842 b	4,611 b	0,641 b	0,131 b	0,771 b
Desdobramento da inoculação dentro do substrato da Usina						
ACOL	2,052 a	0,347 a	2,399 a	0,306 a	0,054 a	0,360 a
AMOR	2,345 a	0,573 a	2,918 a	0,410 a	0,089 a	0,499 a
CETU	2,352 a	0,959 a	3,310 a	0,428 a	0,112 a	0,541 a
GMAR	3,678 a	1,015 a	4,694 a	0,599 a	0,142 a	0,741 a
SCAL	1,542 a	0,591 a	2,133 a	0,316 a	0,084 a	0,400 a
Mistura	1,488 a	0,256 a	1,744 a	0,351 a	0,040 a	0,390 a
Test1	0,762 a	0,181 a	0,943 a	0,134 a	0,028 a	0,162 a
Test2+Ad	3,130 a	1,136 a	4,266 a	0,568 a	0,125 a	0,693 a

ACOL: *A. colombiana*; AMOR: *A. morrowiae*; CETU: *C. etunicatum*; GMAR: *Gi. margarita*; SCAL: *S. calospora*; Mistura: mistura de ACOL, AMOR, CETU, GMAR e SCAL; Test1: Testemunha não inoculada; Test2+Ad: Testemunha não inoculada com adubação recomendada para mudas pré-brotadas. Letras nas colunas, dentro de cada substrato, comparam as médias pelo teste de Scott Knott 5%.

O menor desenvolvimento das plantas da testemunha com adubação em alguns substratos sugere que a adubação recomendada para formar MPB pode ser excessiva dependendo do substrato, e causar redução no crescimento das mudas, possivelmente por salinidade. Verificou-se que a contaminação com FMAs das testemunhas não inoculadas durante a condução do experimento não foi significativa, apresentando um número de esporos e colonização por FMAs muito baixos, embora as condições que favoreçam a contaminação entre tratamentos em bandejas de tubetes seja elevada. Não obstante, as testemunhas apresentaram elevados níveis de ocupação por DSE. Vários autores têm reportado que o efeito dos DSE sobre as plantas pode ser positivo, negativo ou até neutro (Jumpponen, 2001; Peterson et al., 2004). Sendo assim, não é descartável que em condições de elevada fertilidade esta interação apresente um saldo negativo para as plantas, podendo isso ter ocorrido na testemunha com adubação completa.

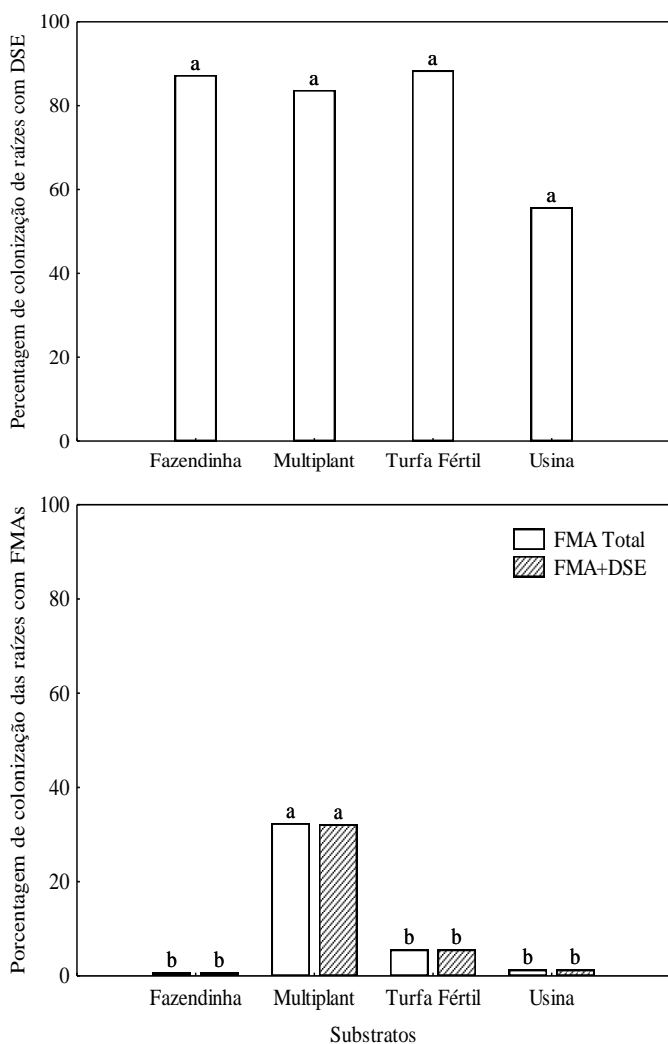


Figura 21. Taxa de colonização radicular por endófitos septados escuros (*Dark Septate Endophytes* - DSE) e por fungos micorrízicos arbusculares (FMA) em mudas pré-brotadas de cana-de-açúcar cultivadas em diferentes substratos aos 40 dias após o plantio. Efeito principal de substrato. Apenas DSE: colonização apenas por DSE; DSE total: colonização total de DSE incluindo DSE na presença de FMA (FMA+DSE); FMA total: Colonização total de FMA incluindo FMA+DSE e apenas FMA. Letras em barras de mesma cor comparam as médias pelo teste de Scott Knott 5%.

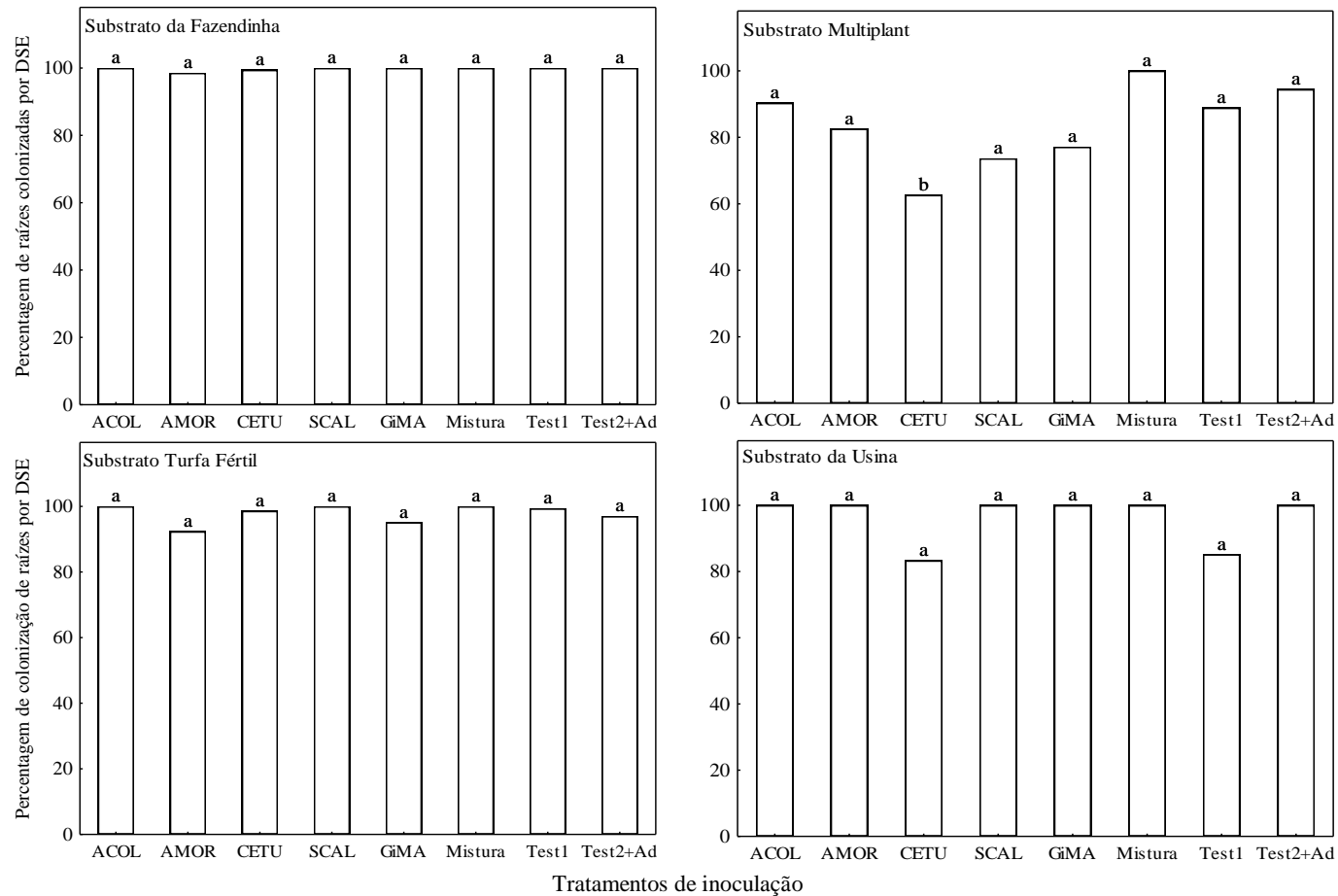


Figura 22. Taxa de colonização radicular por endófitos septados escuros (*Dark Septate Endophytes* - DSE) em mudas pré-brotadas de cana-de-açúcar inoculadas com diferentes fungos micorrízicos arbusculares aos 40 dias após o plantio. Desdobramento dentro de cada substrato. ACOL: *A. colombiana*; AMOR: *A. morrowiae*; CETU: *C. etunicatum*; GMAR: *Gi. margarita*; SCAL: *S. calospora*; Mistura: mistura de ACOL, AMOR, CETU, GMAR e SCAL; Test1: Testemunha não inoculada; Test2+Ad: Testemunha não inoculada com adubação recomendada para mudas pré-brotadas. Letras em barras da mesma cor, dentro de cada substrato, comparam as médias pelo teste de Scott Knott 5%.

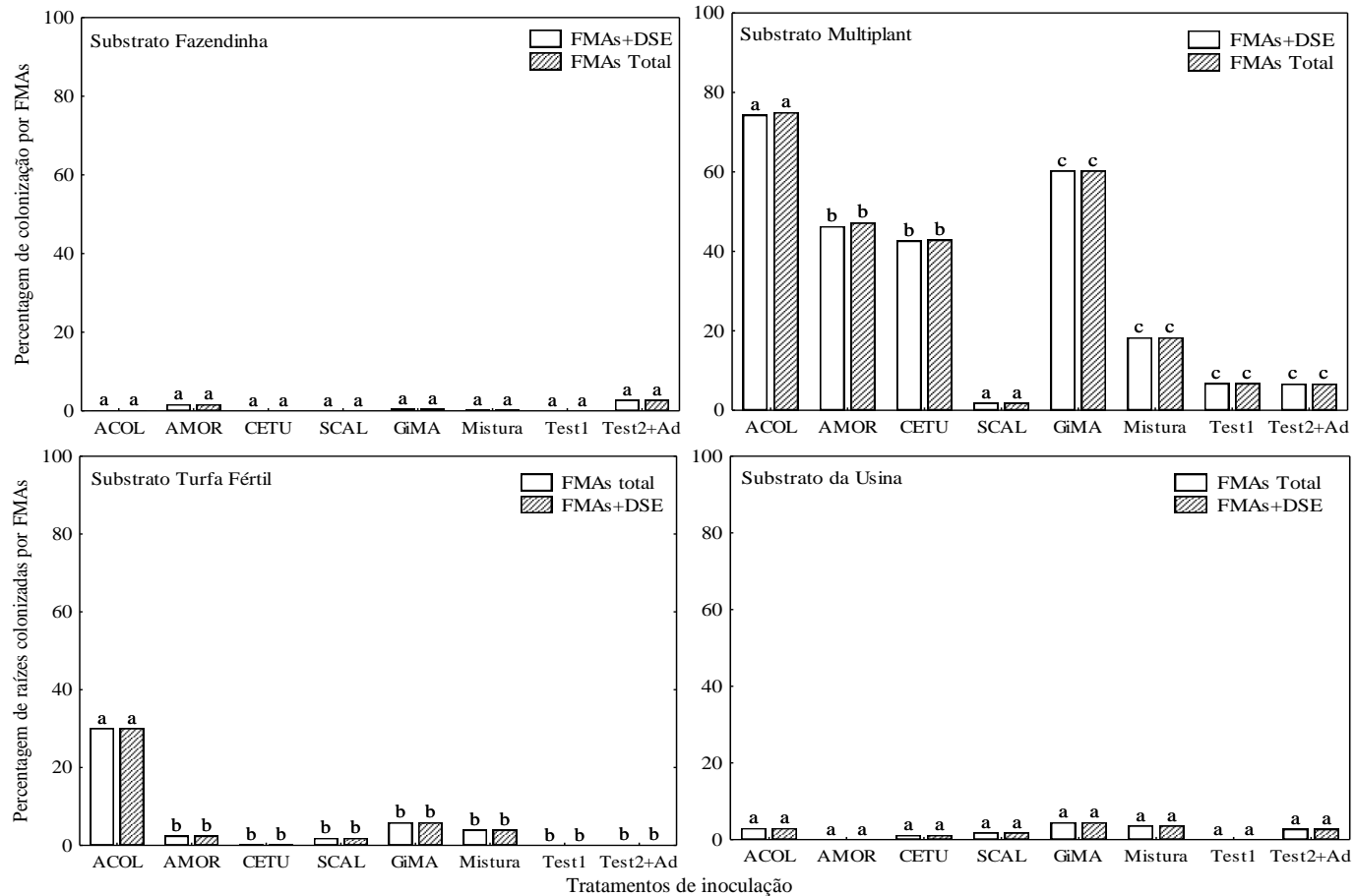


Figura 23. Taxa de colonização radicular por fungos micorrízicos arbusculares (FMA) em mudas pré-brotadas de cana-de-açúcar inoculadas com diferentes fungos micorrízicos arbusculares aos 40 dias após o plantio. Desdobramento dentro de cada substrato. Barras com pontos: colonização associada de FMA e endófitos septados escuros (*Dark Septate Endophytes* - DSE). Barras texturizada: colonização total de FMA incluindo apenas FMA e FMA + DSE. ACOL: *A. colombiana*; AMOR: *A. morrowiae*; CETU: *C. etunicatum*; GMAR: *Gi. margarita*; SCAL: *S. calospora*; Mistura: mistura de ACOL, AMOR, CETU, GMAR e SCAL; Test1: Testemunha não inoculada; Test2+Ad: Testemunha não inoculada com adubação recomendada para mudas pré-brotadas. Letras em barras da mesma cor, dentro de cada substrato, comparam as médias pelo teste de Scott Knott 5%.

5. CONCLUSÕES

Em áreas de monocultivo prolongado de cana-de-açúcar apenas um ciclo de rotação com *Brachiaria ruziziensis* entre a retirada da soqueira e o novo plantio de cana não influencia a riqueza da comunidade de FMAs.

A riqueza de espécies de FMAs em área de monocultura prolongada de cana-de-açúcar diminui após a renovação do canavial, mas ainda é bastante elevada comparada com outros sistemas agrícolas.

A riqueza de espécies de FMAs em área de pastagem convertida a canavial é maior no primeiro ano após a conversão (“cana planta”) comparada às áreas de renovação de canavial.

As maiores densidades de esporos nas áreas canavieiras ocorreram na amostragem feita logo após a colheita da “cana planta”, coincidindo com a fase de senescência do sistema radicular.

As linhagens de FMAs com potencialidade para compor um inoculante micorrízico para cana-de-açúcar são *A. colombiana* e *C. etunicatum* as quais favorecem o desenvolvimento de mudas pré-brotadas de cana tanto em solo, como em substrato.

Outras linhagens que precisam de estudos adicionais por promoverem crescimento ou nutrição de mudas de cana-de-açúcar são *Gi. margarita*, *S. calospora* e *R. clarus*.

O solo da área de expansão, com teores médios de P, foi o mais favorável para o crescimento da cana-de-açúcar.

O substrato Multiplant é o que mais estimula o crescimento de mudas pré-brotadas de cana-de-açúcar e promove a maior colonização por FMAs.

A adubação completa recomendada para produção de mudas pré-brotadas de cana-de-açúcar inibe o crescimento das plantas, particularmente no substrato Turfa Fértil.

O substrato da Usina promove o menor crescimento de mudas de cana-de-açúcar.

A taxa de colonização radicular por *Dark Septate Endophytes* (DSE) nas mudas da cultivar SP81-3250 é elevada, independentemente da linhagem de FMA inoculada.

Todas as linhagens de FMAs avaliadas apresentam colonização conjunta com *Dark Septate Endophytes* (DSE).

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALEIXO, A.P.; KASCHUK, G. & ALBERTON, O. Soil fungal and bacterial biomass determined by epifluorescence microscopy and mycorrhizal spore density in different sugarcane managements. **Ciência Rural**, v.44, n.4, p.588-594, 2014.
- AMBROSANO, E.J.; AZCÓN, R.; CANTARELLA, H.; AMBROSANO, C.M.B.; SCHAMMASS, E.A.; MURAOKA, T.; TRIVELIN, P.C.O.; ROSSI, F.; GUIRADO, N.; UNGARO, M.R.G. & TERAMOTO, J.R.S. Crop rotation and arbuscular mycorrhizal fungi effects on sugarcane yield. **Sci. Agric. (Piracicaba, Braz.)**, v.67, n.6, p.692-701, 2010.
- ANDRADE, P.A.M. **A composição da comunidade bacteriana do solo como fator determinante na micorrização de cana-de-açúcar por *Glomus clarum***. Dissertação. Universidade de São Paulo, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, SP, 73p., 2013.
- ANDREOLA, F. **Micorrizas vesiculares-arbusculares em cana-de-açúcar**. Dissertação. Universidade de São Paulo, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, SP, 74p., 1982.
- ARRUDA, P. Perspective of the Sugarcane Industry in Brazil. **Tropical Plant Biol.**, v.4, p.3-8, 2011.
- ATKINSON, D. Soil Microbial Resources and Agricultural Policies. *In*: AZCÓN-AGUILAR, C.; GIANINAZZI, S. & GIANINAZZI-PEARSON, V. **Mycorrhizal Functional Processes and Ecological Impact**. Springer, Berlin, p.1-16, 2009.
- AZEVEDO, L.C.B. **Comunidade de fungos micorrízicos arbusculares no solo e raízes de cana-de-açúcar**. Tese. Universidade de São Paulo Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, SP, 110p., 2008.
- AZEVEDO, L.C.B.; STÜRMER, S.L. & LAMBAIS, M.R. Early changes in arbuscular mycorrhiza in sugarcane under two harvest management systems. **Brazilian Journal of Microbiology**, v.45, n.3, p.995-1005, 2014.
- AZIZ, T. & HABTE, M. Determining vesicular–arbuscular mycorrhizal effectiveness by monitoring P status of leaf disks. **Canadian Journal of Microbiology**, v.33, n.12, p.1097-1101, 1987.
- BEDINI, S.; PELLEGRINO, E.; AVIO, L.; BAZZOFFI, P.; ARGESI, E. & GIOVANETTI, M. Changes in soil aggregation and glomalin related soil protein content as affected by arbuscular mycorrhizal fungal species *Glomus mosseae* and *Glomus intraradices*. **Soil Biol. Biochem.**, v.41, p.1491-1496, 2009.
- BENNETT, A.J.; BENDING, G.D.; CHANDLER, D. & HILTON, S. Meeting the demand for crop production: the challenge of yield decline in crops grown in short rotations. **Biological Reviews**, v.87, p.52-71, 2012.
- BERBARA, R.L.L.; SOUZA, F.A. & FONSECA, H.M.A.C. Fungos Micorrízicos Arbusculares: Muito Além da Nutrição. *In*: FRNANDEZ, M.C. **Nutrição Mineral de Plantas**. SBCS, Viçosa, MG, p.53-85, 2006.
- BLOGSPOT AGRICULTURA EM FOCO**, Cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum*). Disponível em: < <http://agriculturainfoco.blogspot.com.br/p/cana-de-acucar-saccharum-officina-rum.html> >. Acesso em: novembro, 2014.
- BOHRER, K.E.; FRIESE, C.F. & AMON, J.P. Seasonal dynamics of arbuscular mycorrhizal fungi in differing wetland habitats. **Mycorrhiza**, v.14, p.329-337, 2004.

- BONFANTE, P. Plants, mycorrhizal fungi and endobacteria: a dialog among cells and genomes. **Biological Bulletin**, v.204, p.215-220, 2003.
- BONFIN, J.A. **Diversidade de fungos micorrízicos arbusculares em áreas restauradas de Mata Atlântica, São Paulo, Brasil**. Dissertação. Universidade de São Paulo Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, SP, 92p., 2011.
- BONFIN, J.A.; MATSUMOTO, S.N.; LIMA, J.M.; CÉSAR, F.R.C. & SANTOS, M.A.F. Fungos micorrízicos arbusculares (FMA) e aspectos fisiológicos em cafeeiros cultivados em sistema agroflorestal e a pleno sol. **Bragantia**, v.69, p.201-206, 2010.
- BONFIN, J.A.; VASCONCELLOS, R.L.F.; GUMIERE, T.; MESCOLOTTI, D.L.C.; OEHL, F. & CARDOSO, E.B.N. Diversity of Arbuscular Mycorrhizal Fungi in Brazilian Atlantic Forest Toposequence. **Soil Microbiology**, v.71, p.164-177, 2016.
- BRUNDRETT, M.C. Coevolution of roots and mycorrhizas of land plants. **New Phytology**, v.154, p.275-304, 2002.
- CARDOSO, E.J.B.N.; CARDOSO, I.M.; NOGUEIRA, M.A.; BARETTA, C.R.D.M. & PAULA, A.M. Micorrizas Arbusculares na aquisição de nutrientes pelas plantas. *In*: SIQUEIRA, J.O.; SOUZA, F.A.; CARDOSO, E.J.B.N. & TSAI, S.M. **Micorrizas: 30 anos de pesquisas no Brasil**. UFLA, Lavras, p.153-214, 2010.
- 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. **Micorrizas: 30 anos de pesquisas no Brasil**. UFLA, Lavras, p.215-249, 2010.
- CHRISTIE, P.; LI, X. & CHEN, B. Arbuscular mycorrhiza can depress reanslocation of zinc to shoots of host plants in soils moderately polluted with zinc. **Plant and Soil**, n.261, p. 209-217, 2004.
- COLETI, J.T. O preparo do solo sob a ótica conservacionista. *In*: DINARDO-MIRANDA, L.L.; VASCONCELOS, A.C.M.P. & LANDELL, M.G.A. **Cana-de-açúcar**. Instituto Agrônomo, Campinas, SP., p.573-584, 2010.
- COPLANA PRODUTOR. **Novo método de plantio promete ganhos em produtividade**. n.83, p.14-16, 2013. Disponível em: <<http://64www.coplana.com/>>. Acesso em: julho, 2014.
- CORDELL, D. & WHITE, S. Peak phosphorus: clarifying the key issues of a vigorous debate about long-term phosphorus security. **Sustainability**, v.3, p.2027-2049, 2011.
- DAS, A. & VARMA, A. Symbiosis: The Art of Living. *In*: VARMA, A. & KHARKWAL, A.C. **Symbiotic Fungi**. Springer-Verlag, Berlin, p.1-28, 2009.
- DATTA, P. & KULKARNI, M. Arbuscular Mycorrhizal Fungal Diversity in Sugarcane Rhizosphere in Relation with Soil Properties. **Not. Sci. Biol.**, v.4, n.1, p.66-74, 2012.
- DILLEWIJN, C. van. **Botany of sugarcane**. Watham: Chronica Botanica, 371p., 1952. *In*: MARAFON, A.C. Análise Quantitativa de Crescimento em Cana-de-açúcar: uma Introdução ao Procedimento Prático. Documentos Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju, SE, 29p., 2012.
- DIOLA, V. & SANTOS, F. Fisiologia. *In*: SANTOS, F.; BORÉM, A. & CALDAS, C. **Cana-de-açúcar. Bioenergia, açúcar e álcool: Tecnologias e perspectivas**. Viçosa, 577p., 2010.
- DOUBKOVÁ, P.; VLASÁKOVÁ, E. & SUDOVÁ, R. Arbuscular mycorrhizal symbiosis alleviates drought stress imposed on *Knautia arvensis* plants in serpentine soil. **Plant Soil**, v.370, p.149-161, 2013.

- DRIVER, J.D.; HOLBEN, W.E. & RILLING, M.C. Characterization of glomalin as a hyphal wall component of arbuscular mycorrhizal fungi. **Soil Biology & Biochemistry**, v.37, n.1, p.101-106, 2005.
- FELDMANN, F. & BOYLE, C. Weed-mediated stability of arbuscular mycorrhizal effectiveness in maize monocultures. **Journal of Applied Botany**, v.73, n.1-2, p.1-5, 1999.
- FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, v.35, n.6, p.1039-1042, 2011.
- FILHO, F.X.O. **Análise espacial da compactação do solo em área cultivada com cana-de-açúcar**. Tese. Universidade Federal Rural do Semi-Árido, Mossoró, RN, 108 p., 2014.
- FILHO, A.C. & NOGUEIRA, M.A. Micorrizas em Plantas Tropicais: Café, Mandioca e Cana-de-Açúcar. *In*: SILVEIRA, A.P.D. & FREITAS, S.S. **Microbiologia do Solo e Qualidade Ambiental**. Instituto Agrônomo de Campinas, SP, p.39-56, 2007.
- FINLAY, R.D. Ecological aspects of mycorrhizal symbiosis: with special emphasis on the functional diversity of interactions involving the extraradical mycelium. **Journal of Experimental Botany**, v.59, n.5, p.1115-1126, 2008.
- FRANK, B. On the nutritional dependence of certain trees on root symbiosis with belowground fungi (an English translation of A.B. Frank's classic paper of 1885). **Mycorrhiza**, v.15, n.4, p.267-275, 2005.
- FREIRE, L.R.; BALIEIRO, F.C.; ZONTA, E.; ANJOS, L.H.C.; PEREIRA, M.G.; LIMA, E.; GUERRA, J.G.M.; FERREIRA, M.B.C.; LEAL, M.A.A.; CAMPOS, D.V.B. & POLIDORO, J.C. **Manual de Calagem e Adubação do Estado do Rio de Janeiro**. Embrapa (Brasília, D.F.) & Editora Universidade Rural (Seropédica). 430p., 2013.
- GADKAR, V.; DRIVER, J.D. & RILLING, M.C. A novel in vitro cultivation system to produce and isolate soluble factors released from hyphae of arbuscular mycorrhizal fungi. **Biotechnol. Lett.**, v.28, p.1071-1076, 2006.
- GALLO, R.; ALVAREZ, R. & ABRAMIDES, E. Amostragem em cana-de-açúcar para fins de análise foliar. *Bragantia*, v.21, n.54, p.899-921, 1962.
- GARCÍA, I.; MENDOZA, R. & POMAR, M. C. Arbuscular mycorrhizal symbiosis and dark septate endophytes under contrasting grazing modes in the Magellanic steppe of Tierra del Fuego. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, v.155, p.194-201, 2012.
- GERDEMANN, J. & NICHOLSON, T.H. Spores of mycorrhizal *Endogone* species extracted from soil by wet sieving and decanting. **Trans. Br. Mycol.**, v.46, p.235-244, 1963.
- GHOLAMHOSEINI, M.; GHALAVAND, A.; DOLATABADIAN, A.; JAMSHIDI, E. & KHODAEI-JOGHAN, A. Effects of arbuscular mycorrhizal inoculation on growth, yield, nutrient uptake and irrigation water productivity of sunflowers grown under drought stress. **Agricultural Water Management**, v.117, p.106-114, 2013.
- GOLTAPPEH, E.M.; DANESH, Y.R.; PRASAND, R. & VARMA, A. Mycorrhizal Fungi: What We Know and What Should Know? *In*: VARMA, A. **Mycorrhiza**. Springer-Verlag, Berlin, p.3-27, 2008.
- GOMES, C. Cana-de-açúcar. Sistema muda conceito de plantio. **Lavoura**, n.696, p.38-39, 2013.
- GONZÁLEZ-CHÁVEZ, M.C.; CARRILLO-GONZÁLEZ, R.; WRIGHT, S.F. & NICHOLS, K.A. The role of glomalin, a protein produced by arbuscular mycorrhizal fungi, in sequestering potentially toxic elements. **Environmental Pollution**, v.130, p.317-323, 2004.

GOUVÊA, J.R.F. **Mudanças climáticas e a expectativa de seus impactos na cultura da cana-de-açúcar na região de Piracicaba, SP.** Dissertação. Universidade de São Paulo, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, SP, 98p., 2008.

HERMANN, E.R. & Câmara, G.M.S. Um Método Simples para Estimar a Área Foliar da Cana-de-açúcar. **STAB**, v.17, n.5, p.32-34, 1999.

INVAM (International Culture Collection of Vesicular Arbuscular Mycorrhizal Fungi). Disponível em: <<http://invam.wvu.edu/>>. Acesso em: março, 2015.

JAMAL-ALLY, S.F. **Arbuscular Mycorrhizal and Soil Microbial Interactions in Sugarcane Agriculture in KwaZulu-Natal, South Africa.** Tese. University of the Witwatersand, Johannesburg, 182p., 2013.

JARSTFER, A.G. & SYLVIA, D.M. Aeroponic culture of AMF. *In*: VARMA, A. & HOCK, B. **Mycorrhiza: Structure, Function, Molecular Biology and Biotechnology.** Springer Verlag, Berlin, p.427-441, 1995.

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

JIAO, H.; CHEN, Y.; LIN, X. & LIU, R. Diversity of mycorrhizal greenhouse soils continuously planted to watermelon in North China. **Mycorrhiza**, v.21, n.8, p.681-688, 2011.

JOHNSON, N.C. & PFLEGER, F.L. Vesicular-arbuscular mycorrhizae and cultural stress. *In*: KELLY, R.M.; EDWARDS, D.G.; THOMPSON, J.P. & MAGAREY, R.C. Responses of sugarcane, maize, and soybean to phosphorus and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. **Aust. J. Agric. Res.**, v.52, p.731-743, 2001.

JUMPPONEN, A. Dark septate endophytes – are they mycorrhizal? **Mycorrhiza**, v.11, p.207-211, 2001.

KANWAL, S.; BANO, A. & MALLIK, R.N. Effects of Arbuscular Mycorrhizal Fungi on Metals Uptake, Physiological and Biochemical Response of *Medicago sativa* L. with Increasing Zn and Cd Concentrations in Soil. **American Journal of Plant Sciences**, v.6, p.2906-2923, 2015.

KARIMAN, K.H.; GOLTAPPEH, E.M. & MINASSIAN, V. Arbuscular mycorrhizal fungi from Iran. **Journal of Agricultural Technology**, p.301-313, 2005.

KELLY, R.M.; EDWARDS, D.G.; THOMPSON, J.P. & MAGAREY, R.C. Responses of sugarcane, maize, and soybean to phosphorus and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. **Aust. J. Agric. Res.**, v.52, p.731-743, 2001.

KELLY, R.M.; EDWARDS, D.G.; THOMPSON, J.P. & MAGAREY, R.C. Growth responses of sugarcane to mycorrhizal spore density and phosphorus rate. **Australian Journal of Agricultural Research**, v.56, p.1405-1413, 2005.

KIRIACHEK, S. G.; AZEVEDO, L. C. B. D.; PERES, L. E. P.; LAMBAIS, M. R. Regulation of arbuscular mycorrhizae development. **Revista Brasileira de Ciencia do Solo**, v.33, n.1, p.1-16, 2009.

KOIDE, R.T. Mycorrhizal Symbiosis and Plant Reproduction. *In*: KOLTAI, H. & KAPULNIK, Y. **Arbuscular Mycorrhizas: Physiology and Function.** Springer Science, p.297-320, 2010.

- KÖHL, L.; LUKASIEWICZ, C.E. & HEIJDEN, M.G.A. Establishment and effectiveness of inoculated arbuscular mycorrhizal fungi in agricultural soils. **Plant, Cell and Environment**, v.39, p.136-146, 2016.
- KOJIMA, T.; OKA, N.; KARASAWA, T.; OKAZAKI, K.; ANDO, S. & TAKEBE, M. Community of Arbuscular Mycorrhizal Fungi in Soybean Roots after Cultivation with Different Cropping Systems. **JARQ**, v.48, n.3, p.279-290, 2014.
- KUMALAWATI, Z.; MUSA, Y.; AMIN, N.; ASRUL, L. & RIDWAN, I. Exploration of Arbuscular Mycorrhizal Fungi From Sugarcane Rhizosphere *In* South Sulawesi. **International Journal of Scientific & Technology Research**, v.3, n.1, p.201-203, 2014.
- LAKE, P.S. Disturbance, patchiness, and diversity in streams. **J. N. Am. Benthol**, v.19, n.4, p.573-592, 2000.
- LANDELL, M.G.A.; CAMAPANNA, M.P.; FIGUEREIDO, P.; XAVIER, M.A.; ANJOS, I.A.; DINARDO-MIRANDA, L.L.; SCARPARI, M.S.; GARCIA, J.C.; BIDÓIA, M.A.P.; SILVA, D.N.; MENDOÇA, J.R.; KANTHACK, R.A.D.; CAMPOS, M.F.; BRANCALIÃO, S.R.; PETRI, R.H. & MIGUEL, P.E.M. **Sistema de multiplicação de cana-de-açúcar com uso de mudas pré-brotadas (MPB), oriundas de gemas individualizadas**. Documento 109, Instituto Agronômico de Campinas (IAC), Campinas, 16p., 2013.
- LBM (Laboratório de Biologia de Micorrizas, Universidade Federal do Rio Grande do Norte)**. Disponível em: < <http://glomeromycota.wix.com/lbmicorrizas>>. Acesso em: janeiro, 2016.
- LIU, Y.; HE, L.; HELGASON, T. & FENG, H. Arbuscular mycorrhizal dynamics in a chronosequence of *Caragana korshinskii* plantations. **FEMS Microbiol Ecol**, v.67, p.81-92, 2009.
- LUGO, M.A.; GONZÁLEZ-MAZA, M.E. & CABELLO, M.N. Arbuscular mycorrhizal fungi in a mountain grassland II: seasonal variation of colonization studied, along with its relation to grazing and metabolic host type. **Mycologia**, v.95, p.407-415, 2003.
- MAGAREY, R.C.; BULL, J.I. & REGHENZANI, J.R. The influence of vesicular arbuscular mycorrhizae (VAM) on sugarcane growth in the field. **Proc.Aust. Soc. Sugarcane Technol.**, v.27, p.282-290, 2005.
- MAGRO, F.J.; TAKAO, G.; CAMARGO, P.E. & TAKAMATSU, S.Y. **Biometria em cana-de-açúcar**. USP – ESALQ, Piracicaba, SP, 18p., 2011.
- MAHERALI, H. Is there an association between root architecture and mycorrhizal growth response? **New Phytologist**, v.204, p.192-200, 2014.
- MANDYAM, K. G. & JUMPPONEN, A. Mutualism-parasitism paradigm synthesized from results of root-endophyte models. **Frontiers in Microbiology**, v.5, p.1-13, 2015.
- MANHÃES, C.M.C.; GARCIA, R.F.; FRANCELINO, F.M.A.; FRANCELINO, H.O. E & COELHO, F.C. Fatores que afetam a brotação e o perfilhamento da cana-de-açúcar. **Vértices**, v.17, n.1, p.163-181, 2015.
- MATHIMARAN, N.; RUH, R.; JAMA, B.; VERCHOT, L.; FROSSARD, E. & JANSÁ, J. Impact of agricultural management on arbuscular mycorrhizal fungal communities in Kenyan ferrasol. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v.119, p. 22-32, 2007.
- MEDINA, L.E.; TORRES-ARIAS, Y.; HERRERA, R. & RODRIGUEZ, Y. Aislamiento e identificación de hongos micorrízicos arbusculares nativos de la zona de las Caobas, Holguín. **Cultivos Tropicales**, n.31, v.4, p.33-42, 2010.

- MELLO, C.M.A.; SILVA, I.R.S.; PONTES, J.S.; GOTO, B.T.; SILVAS, G.A. & MAIA, L.C. Diversidade de fungos micorrízicos arbusculares em área de Caatinga, PE, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, v.26, n.4, p.938-943, 2012.
- MENENDEZ, A.B.; SCERVINO, J.M. & GODEAS, A.M. Arbuscular mycorrhizal populations associated with natural and cultivated vegetation on a site of Buenos Aires province, Argentina. **Biology & Fertility of Soils**, v.33, n.5, p.373-381, 2001.
- MIRANDA, E.M.; SILVA, E.M.R. & SAGGIN JÚNIOR, O.S. Comunidades de fungos micorrízicos arbusculares associados ao amendoim forrageiro em pastagens consorciadas no Estado do Acre, Brasil. **Acta Amazonica**, v.40, n.1, p.13-22, 2010.
- MONICA, I.F.D.; SAPARRAT, M.C.N.; GODEAS, A.M. & SCERVINO, J.M. The co-existence between DSE and AMF symbionts affects plant P pools through P mineralization and solubilization processes. **Fungal Ecology**, v.17, p.10-17, 2015.
- MUTHURAJA, R.; MUTHUKUMAR, T.; SATHIYADASH, K.; UMA, E. & PRIYADHARSINI, P. Arbuscular Mycorrhizal (AM) and Dark Septate Endophyte (DSE) Fungal Association in Lycophytes and Ferns of the Kolli Hills, Eastern Ghats, Southern India. **American Fern Journal**, v.104, n.2, p.67-102, 2014.
- NAGARAJ, K.; PRIYADHARSINI, P. & MUTHUKUMAR, T. Mycorrhizal and septate endophytic fungal associations in gymnosperms of southern India. **Anales de Biología**, v.37, p.83-94, 2015.
- NASIM, G.; ALI, A.; MUNAWAR, A. & BAJWA, R. Seasonal dynamics of AM fungi in sugarcane (*Saccharum officinarum* L. CV SPF-213) in relation to red rot (*Colletotrichum falcatum*) disease from Punjab, Pakistan. **Pak. J. Bot.**, v.40, n.6, p. 2587-2600, 2008.
- NICHOLS, K.A. Characterization of glomalina - a glycoprotein produced by arbuscular mycorrhizal fungi. Tese. University of Maryland, College Park, MD, 287p., 2003.
- NOBRE, C.P. **Fungos Micorrízicos Arbusculares no Bioma Caatinga: Ecologia e Caracterização da Estrutura da Comunidade de FMA em Função da Variação na Fisionomia Vegetal**. Tese. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 99p, 2014.
- NOGUEIRA, A.R.A. & SOUZA, G.B. **Manual de Laboratórios: Solo, Água, Nutrição Vegetal, Nutrição Animal e Alimentos**. Embrapa Pecuária Sudeste, São Carlos, 313p., 2005.
- OEHL, F.; SIEVERDING, E.; INEICHEN, K.; MADER, P.; BOLLER, T. & WIEMKEM, A. Impact of Land Use Intensity on the Species Diversity of Arbuscular Mycorrhizal Fungi in Agroecosystems of Central Europe. **Applied and Environmental Microbiology**, v.69, n.5, p.2816-2824, 2003.
- OLIVEIRA, A.L.M. **Inoculação de Bactérias Diazotróficas Endofíticas em Duas Variedades de Cana-de-Açúcar Cultivadas sob Condições de Campo**. Tese. Universidade Federal Rural de Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 114p., 2003.
- OWEN, D.; WILLIAMS, A.P.; GRIFFITH, G.W. & WITHERS, P.J.A. Use of commercial bio-inoculants to increase agricultural production through improved phosphorus acquisition. **Applied Soil Ecology**, v.86, p.41-54, 2015.
- OZTEKIN, G.B.; TUZEL, Y. & TUZEL, I.H. Does mycorrhiza improve salinity tolerance in grafted plants? **Scientia Horticulturae**, v.149, p.55-60.
- PAUNGFUO-LONHIENNE, C.; LONHIENNE, T.G.A.; YEAOH, Y.K.; WEBB, R.I.; LAKSHMANANM, P.; CHAN, C.X.; LIM, P.; RAGAN, M.A.; SCHMIDT, S.

&HUGENHOLTZ, P. A new species of *Burkholderia* isolated from sugarcane roots promotes plant growth. **Microb Biotechnol.**, v.7, n.2, p.142-154, 2014.

PEREIRA, W. **Produtividade e Qualidade Tecnológica da Cana-de-açúcar Inoculada com Bactérias Diazotróficas**. Dissertação. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 61p., 2011.

PETERSON, R.L.; MASSICOTE, H.B. & MELVILLE, L.H. **Mycorrhizas: Anatomy and cell biology**. NRC Research Press, Ottawa, 173p., 2004.

PHILIPS, J.M. & HAYMAN, D.S. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. **Trans. British Mycol. Soc.**, v.55, p.158-161, 1970.

PICONE, C. Diversity and abundance of arbuscular-mycorrhizal fungus spores in tropical forest and pasture. **Biotropica**, v.32, p.734-750, 2000.

POUYÚ-ROJAS, E., SIQUEIRA, J.O. & SANTOS, J.G.D. Compatibilidade simbiótica de fungos micorrízicos arbusculares com espécies arbóreas tropicais. **R. Bras. Ci. Solo**, v.30, p.413-424, 2006.

REDECKER, D.; SCHÜBLER, A.; STOCKINGER, H.; STÜRMER, S.L., MORTON, J.B. & WALKER, C. An evidence-based consensus for the classification of arbuscular mycorrhizal fungi (*Glomeromycota*). **Mycorrhiza**, v.23, n.7, p.515-531, 2013.

REIS, V.M.; PAULA, M.A. & DÖBEREINER, J. Ocorrência de micorrizas arbusculares e da bactéria diazotrófica *Acetobacter diazotrophicus* em cana-de-açúcar. **Pesq. agropec. bras., Brasília**, v.34, n.10, p. 1933-1947, 1999.

REIS, M.R.; TIRONI, S.P.; COSTA, M.D.; SILVA, M.C.S.; FERREIRA, E.A.; BELO, A.F.; BARBOSA, M.H.P. & SILVA, A.A. Colonização micorrízica e atividade de fosfatases ácidas na rizosfera de cultivares de cana-de-açúcar após aplicação de herbicidas. **Planta Daninha, Viçosa-MG**, v.27, p.977-985, 2009.

REMY, W.; TAYLOR, T.N.; HASS, H. & KERP, H. Four-hundred-million-year-old vesicular arbuscular mycorrhizae. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, v.91, p.11841-11843, 1994.

ROCHA, F. S.; SAGGIN JUNIOR, O. J.; SILVA, E. M. R. D. & LIMA, W. L. D. Cedar seedlings dependency and responsiveness to arbuscular mycorrhizal fungi. **Pesquisa Agropecuaria Brasileira**, v.41, n. , p. 7-84, 2006.

RODRIGUES, J.D. Fisiologia da cana-de-açúcar. Botucatu: UNESP, Instituto de Biociências, 1995. 99 p. In: JUNIOR, S.C.C. **Fisiologia da emergência e perfilhamento em mini-toletes de variedades de cana-de-açúcar**. Dissertação. Universidade de São Paulo, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, SP, 92p., 2012.

ROKNI, N. & GOLTAPPEH, M. Diversity of Arbuscular Mycorrhizal Fungi associated with common sugarcane varieties in Iran. **Journal of Agricultural Technology**, v.7, n.4, p.1017-1022, 2011.

ROSETTO, R.; DIAS, F.L.F. & VITTI, A.C. Fertilidade do solo, nutrição e adubação. In: **Cana-de-açúcar**. DINARDO-MIRANDA,L.L.; VASCONCELOS, A.C.M.P. & LANDELL, M.G.A. Instituto Agrônomo, Campinas, SP, p.221-237, 2010.

SAGGIN JUNIOR, O. J. & SIQUEIRA, J. O. Evaluation of the symbiotic effectiveness of endomycorrhizal fungi for coffee tree. **Revista Brasileira de Ciencia do Solo**, v.19, n.2, p.221-228, 1995.

- SAGGIN JUNIOR, O. J.; SIQUEIRA, J. O.; GUIMARAES, P. T. G. & OLIVEIRA, E. Mycorrhizal fungi-superphosphate interactions and their effects on growth and nutrient content of coffee seedlings in non-fumigated soil. **Revista Brasileira de Ciencia do Solo**, v.18, n.1, p.27-36, 1994.
- SANTOS, R.S.; BARRETO, P.A.B. & SCORRIZA, R.N. Efeito da sazonalidade na comunidade de fungos micorrízicos arbusculares em um fragmento de mata de cipó em Vitória da Conquista, Bahia. **Revista Brasileira de Biociências**, v.12, n.1, p.46-51, 2014.
- SCARPARI, M.S. & BEAUCLAIR, E.G.F. Anatomia e botânica. *In: Cana-de-açúcar*. DINARDO-MIRANDA, L.L.; VASCONCELOS, A.C.M.P. & LANDELL, M.G.A. Instituto Agrônomo, Campinas, SP, p.47-56, 2010.
- SCEVERINO, J.M.; GOTTLIEB, A.; SILVANI, V.A.; PÉRGOLA, M.; FERNÁNDEZ, L. & GODEAS, A.M. Exudates of dark septate endophyte (DSE) modulate the development of the arbuscular mycorrhizal fungus (AMF) *Gigaspora rosea*. **Soil Biology & Biochemistry**, v.41, p.1753-1756, 2009.
- SCHÜBLER, A.; SCHWARZOTT, D. & WALKER, C. A new fungal phylum, the Glomeromycota: phylogeny and evolution. **Mycological Research**, v.105, p.1413-1421, 2001.
- SCHULTZ, N. **Fixação de Nitrogênio Associada à Cultura da Cana de Açúcar: Eficiência e Contribuição da Inoculação com Bactérias Diazotróficas**. Tese. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 119p., 2012.
- SEERANGAN, K. & THANGAVELU, M. Arbuscular Mycorrhizal and Dark Septate Endophyte Fungal Associations in South Indian Aquatic and Wetland Macrophytes. **Journal of Botany**, v.2014, p.1-14, 2014
- SILVA, M.N. **Uso de Inoculante Polimérico contendo Bactérias Diazotróficas na Cultura da Cana-de-açúcar**. Tese. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 80p., 2009.
- SILVA, S.; SIQUEIRA, J.O. & SOARES, C.R.F.S. Fungos micorrízicos no crescimento e na excreção de metais pesados pela braquiária em solo contaminado. **Pesq. agropec. bras.**, v.41, n.12, p.1749-1757, 2006.
- SIMON, L.; BOUSQUET, J.; LEVESQUE, R.C. & LALONDE, M. Origin and diversification of endomycorrhizal fungi and coincidence with vascular land plants. **Nature**, v.363, p.67-69, 1993.
- SIQUEIRA, J.O.; LAMBAIS, M.R. & STÜRMER, S.L. Fungos micorrízicos arbusculares. Características, associação simbiótica e aplicação na agricultura. **Biotecnología, Ciencia & Desenvolvimento**, n.25, p.12-21, 2002.
- SIQUEIRA, J.O. & SAGGIN-JÚNIOR, O.J. Dependency on arbuscular mycorrhizal fungi and responsiveness of some Brazilian native woody species. **Mycorrhiza**, v.11, n.5, p.245-255, 2001.
- SMITH, S.E. & READ, D.J. **Mycorrhizal Symbiosis**. Elsevier, Great Britain. 768 p, 2008.
- SMITH, S.E. & SMITH, F.A. Fresh perspectives on the roles of arbuscular mycorrhizal fungi in plant nutrition and growth. **Mycologia**, v.104, n.1., p.1-13, 2012.
- SOUSA, C.S.; MENEZES, R.S.C.; SAMPAIO, E.V.S.B. & LIMA, F.S. Glomalin: characteristics, production, limitations and contribution to soils. **Semina: Ciências Agrárias**, v.33, n.1, p.3033-3044, 2012.

STÜRMER, S.L. & SIQUEIRA, J.O. Diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in Brazilian ecosystems. *In*: MOREIRA, F.M.S.; SIQUEIRA, O.J. & BRUSSAARD, L. **Soil Biodiversity in Amazonian and other Brazilian Ecosystems**. Wallingford, CAB Publishing, p.206-236, 2006.

STÜRMER, S.L. & SIQUEIRA, J.O. Fungos micorrízicos. *In*: MOREIRA, F.M.S.; CARES, J.E.; ZANETTI, R. & STÜRMER, S.L. **Ecosistema Solo: Componentes, relações ecológicas e efeitos na produção vegetal**. UFLA, Lavras, p.291-310, 2013.

TAVARES, M.F.F. & HABERLI, C. **O mercado de fertilizantes no Brasil e as influências mundiais**. ESPM, 16p., 2011. Disponível em: <<http://www2.espm.br/sites/default/files/fertilizantes.pdf>>. Acesso em: dezembro, 2015.

TIAN, H.; DRIJBER, R.A.; ZHANG, J.L. & LI, X.L. Impact of long-term nitrogen fertilization and rotation with soybean on the diversity and phosphorus metabolism of indigenous arbuscular mycorrhizal fungi within the roots of maize (*Zea mays* L.). **Agriculture Ecosystems & Environment**, v.164, n.1, p.53-61, 2013.

TICIANEL, T. **Sistema Mafes (Penta)**. Disponível em: <http://www.lpv.esalq.usp.br/lpv584/SISTEMA_MAFES%20por%20Tulio%20Ticianel.pdf>. Acesso em: janeiro, 2016.

UNICA (União da Indústria da Cana-de-açúcar). **Área plantada com cana-de-açúcar 2012**. Disponível em: <<http://www.unicadata.com.br/>>. Acesso em: julho, 2014.

UNICA (União da Indústria da Cana-de-açúcar). **Moagem de cana de açúcar. Safra 2013/2014**. Disponível em: <<http://www.unica.com.br/unicadata>>. Acesso em: julho, 2015.

VAN KAUWENBERGH, S.J. **World Phosphate Rock Reserves and Resources**. IFDC, Alabama, 48p., 2010.

VARMA, A. **Mycorrhiza State of Art, Genetics and Molecular Biology, Eco-Function, Biotechnology, Eco-Physiology, Structure and Systematics**. Springer, Berlin, 797p., 2008.

VASCONCELOS, A.C.M. & CASAGRANDE, A.A. Fisiologia do sistema radicular. *In*: DINARDO-MIRANDA, L.L.; VASCONCELOS, A.C.M. & LANDELL, M.G.A. **Cana-de-açúcar**. IAC, Campinas, p.79-97, 2010.

VIANA, A.R.; FERREIRA, J.M. & FILHO, S.B.R. **Produção de cana-de-açúcar visando a sua utilização na alimentação de bovinos de leite**. Manual Técnico (30), Niterói, RJ, 13p., 2012.

VITTI, A.C.; CANTARELLA, H.; TRIVELIN, P.C.O. & ROSSETTO, R. Nitrogênio. *In*: DINARDO-MIRANDA, L.L.; VASCONCELOS, A.C.M.P. & LANDELL, M.G.A. **Cana-de-açúcar**. Instituto Agrônomo, Campinas, SP., p.239-269, 2010.

VOSÁTKA, M.; LÁTR, A.; GIANINAZZI, S. & ALBERCHTOVÁ, J. Development of arbuscular mycorrhizal biotechnology and industry: current achievements and bottlenecks. **Symbiosis**, v.58, n.1, p.29-37, 2012.

WRIGHT, S.F. & UPADHYAYA, A. Extraction of abundant and unusual protein from soil and comparison with hyphal protein of arbuscular mycorrhizal fungi. **Soil Science**, v.161, n.9, p.575-586, 1996.

WRIGHT, S.F. & UPADHYAYA, A. A survey of soils for aggregate stability and glomalin, a glycoprotein produced by hyphae of arbuscular mycorrhizal fungi. **Plant and Soil**, v.198, n.1, p.97-107, 1998.

WU, Q.; CAO, M.; ZOU, Y. & HE, X. Direct and indirect effects of glomalin, mycorrhizal hyphae, and roots on aggregate stability in rhizosphere of trifoliolate orange. **Scientific Reports**, v.4, p.1-8, 2014.

XIANG, D.; VERBRUGGEN, E.; HU, Y.; VERESOGLOU, S.D.; RILLING, M.C.; ZHOU, W.; XU, T.; LI, H.; HAO, Z.; CHEN, Y. & CHEN, B. Land use influences arbuscular mycorrhizal communities in the farming-pastoral ecotone of northern China. **New Phytologist**, v.204, p.968-978, 2014.

XIE, L.; ZHANG, W.; QIN, L.; LAN, T.; NARISAWA, K.; LI, S.; DENG, X. & LIAO, S. Effects of dark septate endophytes (DSE) on sugarcane seedling growth. **Journal of Southern Agriculture**, v.44, n.11, p.1827-1830, 2013.

ZHANG, Y.; GUI, L.D. & LIU, R.J. Survey of arbuscular mycorrhizal fungi in deforested and natural land in subtropical region of Dujiangyan, southwest China. **Plant and Soil**, v.261, p.257-263, 2004.

ZUBEK, S.; BLASZKOWSKI, J.; DELIMAT, A. & TURNAU, K. Arbuscular Mycorrhizal and Dark Septate Endophyte Colonization along Altitudinal Gradients in the Tatra Mountains. **Arctic Antarctic & Alpine Research**, v.41, n.2, p.272-279, May 2009.

ZUBEK, S.; BLASZKOWSKI, J. & MLECZKO, P. Arbuscular mycorrhizal and dark septate endophyte associations of medicinal plants. **Acta Societatis Botanicorum Poloniae**, v.80, n.4, p.285-292, 2011.

7. ANEXOS

Anexo A. Resultados médios de análises de solos realizadas antes do início do levantamento das comunidades de fungos micorrízicos em março de 2014.

Áreas	Data da análise	Prof.	pH (CaCl ₂)	M.O.	P-resina	K	Ca	Mg	H + Al	Al	SB	CTC	V	m
AR	10/11/2011	0-20	6,3	6	35	1,4	17	5	11	0	23	35	67	0
		20-40	6,0	4	15	1,2	14	4	12	0	19	31	61	0
AM	19/12/2013	0-20	5,5	7	6	0,5	15	6	12	0	22	34	65	0
		20-40	5,3	6	4	0,5	13	5	13	0	18	31	57	1
AE	19/12/2013	0-20	4,7	10	5	1,0	10	5	17	1	15	32	48	4
		20-40	4,7	10	5	1,1	9	5	18	0	15	33	47	3

AR: Área nº 7403 com renovação do plantio de cana-de-açúcar em março de 2014 após rotação com *Brachiaria ruziziensis* na entressafra; **AM:** Área nº 7802 com renovação do plantio de cana-de-açúcar em março de 2014 após 18 anos de monocultivo desta lavoura; **AE:** Área nº 7994 com expansão do plantio de cana-de-açúcar em março de 2014 sobre pastagem de capim braquiária. Prof.: profundidade; pH: potencial hidrogeniônico; M.O.: Matéria orgânica; P-resina: fósforo pelo método da resina; SB: Soma de bases; CTC: capacidade de troca catiônica; V: saturação por bases; m: saturação por alumínio.

Anexo B. Nível de significância (Valores de F) das fontes de variação na análise de variância da altura de mudas de cana-de-açúcar em avaliações periódicas após o plantio.

Fontes de variação	Tempo após o plantio (dias)					
	13	33	61	80	105	120
Solo	0,00 **	0,00 **	0,00 **	0,00 **	0,00 **	0,00 **
Inoculação	0,00 **	0,00 **	0,00 **	0,06 °	0,37	0,59
Solo x Inoculação	0,29	0,10 °	0,15	0,02 *	0,04 *	0,19
Bloco	0,40	0,38	0,01 **	0,25	0,10 °	0,01 **
CV(%)	17,00	11,08	11,35	11,79	12,30	14,13

CV%: Coeficiente de variação; **: altamente significativo ($P \leq 0,01$); *: significativo ($0,01 < P \leq 0,05$); °: próximo da significância ($0,06 \leq P \leq 0,10$).

Anexo C. Nível de significância (Valores de F) das fontes de variação na análise de variância de número de perfilhos e área foliar de mudas de cana-de-açúcar em avaliações periódicas após o plantio.

Fontes de variação	Número de perfilhos				Área foliar (mm ²)			
	Tempo após o plantio (dias)							
	61	80	105	120	61	80	105	120
Solo	0,0 *	0,00 **	0,00 **	0,0 *	0,0 **	0,00 **	0,0 *	0,00 *
Inoculação	0,0 *	0,00 **	0,11	0,4	0,0 °	0,18	0,1	0,60
Solo x Inoculação	0,2	0,03 *	0,92	0,8	0,0 *	0,47	0,1	0,12
Bloco	0,5	0,44	0,68	0,9	0,0 *	0,02 *	0,0 *	0,14
CV(%)	16,	14,3	13,1	11,	26,	19,3	17,	19,5

Dados de número de perfilhos transformados por raiz quadrada de (X+1); CV%: Coeficiente de variação; **: altamente significativo ($P \leq 0,01$); *: significativo ($0,01 < P \leq 0,05$); °: próximo da significância ($0,06 \leq P \leq 0,10$).

Anexo D. Nível de significância (Valores de F) das fontes de variação na análise de variância do comprimento e largura da folha +1 de cana-de-açúcar em avaliações periódicas após o plantio.

Fontes de variação	Comprimento da folha +1				Largura da folha +1			
	Tempo após o plantio (dias)							
	61	80	105	120	61	80	105	120
Solo	0,00 **	0,00 **	0,00 **	0,00 **	0,00 **	0,00 **	0,00 **	0,00 **
Inoculação	0,05 *	0,01 **	0,12	0,12	0,05 *	0,78	0,03 *	0,29
Solo x Inoculação	0,33	0,06 °	0,07 °	0,00 **	0,03 *	0,97	0,05 *	0,00 **
Bloco	0,92	0,00 **	0,07 °	0,43	0,60	0,09 °	0,01 **	0,00 **
CV(%)	12,4	9,2	9,3	8,5	16,1	11,9	9,4	9,7

Dados de número de perfilho transformados por raiz quadrada de (X+1); CV%: Coeficiente de variação; **: altamente significativo ($P \leq 0,01$); *: significativo ($0,01 < P \leq 0,05$); °: próximo da significância ($0,06 \leq P \leq 0,10$).

Anexo E. Nível de significância (Valores de F) das fontes de variação na análise de variância das massas secas e frescas de mudas de cana-de-açúcar aos 120 dias após o plantio.

Fontes de variação	Massa seca				Massa fresca			
	Folhas	Colmo	Raízes	Total	Folhas	Colmo	Raízes	Total
Solo	0,00 **	0,00 **	0,00 **	0,0 *	0,0 **	0,0 *	0,0 **	0,0 *
Inoculação	0,95	0,23	0,30	0,1	0,8	0,2	0,3	0,1
Solo x Inoculação	0,74	0,15	0,21	0,1 °	0,4	0,3	0,0 *	0,0 °
Bloco	0,00 **	0,00 **	0,67	0,2	0,0 **	0,0 *	0,2	0,0 °
CV(%)	18,8	30,9	28,8	19,	17,	29,	23,	17,

CV%: Coeficiente de variação; **: altamente significativo ($P \leq 0,01$); *: significativo ($0,01 < P \leq 0,05$); °: próximo da significância ($0,06 \leq P \leq 0,10$).

Anexo F. Nível de significância (Valores de F) das fontes de variação na análise de variância de teor e quantidade de P em discos de limbo foliar de cana-de-açúcar em avaliações periódicas após o plantio.

Fontes de variação	Teor de P no disco foliar			Quantidade de P no disco foliar		
	Tempo após o plantio (dias)					
	60	90	120	60	90	120
Solo	0,00 **	0,00 **	0,00 **	0,00 **	0,00 **	0,00 **
Inoculação	0,01 **	0,09 °	0,03 *	0,09 °	0,02 *	0,01 **
Solo x Inoculação	0,06 °	0,88	0,10 °	0,37	0,95	0,06 °
Bloco	0,01 **	0,68	0,84	0,02 *	0,73	0,52
CV(%)	23,9	22,4	21,3	25,9	19,5	17,4

CV%: Coeficiente de variação; **: altamente significativo ($P \leq 0,01$); *: significativo ($0,01 < P \leq 0,05$); °: próximo da significância ($0,06 \leq P \leq 0,10$).

Anexo G. Nível de significância (Valores de F) das fontes de variação na análise de variância de teor de macronutrientes nas folhas de mudas de cana-de-açúcar em avaliações periódicas após o plantio.

Fontes de variação	Teor de macronutrientes nas folhas				
	Nitrogênio	Potássio	Cálcio	Magnésio	Enxofre
Solo	0,00 **	0,00 **	0,00 **	0,00 **	0,00 **
Inoculação	0,25	0,29	0,26	0,39	0,30
Solo x Inoculação	0,33	0,18	0,35	0,14	0,64
Bloco	0,56	0,53	0,00 **	0,00 **	0,60
CV(%)	19,8	8,5	13,7	14,4	35,8

CV%: Coeficiente de variação; **: altamente significativo ($P \leq 0,01$); *: significativo ($0,01 < P \leq 0,05$); °: próximo da significância ($0,06 \leq P \leq 0,10$).

Anexo H. Nível de significância (Valores de F) das fontes de variação na análise de variância de teor de micronutrientes nas folhas de mudas de cana-de-açúcar em avaliações periódicas após o plantio.

Fontes de variação	Teor de micronutrientes nas folhas				
	Cobre	Ferro	Zinco	Manganês	Boro
Solo	0,00 **	0,00 **	0,01 **	0,00 **	0,00 **
Inoculação	0,29	0,57	0,83	0,79	0,40
Solo x Inoculação	0,13	0,42	0,96	0,04 *	0,73
Bloco	0,27	0,04 *	0,64	0,09 °	0,77
CV(%)	45,9	157,7	80,7	22,6	53,3

CV%: Coeficiente de variação; **: altamente significativo ($P \leq 0,01$); *: significativo ($0,01 < P \leq 0,05$); °: próximo da significância ($0,06 \leq P \leq 0,10$).

Anexo I. Nível de significância (Valores de F) das fontes de variação na análise de variância das colonizações radiculares e teor de fósforo na parte aérea de mudas de cana-de-açúcar aos 120 dias após o plantio.

Fontes de variação	Colonização radicular				Teor de fósforo
	Apenas por DSE	FMA + DSE	DSE total	FMA total	
Solo	0,00 **	0,00 **	0,00 **	0,00 **	0,00 **
Inoculação	0,00 **	0,00 **	0,00 **	0,00 **	0,00 **
Solo x Inoculação	0,00 **	0,00 **	0,00 **	0,00 **	0,00 **
Bloco	1,00	1,00	0,98	0,99	0,22
CV(%)	27,3	83,6	18,5	81,4	13,9

DSE: endófitos septados escuros (*Dark Septate Endophytes*); FMA: Fungos micorrízicos arbusculares; CV%: Coeficiente de variação; **: altamente significativo ($P \leq 0,01$); *: significativo ($0,01 < P \leq 0,05$); °: próximo da significância ($0,06 \leq P \leq 0,10$).

Anexo J. Nível de significância (Valores de F) das fontes de variação na análise de variância da densidade de esporos de fungos micorrízicos arbusculares (Glomerosporos) recuperados da rizosfera de mudas de cana-de-açúcar aos 120 dias após o plantio.

Fontes de variação	Densidade de Glomerosporos												
	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M
Solo	0, *	0, *	0, *	0, *	0, *	0, *	0, *	0, *	0, *	0, *	0, *	0, *	0, *
Inocul	0, *	0, *	0, *	0, *	0, *	0, *	0, *	0, *	0, *	0, *	0, *	0, *	0, *
Solo x Bloco	0, *	0, *	0, *	0, *	0, *	0, *	0, *	0, *	0, *	0, *	0, *	0, *	0, *
CV(%)	14	28	21	35	25	59	88	32	14	38	14	14	81

CV%: Coeficiente de variação; **: altamente significativo ($P \leq 0,01$); *: significativo ($0,01 < P \leq 0,05$); °: próximo da significância ($0,06 \leq P \leq 0,10$). A: Glomerosporos totais; B: Glomerosporos das espécies inoculadas; Glomerosporos de C: *Rhizophagus diaphanus*; D: *Acaulospora colombiana*; E: *Acaulospora morrowiae*; F: *Acaulospora scrobiculata*; G: *Glomus* sp; H: *Dentiscutata heterogama*; I: *Claroideoglomus etunicatum*; J: *Scutellospora calospora*; K: *Acaulospora mellea*; L: *Entrophospora contigua* e M: *Gigaspora margarita*.

Anexo K. Nível de significância (Valores de F) das fontes de variação na análise de variância da altura, diâmetro do caule e número de folhas de mudas pré-brotadas de cana-de-açúcar aos 20 e 40 dias após o plantio.

Fontes de variação	Altura		Diâmetro do caule		Número de folhas	
	20 dias	40 dias	20 dias	40 dias	20 dias	40 dias
Substrato	0,00 **	0,00 **	0,00 **	0,00 **	0,00 **	0,00 **
Inoculação	0,00 **	0,01 **	0,00 **	0,00 **	0,03 *	0,00 **
Substrato x Inoculação	0,00 **	0,00 **	0,00 **	0,00 **	0,02 *	0,01 **
CV(%)	34,7	21,1	19,8	16,7	28,8	20,3

CV%: Coeficiente de variação; **: altamente significativo ($P \leq 0,01$); *: significativo ($0,01 < P \leq 0,05$); °: próximo da significância ($0,06 \leq P \leq 0,10$).

Anexo L. Nível de significância (Valores de F) das fontes de variação na análise de variância das massas secas e frescas de mudas pré-brotadas de cana-de-açúcar aos 40 dias após o plantio e inoculação com FMAs.

Fontes de variação	Massa fresca			Massa seca		
	Parte	Raízes	Total	Parte	Raízes	Total
Substrato	0,00 *	0,00 *	0,00 *	0,00 *	0,00 *	0,00 *
Inoculação	0,00 *	0,00 *	0,00 *	0,03 *	0,00 *	0,02 *
Substrato x Inoculação	0,00 *	0,07 °	0,00 *	0,00 *	0,28	0,01 *
CV(%)	31,1	50,9	34,1	35,8	65,3	38,7

CV%: Coeficiente de variação; **: altamente significativo ($P \leq 0,01$); *: significativo ($0,01 < P \leq 0,05$); °: próximo da significância ($0,06 \leq P \leq 0,10$).

Anexo M. Nível de significância (Valores de F) das fontes de variação na análise de variância das colonizações radiculares de mudas pré-brotadas de cana-de-açúcar aos 40 dias após o plantio.

Fontes de variação	Colonização radicular			
	Apenas por DSE	FMA + DSE	DSE total	FMA total
Substrato	0,00 **	0,00 **	0,05 *	0,00 **
Inoculação	0,00 **	0,00 **	0,02 *	0,00 **
Substrato x Inoculação	0,00 **	0,00 **	0,09 °	0,00 **
CV(%)	22,2	150,5	14,8	150,8

DSE: endófitos septados escuros (Dark Septate Endophytes); FMA: Fungos micorrízicos arbusculares; CV%: Coeficiente de variação; **: altamente significativo ($P \leq 0,01$); *: significativo ($0,01 < P \leq 0,05$); °: próximo da significância ($0,06 \leq P \leq 0,10$).