

ANÁLISE DO CRESCIMENTO, NUTRIÇÃO E FISIOLÓGICA DE
PLANTAS DE MILHO (*Zea mays* L.) INOCULADAS COM
Claroideoglomerum etunicatum

GESSANE ABREU OLIMPIO

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE
DARCY RIBEIRO

CAMPOS DOS GOYTACAZES – RJ
ABRIL – 2019

ANÁLISE DO CRESCIMENTO, NUTRIÇÃO E FISIOLÓGICA DE
PLANTAS DE MILHO (*Zea mays* L.) INOCULADAS COM
Claroideoglomerum etunicatum

GESSANE ABREU OLIMPIO

“Dissertação apresentada ao Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como parte das exigências para obtenção do título de Mestrado em Produção Vegetal”

Orientador: Prof. Alessandro Ramos Coutinho

CAMPOS DOS GOYTACAZES – RJ
ABRIL – 2019

FICHA CATALOGRÁFICA
UENF - Bibliotecas
Elaborada com os dados fornecidos pela autora.

Z87 Olimpio, Gessane Abreu.

Análise do crescimento, nutrição e fisiológica de plantas de milho (*Zea mays* L.) inoculadas com *Claroideoglomus etunicatum*/ Gessane Abreu Olimpio. - Campos dos Goytacazes, RJ, 2019.

47 f. : il. Bibliografia:
31 - 36.

Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) - Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias, 2019.
Orientador: Alessandro Ramos Coutinho.

1. Micorrizas. 2. Fósforo. 3. Microrganismos. 4. Promoção de crescimento. 5. Trocas gasosas. I. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. II. Título.

CDD - 630

ANÁLISE DO CRESCIMENTO, NUTRIÇÃO E FISIOLÓGICA DE
PLANTAS DE MILHO (*Zea mays* L.) INOCULADAS COM
Claroideoglomus etunicatum

GESSANE ABREU OLIMPIO

“Dissertação apresentada ao Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como parte das exigências para obtenção do título de Mestrado em Produção Vegetal”

Aprovada em 26 de abril de 2019

Comissão Examinadora:



Dr^a. Amanda Azevedo Bertolazi (D.Sc, Produção Vegetal) – UVV



Dr. Frederico Jacob Eutrópio (D.Sc, Ecologia de Ecossistemas) – MULTIVIX



Dr^a Juliana Melo da Conceição (D.Sc., Ecologia de Ecossistemas) – Univ. de Lisboa



Prof. Alessandro Coutinho Ramos (D.Sc., Produção Vegetal) – UENF
(Orientador)

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus pela vida, saúde, por sempre me dar forças para enfrentar as dificuldades, permitindo concluir essa importante etapa.

Aos meus pais por todo carinho, incentivo e dedicação, sempre empenhados em me oferecer uma boa educação.

Ao meu namorado Wagner Quadra Mendonça, por sempre estar ao meu lado, sempre me apoiando e mostrando-se companheiro.

Às amigas Liliane e Mariane por todos os momentos de convivência: estudo e descontração.

A Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, ao Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal, que me proporcionou realizar o curso de Mestre em Produção Vegetal e a todos os professores que contribuíram para essa formação.

Ao Prof. PhD. Alessandro Coutinho Ramos agradeço pela orientação neste trabalho.

A Luana, Kíssila, Bianca e Sávio pelo auxílio durante a realização do experimento.

A Capes pelo apoio financeiro concedido.

SUMÁRIO

RESUMO	v
ABSTRACT	vii
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1. A cultura do milho	3
2.2. Associação micorrizica	5
2.3. Nutrição de plantas micorrizadas	7
3. MATERIAL E MÉTODOS	9
3.1. Inoculo do fungo micorrizico arbuscular e material vegetal	9
3.2. Condições de crescimento das plantas e inoculação micorrízica	9
3.3. Parâmetros de crescimento, colonização e eficiência micorrízica	10
3.4. Parâmetros de trocas gasosas, índice de cor verde clorofila e fluorescência	11
3.5. Análise do teor e conteúdo de nutrientes da parte aérea e raiz das plantas	11
3.6. Análise dos dados	12
4. RESULTADOS	13
4.1. Respostas no crescimento de plantas de milho inoculadas e não com microorganismos simbiotes	13
4.2. Taxa de colonização micorrízica	16
4.3. Parâmetros de trocas gasosas e eficiência fotossintética	16
4.4. Acumulo de nutrientes na raiz e parte aérea	20

5. DISCUSSÃO	25
6. RESUMO E CONCLUSÕES	29
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	31

RESUMO

OLIMPIO, Gessane Abreu, M.Sc., Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. Abril de 2019. Análise do crescimento, nutrição e fisiológica de plantas de milho (*Zea mays* L.) inoculadas com *Claroideoglomus etunicatum*. Orientador: Prof. Alessandro Coutinho Ramos.

Há uma crescente busca por alternativas que propiciem uma agricultura sustentável. O uso de micro-organismos simbiotes vem sendo estudado como uma possível alternativa que possa suprir as necessidades da cultura fornecendo menor impacto ao meio ambiente. Com isso, objetivou-se com este trabalho analisar o efeito da *Claroideoglomus etunicatum* sobre o crescimento, nutrição e fisiologia de plantas de milho. O experimento foi conduzido em casa de vegetação na UENF, Campos dos Goytacazes-RJ. A inoculação das plantas com FMA, *Claroideoglomus etunicatum* foram realizadas no plantio, aplicando-se 10 g do inoculo a três cm abaixo da superfície do substrato. As plantas não inoculadas receberam a quantidade equivalente ao inoculante, porém com o substrato. Com 15 dias após o plantio as plantas de milho foram transferidas para vasos (2,5 L), mantendo o substrato próximo a capacidade campo. No final do experimento foram avaliados os parâmetros de crescimento das plantas, colonização e dependência micorrízica, trocas gasosas, fluorescência da clorofila a e o teor de nutrientes nas plantas. A realizar a comparação é possível identificar que as plantas micorrizadas apresentaram maior e significativo ($P \leq 0,0001$) crescimento quando comparadas às plantas do tratamento controle (não inoculadas). Em termos dos parâmetros da taxa fotossintética líquida (A) ($p = 0,0261$), condutância

estomática ao vapor de água (gs) ($p = 0,0465$) e taxa transpiratória (E) ($p = 0,0201$) houve diferença significativa em todos os parâmetros quando comparadas ao tratamento controle. A inoculação com *Claroideoglomus etunicatum* proporcionou as plantas de milho incrementos nos parâmetros de crescimento em relação ao controle, tornando-se mais tolerantes as adversidades do meio ambiente em que se encontravam.

ABSTRACT

OLIMPIO, Gessane Abreu, M.Sc., Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. April, 2019. Growth, nutrition and physiological analysis of maize plants (*Zea mays* L.) inoculated with *Claroideoglossum etunicatum*. Advisor: Professor Alessandro Coutinho Ramos.

There is a growing search for alternatives that foster sustainable agriculture. The use of symbiotic microorganisms has been studied as an alternative alternative so that the needs of the crop are smaller than the environmental impact. The objective of this study was to analyze the effect of arbuscular mycorrhization of *Claroideoglossum etunicatum* on the growth, nutrition and physiology of corn plants. The experiment was conducted in a greenhouse at the UENF, Campos dos Goytacazes, Rio de Janeiro State, Brazil. Plant innovation with FMA, *Claroideoglossum etunicatum* went ahead in planting, applying 10 g of the inoculum to 3 cm below the surface of the substrate. The uninoculated plants received an amount equivalent to the inoculant, but with the substrate. With 15 days after planting as wheat plants for pots (2.5 L), keeping the substrate close to the field capacity. At the end of the experiment, the determinants of plant growth, colonization and mycorrhizal dependence, gas exchange, chlorophyll fluorescence and nutrient content were evaluated. An attempt to compare it is possible to identify how mycorrhizal plants are larger and significant ($P \leq 0.0001$) when compared to control (non-inoculated) control plants. The terms of the liquid photosynthetic parameters (A) ($p = 0.0261$), stomatal conductance to water vapor (g_s) ($p = 0.0465$) and transpiratory rate (E) ($p = 0.0201$) were different from those

in all criteria when compared to the control treatment. An inoculation with *Claroideoglossum etunicatum* as corn plants increased the growth parameters in relation to the control, becoming more tolerant as adversities of the environment in which they were found.

1. INTRODUÇÃO

Segundo a ONU estima-se uma população de 9 bilhões em 2050 e um dos grandes desafios é desenvolver tecnologias que possam ser opções sustentáveis para produção de alimentos (Searchinger et al., 2014). Isso porque de fato, atividades aplicadas na agricultura tais como mecanização, manejo da cultura e demais práticas das culturais acabam modificando os componentes físicos, químicos e biológicos do solo (Carrenho et al., 2010), e com uso recorrente dessas praticas acaba-se tendo uma degradação de componentes naturais do solo.

As plantas dependem de seus sistemas radiculares para obter água e os nutrientes que é primordial a sua sobrevivência e para sua produtividade e qualidade nutricional na agricultura (Bertolazi et al., 2018). Mas para isto a fertilidade ideal indispensável para um sistema de agricultura sustentável. Assim, presença de micro-organismos na região rizosférica que tornem os recursos dinâmicos disponíveis para as plantas e conservam a fertilidade do solo é fundamental e para isso, práticas agronômicas que sustentam a presença e a atividade do FMAs permitiria o aumento da produção de plantas em agricultura sustentável (Priyadharsini e Muthukuma, 2014).

Sendo assim, na intenção de estabelecer uma agricultura sustentável que diminua danos causados ao meio ambiente, os micro-organismos que favorecem o crescimento vem se tornando uma opção (Berg, 2009; Martínez-Medina et al., 2014). Os fungos conhecidos como micorrízicos arbusculares (FMAs) tem uma

origem estimada há mais de 400 milhões de anos (INVAM, 2012). Os FMA contribuem especialmente para o crescimento e o estado nutricional da planta, através do aumento da área de absorção pelo extenso micélio que se forma pelo solo e contribui na absorção de nutrientes de baixa disponibilidade, especialmente o fósforo (Yao et al., 2008). Além de promover o benefício de tolerância a determinadas doenças (Smith e Read, 2008) e a demais estresses bióticos e abióticos (Moreira e Siqueira, 2006). As micorrizas são simbioses complexas formadas por vários componentes (fungo, planta e solo) que tem fortes inter-relações que vai determinar a taxa de colonização, e os resultados e funções da simbiose para plantas e ecossistemas (Bertolazi et al., 2018).

Nesse contexto a hipótese dessa pesquisa foi que a simbiose micorrizica promove eficiente melhoria nas plantas de milho referentes a formação e ao desenvolvimento, modificando respostas morfológicas e fisiológicas referente a simbiose estabelecida quando em comparação a planta não inoculadas com *Claroideoglomus entunicatum*. Assim, o objetivo deste trabalho foi demonstrar a relação fungo-planta visando novas estratégias para o aumento da produtividade de culturas de interesse econômico.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Cultura do milho

O Brasil é o terceiro maior produtor mundial de milho, a produção brasileira no ano-safra de 2017/18 foi de aproximadamente 82 milhões de toneladas de grãos, o país destaca-se como segundo maior exportador mundial de milho, onde obteve uma participação média de 8,09% na oferta mundial desse produto (entre os anos-safra 2007/08 a 16/17) superado apenas pelos Estados Unidos (~35%) e pela China (~21%) (CONAB, 2018). Essa cultura também é muito cultivada como meio de fonte de renda por produtores rurais de pequenas áreas que possui menos tecnologia o que faz com que ela exerça o papel de elevada importância devido ao aspecto social (EMBRAPA, 2002).

Pertencente à família Poaceae, o milho é uma espécie anual com amplo cultivo destinado à produção de grãos utilizados para vários fins, tais como alimentação humana, alimentação animal e produtos industriais (Magalhães, 2009). É uma espécie de origem tropical com ciclo vegetativo variando entre 110 e 180 dias de acordo com a característica do genótipo, a temperatura ideal do solo para ocorrência de germinação e emergência deve ser entre 25°C e 30°, as temperaturas inferiores a 10°C e superiores a 42°C já prejudicam a germinação. Com relação ao rendimento do milho pode se ter uma redução a partir de 35°C, alteração na composição proteica dos grãos, devido a diminuição da redutase do nitrato interferindo assim no processo de formação do nitrogênio. Mas, uma

elevação na intensidade luminosa pode provocar um aumento no rendimento por uma planta C4 o que confere alta produtividade biológica, o consumo de água quando o clima esta quente e seco raramente excede 3 mm/dia se a planta tiver até 30 cm de altura (Fancelli e Dourado Neto, 2000). As raízes são um importante componente funcional e estrutural da planta, a maior parte das raízes está até 30 cm no solo, mas o comprimento do sistema radicular pode chegar até 3 metros (Magalhães et al., 1996).

Por ser uma cultura em que os problemas normalmente são causados por estresse ambiental, o equilíbrio nutricional das plantas e a demanda adequada de nutrientes no solo potencializam a expressão da capacidade produtiva, e ainda diminuem as perdas no sistema de cultivo (Silva, 2018). A quantidade necessária de nutrientes para a planta é determinada pela quantidade de nutriente absorvido o que varia de acordo com a produção que depende da variedade da espécie, manejo da cultura e quanto desses nutrientes estão disponíveis, etc (Bull e Cantarella, 1993). Essa é uma cultura que exigente nutricionalmente em relação as demandas de nitrogênio, potássio, cálcio, magnésio e fósforo (Coelho, 2010). Os nutrientes apresentam quantidades de translocação entre os tecidos do milho, tendo uma escala de exportação, o fosforo (77 a 86%), nitrogenio (70 a 77%), enxofre (60%), mangnesio (47 a 69%), o potassio (26 a 43%) e calcio (3 a 7%) (Cruz et al., 2008).

As exigências de nitrogênio variam de acordo com estagio de desenvolvimento da planta sendo mínimo no estagio inicial e com grande aumento principalmente no florescimento, assim o percentual nos tecidos de plantas jovens é maior que em outras fases, além de ser constituintes de moléculas de proteínas, enzimas, coenzimas, ácidos nucleicos e tem a importante função de integrante da molécula de clorofila (Bull e Cantarella, 1993). A absorção do potassio é diferente em comparação ao nitrogenio e fosforo, com absorção em maior nivel ocorrendo nos primeiros 30 a 40 dias de desenvolvimento, N e P o maior periodo de absorção é entre o o periodo vegetativo e reprodutivo (Cruz et al., 2008). Mesmo não participando de nenhum composto dentro da planta, este nutrinte é importante em processos bioquimicos da fotossintese e respiração, sendo um importante ativador de algumas enzimas relacionadas a assimilação de CO₂ e nitrogenio, sua deficiencia reflete na sobrevivencia da plantula por causar problemas na emergencia (Bull e Cantarella, 1993) Apesar das exigências de

fósforo em quantidades inferiores de N e K, as doses recomendadas são altas, isso porque há uma baixa eficiência (20 a 30%) no aproveitamento desse nutriente pela cultura (Cruz et al., 2008). Uma das principais funções desse nutriente é ser um integrante da molécula de ATP e atuar na captação e transferência de energia captada pela luz da fotossíntese, assim todos processos metabólicos de forma direta ou indireta tem participação do fósforo e a deficiência desse nutriente em fase inicial irá afetar a produtividade final.

Cálcio é outro elemento muito importante por ter função de formação parede celular, manutenção da integridade da membrana plasmática e absorção de íons apresentando como necessidade do bom crescimento da planta; E por fim o magnésio que tem como papel principal ser constituinte da molécula de clorofila e com isso participa ativamente da fotossíntese (Bull e Cantarella, 1993). Referente a quantidade de micronutrientes demandada pelas culturas de milho esta é muito pequena. Porém a deficiência de alguns pode desordenar processos metabólicos e ter efeito na redução de produtividade (Cruz et al., 2008). Com base no que foi dito nos parágrafos anteriormente percebemos que é essencial compreender o resultado dos estresses para obter produtividade compensadora com produtos de alta qualidade e com menor impacto ao ambiente. Com as crescentes mudanças no aspecto social e político vem se buscando cada vez mais por sistemas agrícolas mais sustentáveis que mantenham a produção e os níveis de biodiversidade ecológica (Petit et al., 2011).

2.2. Associação micorrizica

O termo micorriza foi proposto pelo botânico alemão Albert Bernard Frank no ano de 1885, do Grego “mikès” que é fungo, “rhiza” para raízes (Moreira e Siqueira, 2006).

As micorrizas são uma associação de simbiose entre as raízes das plantas e fungos específicos do solo, a planta é beneficiada pela absorção eficiente de nutrientes minerais através do fungo e o fungo adquire fonte assimilado a partir da planta hospedeira (Smith e Read, 2008).

São reconhecidos três grupos principais de micorrizas (Smith e Read, 2008): As micorrizas arbusculares são as mais comuns, ocorrendo em cerca de 80% das plantas vasculares. A hifa do fungo penetra nas células corticais (inter e

intracelularmente) na raiz da planta, onde é formado estruturas como arbúsculos e vesículas; A segunda mais comum são ectomicorrizas penetram intercelularmente o córtex da raiz e formam a rede Hartig e também ocorre a formação de manto fúngico envolvendo a raiz; Por fim as orquidoides são fungos septados que colonizam intracelularmente as raízes havendo a formação de enrolados de hifas típicas no interior da célula (Moreira e Siqueira, 2006).

A micorriza arbuscular, de ocorrência mais comum, pertencem ao Filo Glomeromycota, que se associam simbioticamente a espécies de Briófitas, Pteridófitas, Gimnospermas e Angiospermas (Cavalcante et al., 2009). Ao reconhecer o FMA a planta entra em um estado de alerta ativando, vias de sinalização e respostas em nível de célula para organismo, onde as respostas de pré-penetração abrem o caminho para a acomodação intracelular do simbionte fúngico (Genre e Bonfante, 2010). As hifas das FMAs formam apressórios que penetram nas células da epiderme na zona de diferenciação e alongamento, as hifas se espalham tornando-se posteriormente intracelulares diferenciando-se em arbúsculos após penetram no córtex de células radiculares, finalmente, em vesículas e esporos, existe também a formação de micélio fúngico que pode alcançar enorme comprimento (Souza et al., 2005, Smith e Read, 2008). Os arbúsculos são estruturas que acontece no interior do córtex celular, com origem nas hifas com o papel de troca de nutrientes (Scannerini e Bofante Fasolo, 1983). Já as vesículas armazenam lipídeos e os esporos possuem o mecanismo metabólico e a informação genética para o principio ao crescimento das hifas. (Smith e Glaninazzi-Pearson, 1988). O uso dessa associação do fungo com a planta pode acarretar em alguns benefícios.

Um benefício é a produção de glomalina, uma proteína que tem como papel essencial a bioestabilização de solos (Folli-Pereira et al., 2012). Com isso o uso de mudas micorrizadas pode se tornar uma alternativa para o estabelecimento de plantas melhorando as condições edáficas do local (Milleret et al., 2009). A micorrização também pode resultar em aumento da biomassa por causa da influencia na microbiota rizosférica (Andrade e Silveira, 2004). Além disso, as micorrizas arbusculares empregadas como potenciais controles biológicos de doenças de plantas (Folli-Pereira et al., 2012). Além de auxiliar a planta na tolerância ao estresse hídrico e patógenos (Vos et al., 2012; Oyewole et

al., 2017) A aquisição de nutrientes do solo é um dos fatores ocorrentes devido a associações com fungos micorrízicos arbusculares (Luginbuehl et al., 2017).

Uma série de fatores podem interferir na associação micorrízica de forma direta ou indireta como umidade, disponibilidade de nutrientes, pH, temperatura, salinidade, aeração, luz, interação com outros microrganismos e agrotóxicos (Sieverding, 1990). A simbiose entre o fungo e planta pode fornecer também diferentes respostas em relação à interação desses organismos, isto porque durante condições estressantes e juntamente com estabelecimento da micorriza arbuscular ainda ocorre alterações bioquímicas, fisiológicas e moleculares em ambos os simbiontes (Pereira et al., 2012).

2.3. Nutrição de plantas micorrizadas

As raízes micorrizadas adquirem um aumento da área de exploração devido ao crescimento de hifas e do micélio ao decorrer do solo permitindo uma absorção de nutrientes além das zonas de esgotamento ao redor da raiz, também é possível explorar microssítios enriquecidos em nutrientes antes não descobertos por raízes não micorrizadas (Moreira e Siqueira, 2006).

Quando as raízes não encontram uma grande disponibilidade de nutrientes no solo, há uma troca, os fungos micorrízicos absorvem e transportam fósforo e demais nutrientes para raiz e a planta o fornece o carbono fixado pela fotossíntese (Marschner e Dell, 1994). Cerca de 10 a 20% do carbono da produtividade primária líquida das plantas são destinados aos fungos micorrízicos arbusculares (Genre e Bonfante, 2010).

Entre vários inoculantes microbianos variando de bactérias a fungos, os bioinoculantes micorrízicos arbuscular surgiram como fertilizantes naturais com capacidade de promotores de crescimento de plantas, especialmente por elevarem a mobilização de nutrientes do solo particularmente o fósforo (Rodrigues e Rodrigues, 2019).

O fósforo é fundamental para crescimento e desenvolvimento do vegetal, mas por ser pouco disponível afeta o desempenho de sucesso e de boa produtividade (Ferrol et al., 2018). O fósforo desempenha um papel importante em todos os processos metabólicos das plantas, tais como fotossíntese, respiração, transferência de energia, armazenamento, divisão celular, crescimento e

absorção de nutrientes (Bertolazi et al., 2018). A colonização micorrizica tende a ser menor em solos com elevado teor de nutrientes em especial o fosforo, diminuindo a dependência micorrizica (Hippler et al., 2011), o mesmo acontece quando se diminui a disponibilidade de fosforo o que afeta o crescimento da planta (Koide e Li, 1990). O aumento na taxa de absorção de fosforo fornecida pelo fungo pode ser referida por: aumento do volume de hifas extraradiais no solo; Capacidade da hifas em explorarem não alcançados pelas raízes; Formação de polifosfatos, permitindo assim um fluxo contínuo de P para o hospedeiro; Produção de enzimas como as fosfatases, que catalisam a liberação fosfato orgânicos, permitindo sua absorção nas unidades arbusculares (Bertolazi et al., 2018).

O nitrogênio é outro nutriente que pode vir a restringir a produtividade primária em ecossistemas terrestres (Veresoglou et al., 2012). A obtenção do N é afetada direta ou indiretamente pelas micorrizas arbusculares, pois o micélio fúngico pode assimilar na forma de nitrato o N do solo, isso via redutase nos arbúsculos (Kaldorf et al., 1998).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Inoculo do fungo micorrizico arbuscular e material vegetal

O inóculo micorrízico *Claroideoglomus entunicatum* foi obtido da coleção do Laboratório de Fisiologia e Bioquímica de Microrganismos do Departamento do Centro de Ciências e Biotecnologia da Universidade Estadual do Norte Fluminense. A densidade (aproximadamente obtida foi 307,6 esporos/cm³) dos esporos foi verificada, realizando-se a extração de 20 mL do inóculo, conforme metodologia de Gerdemann e Nicolson (1963). As sementes de *Zea mays* L. foram adquiridas junto ao Programa de Melhoramento Genético Vegetal da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro.

3.2. Condições de crescimento das plantas e inoculação do fungo micorrízico arbuscular

O experimento foi realizado em casa de vegetação por 60 dias após inoculação, no campus da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF), localizada em Campos dos Goytacazes, Rio de Janeiro (RJ) com Delineamento Inteiramente Casualizado (DIC), constando de dois tratamentos, não inoculado e inoculado com *Claroideoglomus etunicatum*.

As sementes foram esterilizadas na superfície com hipoclorito de sódio 2% por 5 minutos, transferidas para álcool 70% por 3 minutos, lavadas 5 vezes em água destilada e embebida por 60 min também em água destilada.

Em seguida as sementes foram semeadas em bandeja de polipropileno contendo areia quartzo 12/20 previamente autoclavada a 121°C por 60 min. Após 5 dias foram transplantadas para copos de isopor (500 mL), contendo substrato previamente autoclavados composto de areia:terra na proporção 2:1. A inoculação FMA foi realizada durante o transplante para os copos isopor (500 mL), aplicando-se 10 g do inóculo *C. entunicatum* a 3 cm abaixo da superfície do substrato. As plantas não inoculadas receberam quantidade equivalente ao inoculante, porém com substrato autoclavado, depois de 15 dias as plantas juntamente com o seu substrato foram transferidas para vasos de 2,5 L devido ao seu crescimento. Todas as plantas foram submetidas à irrigação uniforme de água destilada, mantendo o substrato próximo a capacidade campo.

3.3. Parâmetros de crescimento, colonização e eficiência micorrízica

Aos 60 dias após inoculação, foram avaliados a altura das plantas (cm), com auxílio de trena, da base caule ao ápice foliar; o diâmetro do caule (mm), utilizando paquímetro digital (Digital Caliper, USA), a 10 cm solo. Na desmontagem experimental, as plantas foram divididas parte aérea (PA) e raiz (R), A PA e R das plantas foram colocadas em sacos de papel individualmente, identificados e secos por 72h em estufa microprocessada de circulação forçada de ar a 75°C até biomassa constante e por meio de pesagem em balança analítica foi determinada massa seca. A porcentagem colonização micorrízica da raiz dos tratamentos foram analisadas com 100 fragmentos de raízes em duas plantas de cada tratamento, sendo determinado pelo número de interseções reticuladas em placas de Petri conforme (Giovannetti e Mosse 1980) sendo corados com azul tripano segundo (Philips & Hayman 1970). A dependência micorrízica foi calculada com base na massa de material seco total [MStotal = MSPA(massa seca da parte aérea) + MSR(massa seca da raiz)] segundo a fórmula:

Dependência Micorrízica (%) = $\frac{[(MStotal \text{ planta micorrizada} - MStotal \text{ planta-controle}) / (MStotal \text{ planta-controle})] \times 100}{100}$

3.4. Parâmetros de trocas gasosas, índice de cor verde clorofila e fluorescência

A troca gasosa foi medida após 60, utilizando-se de um analisador de gás a infravermelho (IRGA, Infrared Gas Analyzer), modelo Li-6400 (Li-Cor, Biosciences Inc., Nebraska, EUA). A radiação fotossinteticamente ativa com uma intensidade de $500 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, durante as avaliações, a temperatura foliar de 25°C e níveis ambientais de CO_2 ($400 \text{ } \mu\text{mol mol}^{-1}$).

As medições foram realizadas entre 07:00 as 09:00 horas na segunda ou terceira folha, contadas a partir do ápice, para medições de trocas gasosas [Taxa fotossintética líquida, ou de assimilação líquida de carbono (A , $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$); condutância estomática ao vapor de água (g_s , $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$); taxa transpiratória (E , $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$). O índice de cor verde foi avaliado por meio do medidor portátil de clorofila modelo SPAD-502, as medidas foram feitas em 3 dias, utilizado a média de 3 leituras por folha. O rendimento quântico máximo do PSII (F_v/F_m) e o índice fotossintético (PI) foram obtidos com auxílio do fluorímetro Pocket PEA, nas mesmas folhas em que foram realizadas as medidas de trocas gasosas, as quais foram adaptadas ao escuro por 20 minutos com auxílio de pinças adequadas. Após a adaptação com encaixe do aparelho na pinça e abertura da mesma um único pulso forte de luz ($3000 \text{ } \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) foi aplicado pelo aparelho e então se obteve os valores dos dados.

3.5. Análise teor e conteúdo de nutrientes da parte aérea e raiz das plantas

O teor de P, K, Ca, Mg, S, Fe, Zn, Mn, Cu e B foram quantificados usando ICP-OES (plasma indutivamente acoplado espectrometria de emissão), após digestão com HNO_3 e H_2O_2 em um sistema de digestão aberto. As condições de ICP: fluxo de plasma 8.0 L min^{-1} , Gás auxiliar $0,70 \text{ L min}^{-1}$ e gás transportador $0,55 \text{ L min}^{-1}$ (Peters, 2005). O N foi submetido à digestão sulfúrica, medido pelo método de Nessler (Jackson 1965).

3.6. Análise dos dados

O experimento foi conduzido em um delineamento inteiramente casualizado constando de dois tratamentos: controle (não inoculado pelo fungo *C. etunicatum*) e o micorrizado (inoculado pelo fungo *C. etunicatum*), sendo cada um composto por 10 repetições. A verificação de diferenças significativas entre os tratamentos foi realizada pelo teste T de média em $p \leq 0,05$. Todas as análises foram conduzidas utilizando-se o programa GraphPad Prism 7.0.

4. RESULTADOS

4.1. Respostas no crescimento de plantas de milho inoculadas e não inoculadas com microorganismos simbiotes

Os resultados abaixo demonstram as respostas de plantas milho e relação aos parâmetros crescimento (diâmetro e altura) na presença do fungo *Claroideoglomus etunicatum* (Figura 1). Ao realizar a comparação é possível identificar que as plantas micorrizadas apresentaram maior e significativo ($P \leq 0,0001$) crescimento quando comparadas às plantas do tratamento controle (não inoculadas).

A massa seca da parte aérea (MSPA) e da raiz (MSR) também apresentaram diferenças significativas ($P \leq 0,0001$) entre as plantas micorrizadas e do tratamento controle. (Figura 2). Onde se obteve o aumento na produção de MSPA nos tratamentos micorrizados em cerca de aproximadamente 583% quando comparados ao controle. Enquanto em relação a MSR verificou-se que houve um acréscimo em aproximadamente 267% para tratamento micorrizado.

Na Figura 3 pode-se observar que os tratamentos que as plantas com associação micorrízica mostraram-se maiores. As plantas controle apresentaram sinais de deficiência nutricional, como amarelecimento e também sintomas de

deficiência de P com as folhas arroxeadas, menor altura e diâmetro e menor peso da massa seca da parte aérea.

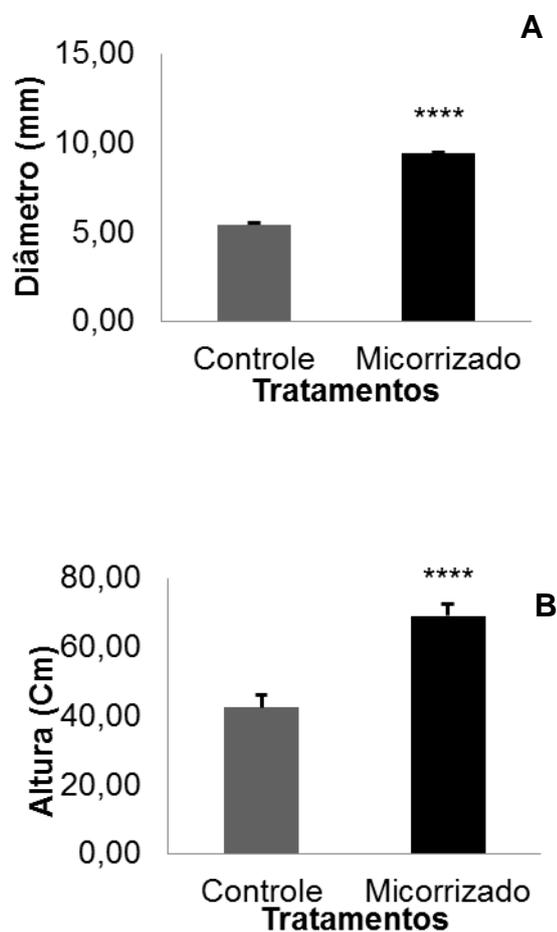


Figura 1. Diâmetro (mm) (A) e altura média (Cm) (B) das plantas de milho (*Zea mays* L.) no tratamento não inoculado e tratamento inoculado (micorrizado) com *Claroideoglossum etunicatum*.

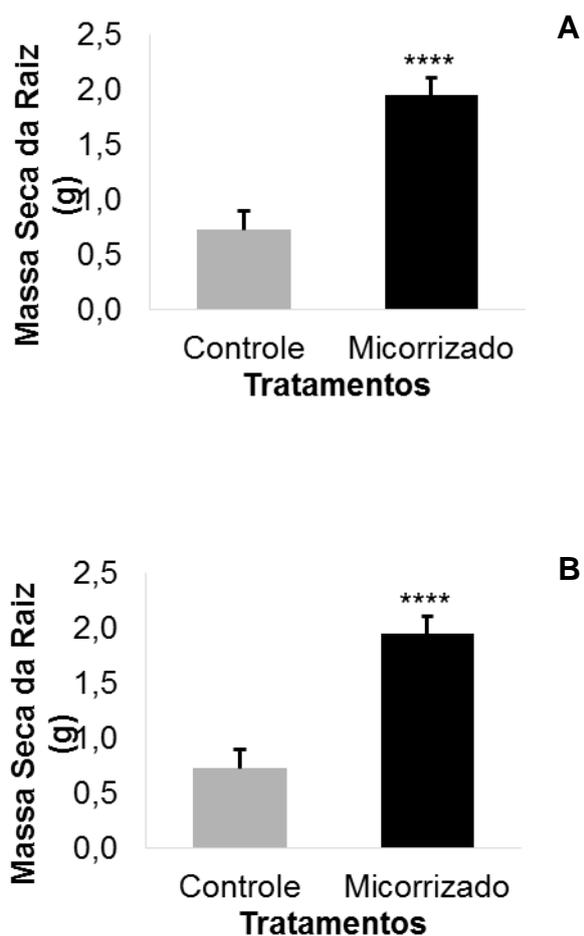


Figura 2. Peso da Massa Seca (g) da Parte Aérea (A) e Peso da Massa Seca da Raiz (B) das plantas de milho (*Zea mays* L.) no tratamento não inoculado e tratamento inoculado (micorrizado) com *Claroideoglossum etunicatum*.



Figura 3. Visão geral do experimento de plantas de milho inoculadas (micorrizado) e não inoculadas (controle) com *Claroideoglossum etunicatum*.

4.2. Taxa de colonização micorrízica

De acordo com as análises de colonização micorrízica das raízes as plantas de milho (*Zea mays* L.) micorrizadas com *Claroideoglossum etunicatum* aos 60 dias após inoculação apresentou a média de colonização micorrízica de 58,3%, os tratamentos controle não apresentaram colonização. Não foi observada colonização micorrízica nas raízes plantas não inoculadas. Com base nos cálculos da dependência micorrízica das plantas a partir da massa de material seco total (mostrado no tópico de Parâmetros de crescimento, colonização e eficiência micorrízica), foi possível verificar a eficácia de aproximadamente 344,57%.

4.3. Parâmetros de trocas gasosas e eficiência fotossintética

As plantas de milhos apresentaram valores médios significativamente maiores em todos os parâmetros da área ecofisiológica que foi analisado como: O índice de cor verde, rendimento quântico máximo, índice fotossintético, taxa fotossintética líquida, condutância estomática ao vapor de água e taxa transpiratória (Figuras 5 e 6).

Em relação SPAD, Fv/Fm e PI as plantas responderam a micorrização apresentando significativos acréscimos nesses parâmetros quando comparados ao controle ($p < 0,0001$; Figura 5).

Em termos dos parâmetros da taxa fotossintética líquida (A) ($p = 0,0261$), condutância estomática ao vapor de água (gs) ($p = 0,0465$) e taxa transpiratória (E) ($p = 0,0201$) houve diferença significativa em todos os parâmetros quando comparadas ao tratamento controle.

Ou seja, em todos os parâmetros estudados, plantas de milho micorrizadas apresentaram valores significativamente maiores quando comparados ao controle (não inoculado) (Figuras 5 e 6).

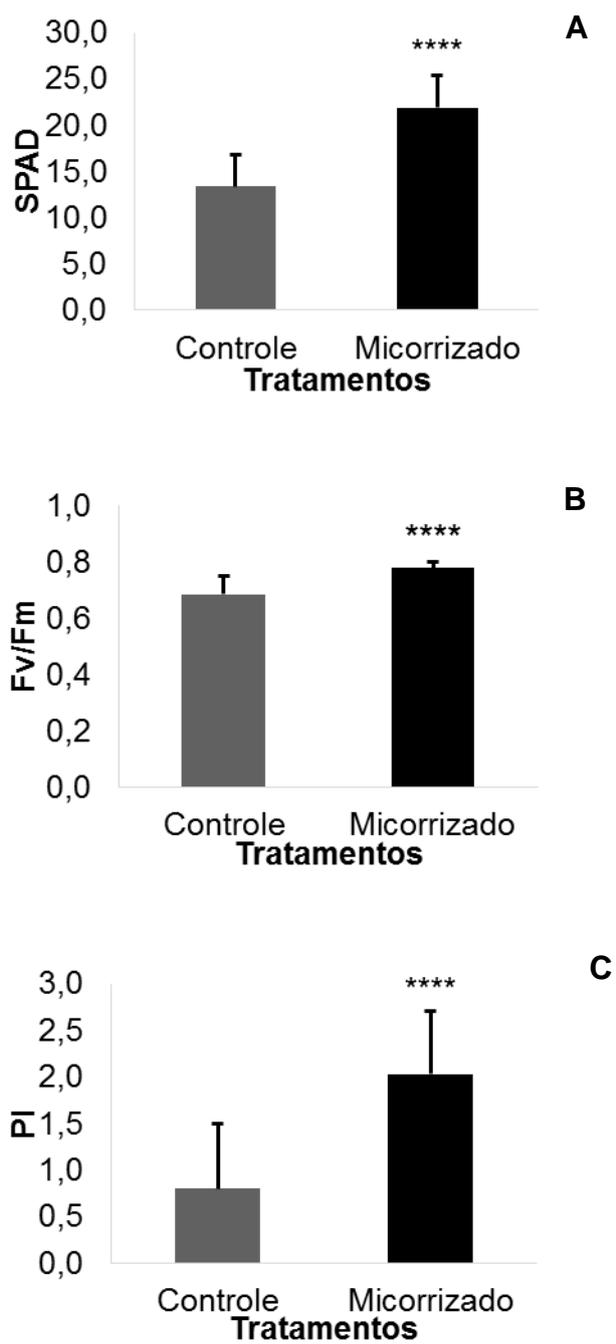


Figura 5. O índice de cor verde (SPAD) (A), o rendimento quântico máximo (Fv/Fm) (B) e o índice fotossintético (PI) (C) de folhas de plantas de milho (*Zea mays* L.) no tratamento não inoculado e tratamento inoculado (micorrizado) com *Claroideoglomus etunicatum*.

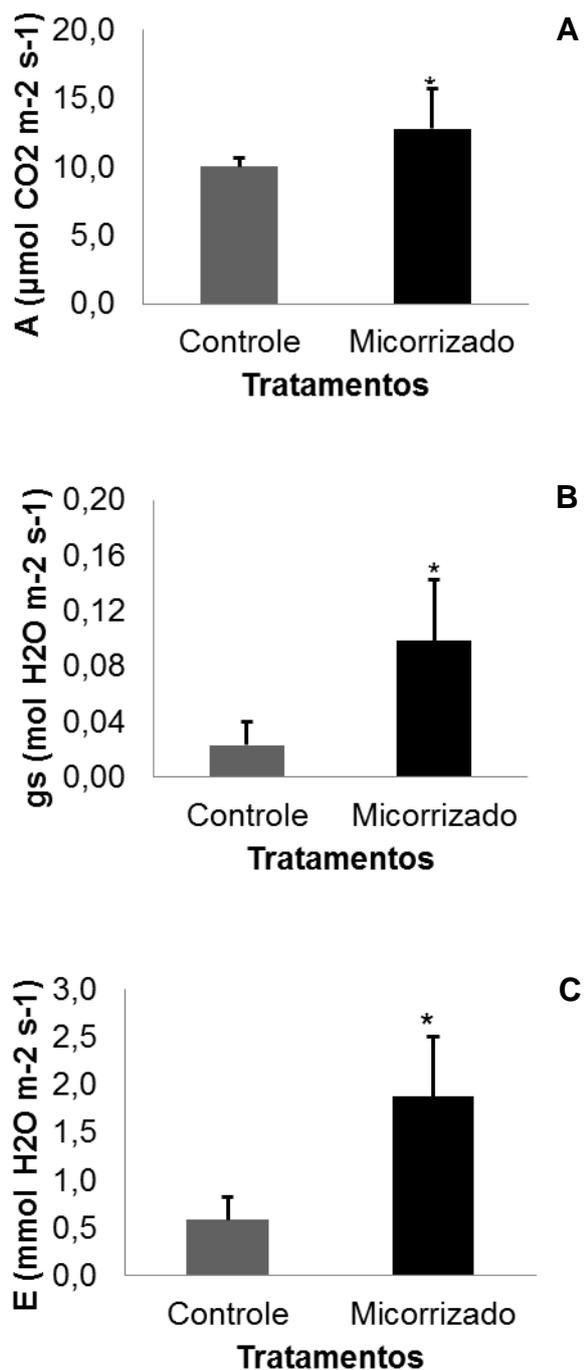


Figura 6. Taxa fotossintética líquida A ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) (A), Condutância estomática ao vapor de água gs ($\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) (B) e Taxa transpiratória E ($\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) (C) de folhas de plantas de milho (*Zea mays* L.) no tratamento não inoculado e tratamento inoculado (micorrizado) com *Claroideoglomus etunicatum*.

4.4. Acúmulo de nutrientes na raiz e parte aérea

Foram analisados o acúmulo de Nitrogênio (N), Fósforo (P), Potássio (K), Cálcio (Ca), Magnésio (Mg), Ferro (Fe), (Cu), Zinco (Zn) e Manganês (Mn). Os resultados demonstram que plantas de milho, quando inoculados com *Claroideoglomus etunicatum* (micorrizado) na parte aérea apresentaram aumentos significativos em todos os cinco macronutrientes analisados (N = +346,3%, P = +1084,3%, K = +324,6%, Ca = +311,3% e Mg = +340,3%) e micronutriente (Fe = +364,6%, Cu = +612,2%, Zn = +515,7% e Mn = +137,2%). Onde o macronutriente que apresentou um elevado conteúdo em comparação aos demais foi o P e nos micronutrientes o Cu e Zn (Figuras 7 e 8).

O tratamento micorrizado da raiz, também apresentaram incrementos significativos em todos os conteúdos macronutrientes (N = +212,9%, P = +596,2%, K = +129,3%, Ca = +251,3%, Mg = +291,1%) e micronutriente (Fe = +246,5%, Cu = +1993,9%, Zn = +269,5% e Mn +41,3%) quando comparados ao tratamento controle e os conteúdos de P e Cu foram os nutrientes que obtiveram os maiores valores (Figuras 9 e 10).

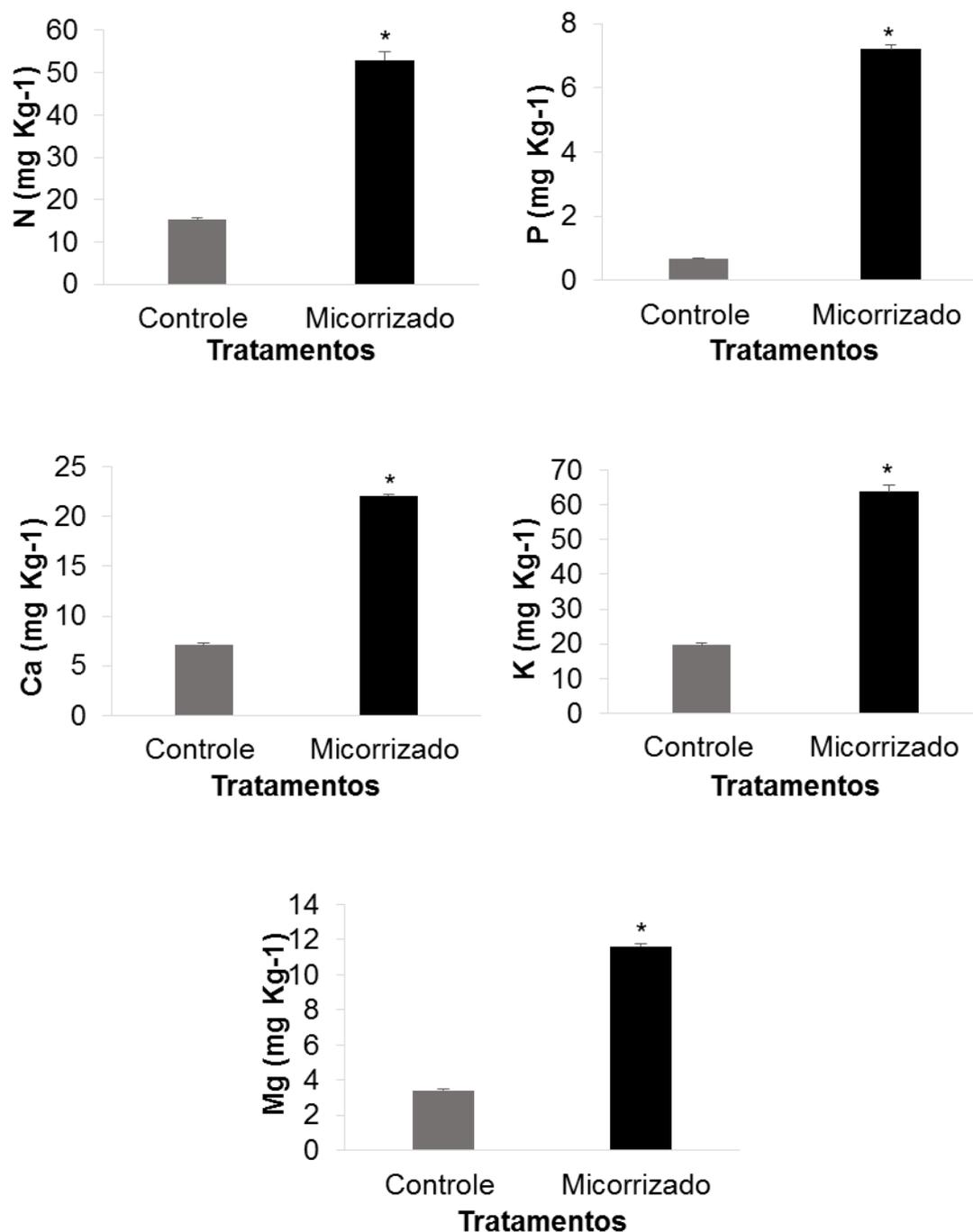


Figura 7. Conteúdo de macronutrientes na parte aérea de plantas milho (*Zea mays* L.) no tratamento não inoculado e tratamento inoculado (micorrizado) com *Claroideoglo mus etunicatum*.

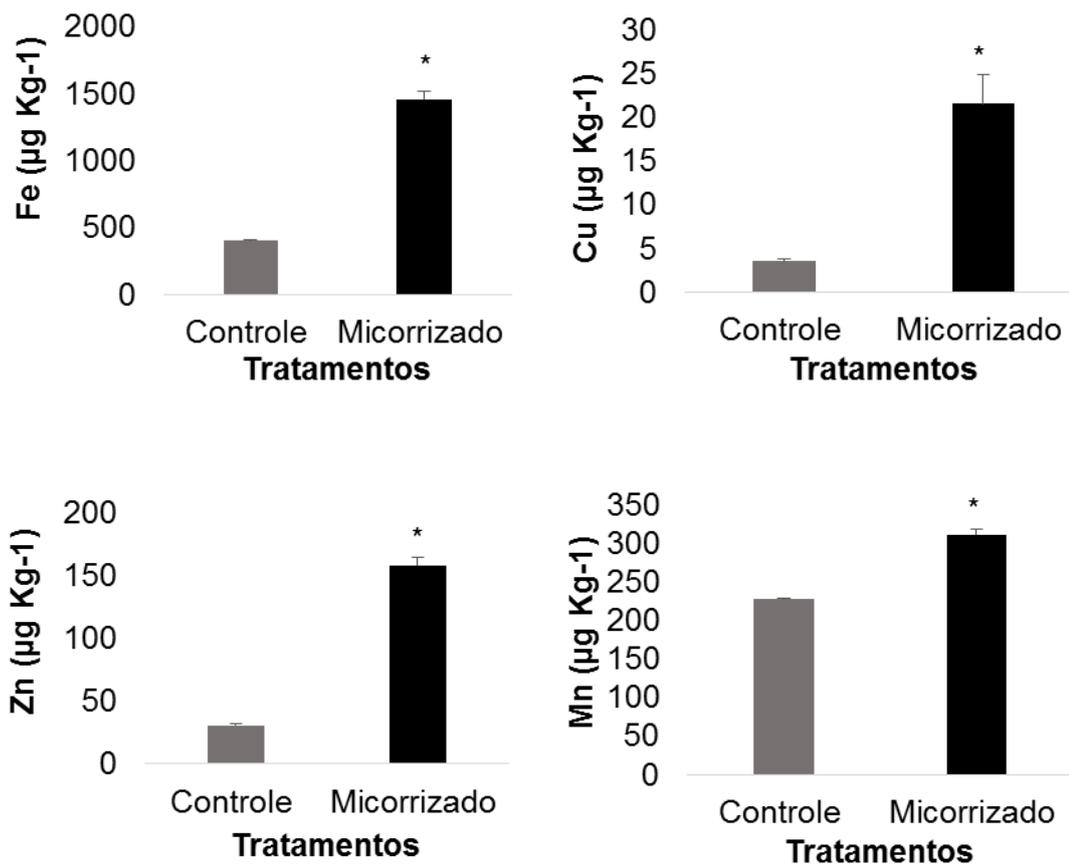


Figura 8. Conteúdo de micronutrientes na parte aérea de plantas milho (*Zea mays* L.) no tratamento não inoculado e tratamento inoculado (micorrizado) com *Claroideoglossum etunicatum*.

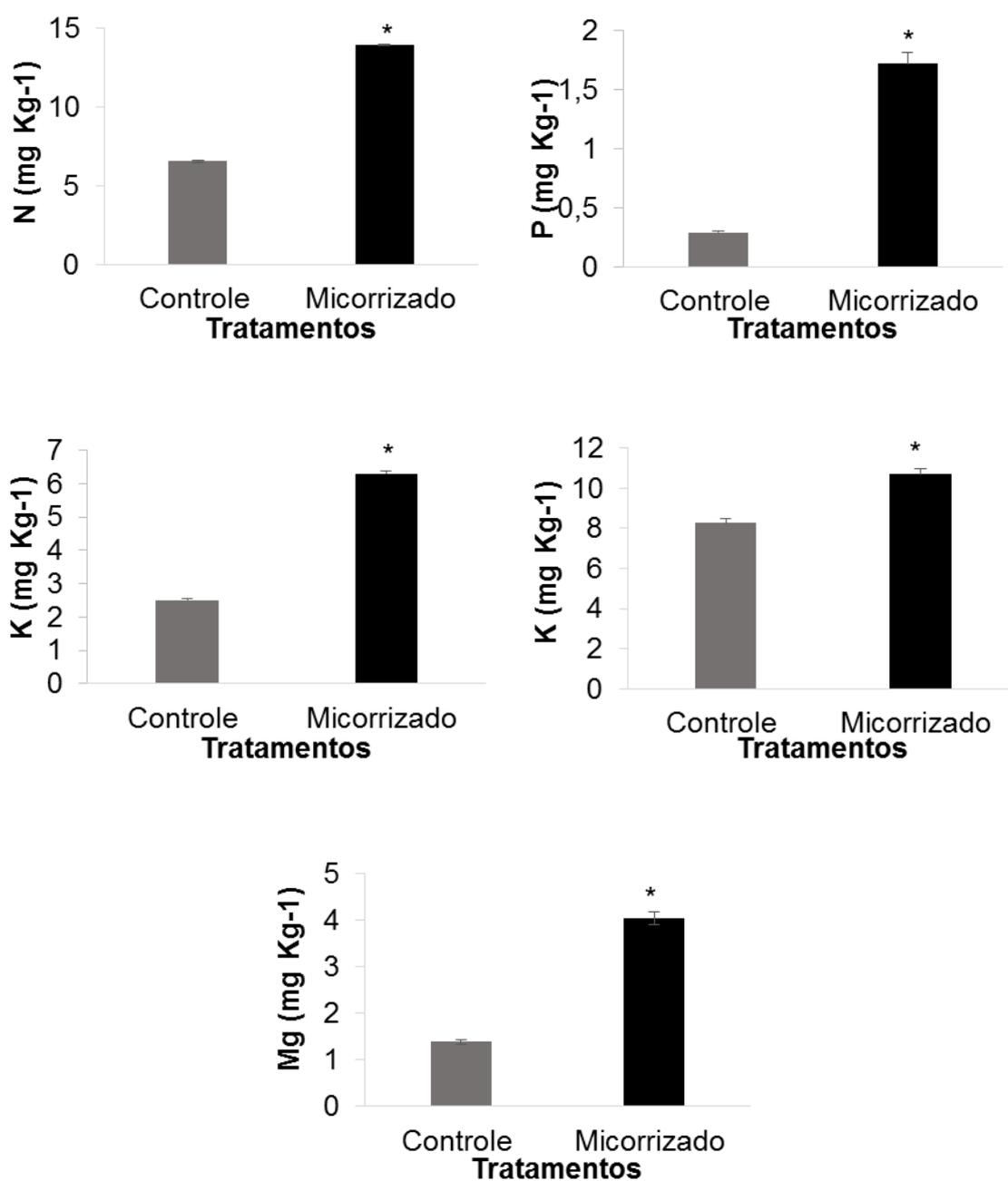


Figura 9. Conteúdo de macronutrientes na raiz de plantas de (*Zea mays* L.) no tratamento não inoculado e tratamento inoculado (micorrizado) com *Claroideoglossum etunicatum*.

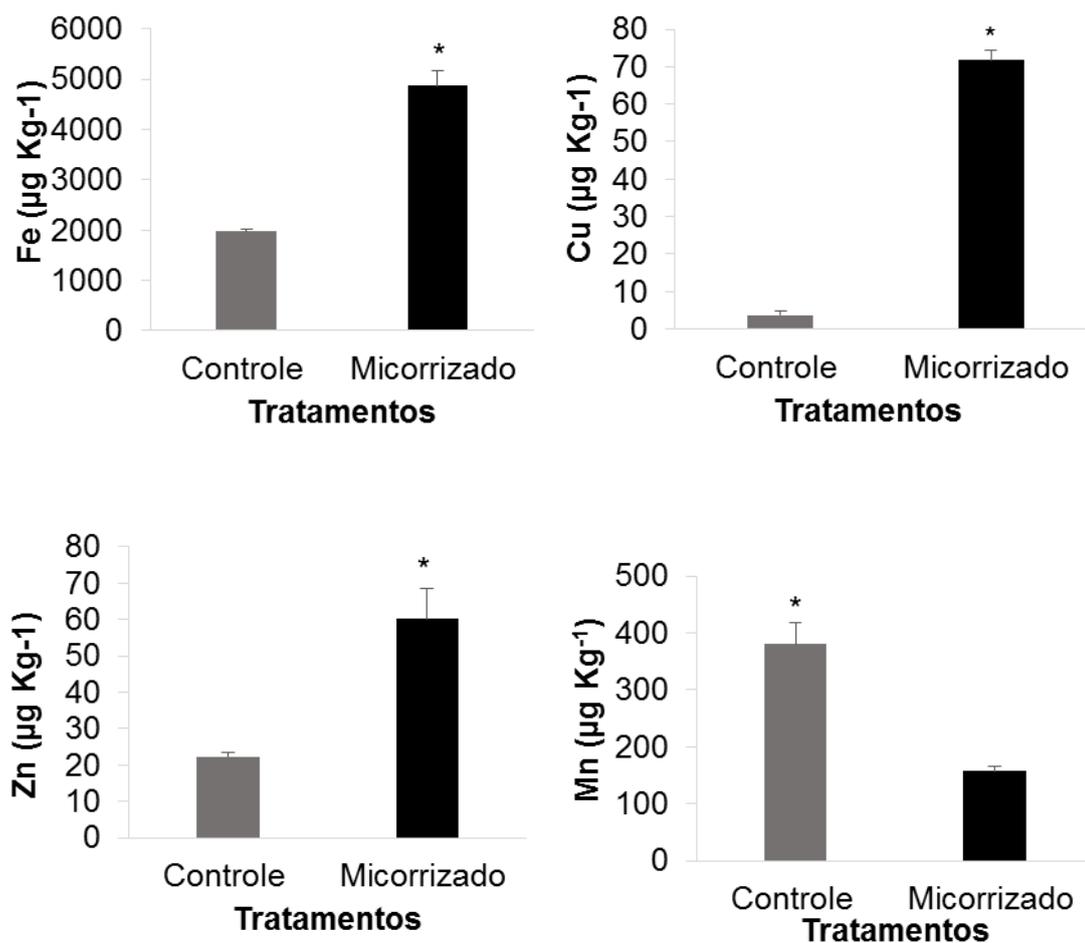


Figura 10. Conteúdo de micronutrientes na raiz de plantas de milho (*Zea mays* L.) no tratamento não inoculado e tratamento inoculado (micorrizado) com *Claroideoglopus etunicatum*.

5. DISCUSSÃO

Há uma crescente busca de estudo para futuras alternativas que aumentem a produção de alimentos de maneira a não afetar as condições do ambiente. A junção entre raízes e FMA pode ser explorada para vantagens como no crescimento e na produtividade em condições ambientalmente normais ou estressantes, é o que vem sendo buscado por empreendimentos sustentáveis (Mathur, 2008). Inclusive alguns fungos micorrízicos arbusculares (FMA) já são promovidos como biofertilizantes (Dias et al., 2018).

A possibilidade de uso da inoculação de micorrizas arbusculares em grandes culturas vem sendo cada vez mais estudada, então com base na hipótese deste trabalho analisamos alguns parâmetros com a finalidade de verificar os efeitos da interação fungo-planta.

Os FMAs mostraram melhorar o crescimento de plantas no solo que recebeu o inoculado fungico, aumentando também o diâmetro da base do caule e a massa seca da parte aérea e raiz das plantas de milho micorrizadas com *Claroideoglossum etunicatum* (Figuras 1 e 2). A maioria dos trabalhos relatam diferentes micorrizas melhoram os parâmetros de crescimentos das plantas inoculadas sempre mais sempre em pesquisas com algum efeito estressante. Porém, Medeiros et al. (1994) realizaram um experimento com 4 isolados fúngicos, dentre eles o *Glomus etunicatum*, e observaram que este isolado foi um dos mais efetivos no aumento da promoção do crescimento e da matéria seca das plantas de *Sorghum bicolor* (L.). Ortas (2015) também mostrou que

Claroideoglossum etunicatum contribui para favorecimento no crescimento do milho, conseqüentemente maior peso seco. A colonização em plantas de milho se torna eficaz devido a versatilidade do gênero deste fungo em colonizar diferentes espécies, favorecendo sua capacidade de uso na agricultura (Santos, 2018).

Observamos um efeito positivo da simbiose micorrízica nas plantas de milho micorrizadas com uma taxa de colonização de 58,3%, Ortas (2015), utilizando o mesmo fungo em plantas de milhos em três solos estéreis diferentes inoculados com *Claroideoglossum etunicatum*, encontrou porcentagens de colonização, mas de 59% a 70%, onde foi possível observar favorecimento nos parâmetros de crescimento das plantas. Neste caso, os resultados poderão variar de acordo com a interação entre genomas fúngicos da planta e da micorriza arbuscular, e também de acordo com as condições ambientais (por exemplo, pH do solo e química do P) (Smith e Smith, 2011).

Os FMAs podem mostrar-se benéficos as plantas na melhoria de diversos fatores além do crescimento, aliviando os efeitos negativos da autotoxicidade de plantas, melhoria nutricional, aumento na aquisição de nutrientes (Zhao et al., 2015; Džafić et al., 2013; Liu et al., 2000).

Com relação aos dados de parâmetros de trocas gasosas, as plantas de milho micorrizadas apresentaram aumento na taxa fotossintética líquida (A), condutância estomática ao vapor de água (gs) e taxa transpiratória (E). Sheng et al. (2008) investigando o efeito da inoculação micorrízica em plantas de milho submetidas a estresse hídrico mostrou que a inoculação com micorriza de *Glomus mosseae* fizeram as plantas apresentar maiores valores de A, gs e E em relação ao tratamento controle, principalmente o tratamento sem estresse, semelhante ao observado neste trabalho. Mathur et al. (2018) também relataram o efeito da inoculação micorrízica em plantas de *Zea mays* mostrando um aumento na taxa fotossintética líquida, condutância estomática e na transpiração. Dessa forma, o fato da ocorrência de maiores trocas gasosas nos leva a presumir que tal efeito possa estar relacionado a fatos como o aumento das condições hídrica da planta, aumentou as concentrações de clorofila e aquisição de nutrientes (Sheng, 2008; Zhu et al., 2009; Abdel-Fattah et al., 2014). Além disso, o valor de gs foi maior em plantas micorrizadas levando-se a presumir que como os estômatos controlam a entrada e saída de CO₂ e vapor de água das folhas e são responsáveis pelas taxas de assimilação de carbono e perda de água pela planta

então, a associação simbiótica com FMA frequentemente modificam esse comportamento estomático, desse modo, desempenhando uma influência controladora na fotossíntese, hidratação e acumulação de biomassa. (Auge, 2015).

Houve redução significativa no índice de cor verde de clorofila do tratamento micorrizado em relação ao controle (Figura 5). No entanto, o tratamento controle, apresentou sintomas deficiência de P, comparadas ao tratamento micorrizado o que pode ter diminuindo o índice de cor verde (SPAD) e o índice fotossintético, mas essa redução não refletiu negativamente na capacidade fotossintética medida pela absorção líquida (A), comportando-se estatisticamente quase equivalente.

Ao nível nutricional o tratamento micorrizado apresentou aumento no conteúdo de nutrientes em comparação com tratamento controle, uns dos nutrientes que mais se destacaram com maiores teores foram o fósforo (P), cobre (Cu) e zinco (Zn) tanto na parte aérea como na raiz (Figuras 6 e 7). Abdel Latef e Chaoxing (2011) investigaram o efeito da nutrição mineral em plantas de tomate inoculadas com FMA onde é possível verificar que a concentração fosforo é maior quando ocorreu a micorrização. O que talvez possa estar relacionado ao fato de que, alguns genes transportadores induzidos por fosfato podem ser regulados negativamente ou positivamente por micorrizas arbusculares em raízes de milho. (Tian et al. 2013.) Porém deve-se levar em consideração que existe considerável diversidade funcional entre as simbioses em relação ao suprimento de P para a planta e de C para o fungo, isto porque as plantas no campo serão colonizadas por muitos táxons de FMA, e a soma total dessa interação que contribuirá para o sucesso em termos de crescimento e reprodução (Smith e Smith, 2011).

Liu et al., (2000) avaliaram os efeitos dos níveis de P e micronutrientes no desenvolvimento do fungo micorrízico arbuscular e absorção de micronutrientes pelo milho, os tratamentos eram inoculado ou não com *Glomus intraradices* e com diferentes aplicações de teores de P e micronutrientes no solo, os efeitos foram variados de acordo com cada micronutriente, onde o teor encontrado de Zn na parte aérea foi maior nas plantas micorrizadas do que nas plantas não micorrizas em solos com baixo P e com menor quantidade ou sem micronutrientes. Já o teor de Cu na parte aérea foi aumentado pela colonização micorrízica quando nenhum micronutriente foi acrescentado.

A deficiência de alguns micronutrientes pode desordenar processos metabólicos e prejudicar a produção. Isto porque O zinco é um ativador de várias enzimas, e pode ser um constituinte de algumas delas, como a triptofano sintetase, RNA polimerase e anidrase carbônica a falta de zinco também reduz a síntese do AIA e assim as células ficam menores, reduzindo a síntese protéica e o metabolismo do nitrogênio. Em relação ao cobre que é um nutriente que transporta facilmente os elétrons se torna então importante em processos fisiológicos das reações redox (Bertolazi et al., 2018)

Neste estudo, as plantas foram cultivadas em solo estéril visando verificar somente o efeito da inoculação sobre o crescimento vegetal, mas Dias et al. (2018), acreditam que a comunidade microbiana do solo influencia o impacto do FMA e devem ser levadas em consideração ao aplicar inoculantes de FMA na agricultura, isso porque ao realizar a comparação de inoculação de diferentes FMA em solo estéril e não estéril verificou que o efeito nas plantas cultivadas foram pouco ou nenhum sobre o crescimento de milho e a aquisição de nutrientes quando em solo estéril. O que nos mostra que os efeitos da associação micorrizica podem tornar-se ainda mais benéficos junto a comunidade microbiana já existente.

Com conhecimento que se tem sobre os FMA desenvolvem-se varias divulgações sobre as suas características ecológicas, mas são grandes os desafios sobre como elas agem sobre as plantas e seu uso em larga escala, sendo essencial sempre a discussão em estudos que venham a abordar modernização na agricultura (Costa et al., 2002).

6. RESUMO E CONCLUSÕES

As respostas de plantas milho em relação aos parâmetros crescimento, sendo possível identificar que as plantas micorrizadas apresentaram maior e significativo ($P \leq 0,0001$) crescimento quando comparadas às plantas do tratamento controle (não inoculadas). A produção de MSPA foi maior nos tratamentos micorrizados em cerca de aproximadamente 583% quando comparados ao controle. Enquanto em relação a MSR verificou-se que houve um acréscimo em aproximadamente 267% para tratamento micorrizado.

A média de colonização micorrízica foi de 58,3%, e os tratamentos controle não apresentaram colonização. Com base nos cálculos da dependência micorrízica das plantas, foi possível verificar a eficácia de aproximadamente 344,57%. Nos dados avaliados na área ecofisiológica as plantas de milhos apresentaram valores médios significativamente maiores em todos os parâmetros analisados. Em termos dos parâmetros da taxa fotossintética líquida (A) ($p = 0,0261$), condutância estomática ao vapor de água (g_s) ($p = 0,0465$) e taxa transpiratória (E) ($p = 0,0201$) houve diferença significativa em todos os parâmetros quando comparadas ao tratamento controle. Onde o macronutriente da parte aérea que apresentou um elevado conteúdo em comparação aos demais foi o P e nos micronutrientes o Cu e Zn. Já na raiz quando comparados ao tratamento controle e os conteúdos de P e Cu foram os nutrientes que obtiveram os maiores valores.

A inoculação com *Claroideoglomus etunicatum* por proporcionar as plantas de milho incrementos nos parâmetros de crescimento em relação ao controle, tornando-se mais tolerantes as adversidades do meio ambiente em que se encontravam. Contribuindo também para eficiência na colonização. Plantas sem a associação apresentaram alterações nos parâmetros de crescimento e sintomas de deficiência. Assim, como houve resultados positivos em relação aos parâmetros fotossintéticos.

Dessa forma, este estudo poderá contribuir para avaliação da sobrevivência de plantas de milho quanto ao uso desta micorriza arbuscular podendo se tornar uma alternativa ecológica para o aumento da produtividade agrícola, sendo que necessário estudos futuros para tornar essa pratica um possível potencializador na redução de fertilizantes.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abdel Latef, A.A.H.; Chaoxing, H. (2011) Effect of arbuscular mycorrhizal fungi on growth, mineral nutrition, antioxidant enzymes activity and fruit yield of tomato grown under salinity stress. *Scientia Horticulturae*, v.127, p.228–233.
- Abdel-Fattah, G.M.; Asrar, A.A.; Al-Amri, S.M.; Abdel-Salam, E.M. (2014) Influence of arbuscular mycorrhiza and phosphorus fertilization on the gas exchange, growth and phosphatase activity of soybean (*Glycine max* L.) plants. *Photosynthetica*, v.52, p.581–588.
- Andrade, S.A.L. de; Silveira, A.P.D. da. (2004). Biomassa e atividade microbianas do solo sob influência de chumbo e da rizosfera da soja micorrizada. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v.39, n.12, p.1191-1198.
- Augé, R.M.; Toler, H.D.; Saxton, A.M. (2014) Arbuscular mycorrhizal symbiosis alters stomatal conductance of host plants more under drought than under amply watered conditions: a meta-analysis. *Mycorrhiza*, v.25, p.13–24.
- Berbara, R.L.; Souza, F.; Fonseca, H.M.A.C. (2006) Fungos Micorrízicos arbusculares: Muito além da Nutrição. In: Fernandes, M.S. (Ed.). *Nutrição mineral de plantas*. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, p.85, 2006.
- Berg, G. (2009) Plant-microbe interactions promoting plant growth and health: perspectives for controlled use of microorganisms in agriculture. *Applied microbiology and biotechnology*, Berlin, v.84, p.11-18.
- Bertolazi A.A.; Folli-Pereira, M. da S.; Caione, G.; Passamani, L.Z.; Colodete, C.M.; Souza, S.B. de; Ramos, A.C.; Rasool, N.; Júnior, G. de F.S.; Schoninger, E.L. (2018) Linking Plant Nutritional Status to Plant-AMF Interactions. In: Egamberdieva, D.; Ahmad P. (eds). *Plant Microbiome: Stress Response. Microorganisms for Sustainability*, v.5. p.351-384.

- Bull, L.T.; Cantarella, H. (1993). *Cultura do milho: fatores que afetam a produtividade*. Piracicaba: Potafos, 301p.
- Carrenho, R.; Gomes da Costa, S.M.; Balota, E.L.; Colozzi-Filho, A. (2010) Fungos micorrizicos arbusculares em agroecossistemas Brasileiros. In: Siqueira, J.O.; Souza, F.A.; Elke, J.B.; Tsai, S.M. (Ed.). *Micorrizas: 30 anos de pesquisa no Brasil*. 7.ed. Lavras: UFLA, p.215–278.
- Cavalcante, U.M.T.; Goto, B.T.; Maia, L.C. (2009) Aspectos da simbiose micorrizica arbuscular. *Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agrônômica*, Recife, v.5-6, p.180-208.
- Chang, Q.; Diao, F.; Wang, Q.; Pan, L.; Dang, Z.; Guo, W. (2018) Effects of arbuscular mycorrhizal symbiosis on growth, nutrient and metal uptake by maize seedlings (*Zea mays* L.) grown in soils spiked with Lanthanum and Cadmium. *Environmental Pollution*, v. 241, p.607-615.
- Coelho, A.M.; França, G.E. de; Pitta, G.V.E.; Alves, V.M.C.; Hernani, L.C. (2010) *Nutrição e adubação do milho*. Embrapa Milho e Sorgo, Sistema de Produção. Versão Eletrônica 6º ed.
- CONAB. (2018) Companhia Nacional de Abastecimento. *Análise Mensal, Milho De Novembro De 2018*. Conab.
- Cruz, J.C; Ferrei, A.S.; Melhorança, A.L.; Coleho, A.M.; Andrade, C.L.T.; Casela, C.A.; Guimaraes, D.P.; Karam, D.; Santana, D.P.; Wruck, F.J.; Durães, F.O.M.; Padrão, G.A. Filho, I.A.P.; Cruz, I.; Santos, J.P.; Duarte, J.O.; Garcia, J.C.; Viana, J.H.M.; Kluthcouski, J.; Sans, L.M.A.; Paes, M.C.D.; Oliveira, M.F.; Matoso, M.J.; Neto, M.M.G.; Resende, M.; Pinto, N.F.J.A.; Magalhães, P.C.; Albuquerque, P.E.P.; Alvarenga, R.C.; Brito, R.A.L.; Cobucci, T. (2008) *A cultura do milho*. Embrapa milho e sorgo. 517p.
- Dias. T.; Correia P.; Carvalho L.; Melo J.; Varennes, A. de.; Cruz, C. (2018) Arbuscular mycorrhizal fungal species differ in their capacity to overrule the soil's legacy from maize monocropping. *Applied Soil Ecology*, v.125, p.177-183.
- Dovana, F.; Mucciarelli, M.; Mascarello, M.; Fusconi, A. (2015). In vitro morphogenesis of *Arabidopsis* to search for novel endophytic fungi modulating plant growth. *Plos One*, v.10, n.12, p.1-18.
- Džafić, E.; Pongrac, P.; Likar, M.; Regvar, M.; Vogel-Mikuš, K. (2013) The arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus mosseae* alleviates autotoxic effects in maize (*Zea mays* L.). *European Journal of Soil Biology*, v.58, p.59–65.
- EMBRAPA. (2002). *O programa de melhoramento de milho do centro nacional de pesquisa de milho e sorgo*. Minas Gerais.
- Estrada, B.; Aroca, R.; Barea, J.M.; Ruiz-Lozano, J.M. (2013) Native arbuscular mycorrhizal fungi isolated from a saline habitat improved maize antioxidant systems and plant tolerance to salinity. *Plant Science*. v.201-202, p.42-51.

- Facelli, A.; Dourado Neto, D. (2000). *Produção de milho*. Agropecuaria: Guaíba, 360p.
- Ferrol, N.; Azcón-Aguilar, C.; Pérez-Tienda, J. (2018) Review: Arbuscular mycorrhizas as key players in sustainable plant phosphorus acquisition: An overview on the mechanisms involved. *Plant Science*. v.280, p.441-447.
- Folli-Pereira, M.S.; Meira-Haddad, L.S.; Bazzolli, D.M.S.; Kasuya, M.C.M. (2012). Revisão de literatura micorriza arbuscular e a tolerância das plantas ao estresse. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*. v.36, p.1663-1679.
- Genre, A.; Bonfante, P. (2010) The make of symbiotic cells in arbuscular mycorrhiza roots. In: Koltai, H., Kapulnik Y. *Arbuscular Mycorrhizas: physiology and function*. Springer. p.57-71.
- Hippler, F.W.R.; Moreira, M.; Dias, N.M.S.; Hermann, E.R. (2011) Fungos micorrízicos arbusculares nativos e doses de fósforo no desenvolvimento do amendoim. *Revista Ciência Agronômica*, v.42, n.3, p.605-610.
- INVAM. (2019) *International culture collection of vesicular arbuscular mycorrhizal fungi*. Acessado em 01 de janeiro de 2019. Disponível em: <<http://invam.caf.wvu.edu>>.
- Kaldorf, M.; Schemelzer, E.; Bothe, H. (1998) Expression of maize and fungal nitrate reductase in arbuscular mycorrhiza. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, v.11, p.439-448.
- Koide, R.T.; Li, M. (1990) On host regulation of the vesicular-arbuscular mycorrhizal symbiosis. *New Phytologist*, v.114, p.59-64.
- Liu, A.; Hamel, C.; Hamilton, R.I.; Ma, B.L.; Smith, D.L. (2000) Acquisition of Cu, Zn, Mn and Fe by mycorrhizal maize (*Zea mays* L.) grown in soil at different P and micronutrient levels. *Mycorrhiza*, v.9, p.331-336.
- Luginbuehl, L.H.; Menard, G.N.; Kurup, S.; van Erp, H.V.; Radhakrishnan, G.V.; Breakspear, A.; Oldroyd, G.E.D. Eastmond, P.J. (2017). Fatty acids in arbuscular mycorrhizal fungi are synthesized by the host plant. *Science*. v.356, p.1175-1178.
- Machado, A.T. (2014) Construção histórica do melhoramento genético de plantas: do convencional ao participativo. *Revista Brasileira de Agroecologia*, v.9, p.35-50.
- Magalhães, P.C.; Durães, F.O.M.; Gomide, R.L. (1996). *Fisiologia da cultura do milho*. 33p.
- Magalhães, S.C. (2009) *Disponibilidade de minerais, germinação e vigor de sementes de milho*. Dissertação (Mestre em Agronomia), Unesp, Jaboticabal, São Paulo. 59p.

- Marschner, H.; Dell, B. (1994). Nutrient uptake in mycorrhizal symbiosis. *Plant and Soil*, v.159, p.89-102.
- Martínez-Medina A.; Roldán, A.; Albacete, A.; Pascual, J.A. (2011) The interaction with arbuscular mycorrhizal fungi or *Trichoderma harzianum* alters the shoot hormonal profile in melon plants. *Phytochemistry*, v.72, p.223–229.
- Martín-Rodríguez, J.A.; Ocampo, J.A.; Molinero-Rosales, N.; Tarkowská, D.; Ruíz-Rivero, O.; García-Garrido, J.M. (2015) Role of gibberellins during arbuscular mycorrhizal formation in tomato: new insights revealed by endogenous quantification and genetic analysis of their metabolism in mycorrhizal roots. *Physiologia plantarum*, v.154, p. 66- 81.
- Mathur, S.; Sharma, M. P.; Jajoo, A. (2018). Improved photosynthetic efficacy of maize (*Zea mays*) plants with arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) under high temperature stress. *Journal of Photochemistry & Photobiology*. v.180, p.149-154.
- Medeiros, C.A.B.; Clark, R.B.; Ellis, J.R. (1994). Growth and nutrient uptake of sorghum cultivated with vesicular-arbuscular mycorrhiza isolates at varying pH. *Mycorrhiza*, v.4, p.185–191.
- Milleret, R.; Le Bayon, R.C.; Lamy, F.; Gobat, J.M.; Boivin, P. (2009). Impacts of roots, mycorrhizas and earthworms on soil physical properties as assessed by shrinkage analysis. *Journal of Hydrology*, v. 373, p. 499-507.
- Moreira, F.M.S.; Siqueira, J.O. (2006). *Microbiologia e Bioquímica do Solo*. 2 ed. Editora UFLA. 729p.
- Ortas, I. (2015). Comparative analyses of Turkey agricultural soils: Potential communities of indigenous and exotic mycorrhiza species' effect on maize (*Zea mays* L.) growth and nutrient uptakes. *European Journal of Soil Biology*. v.69, p.79-87
- Oyewole, B.O.; Olawuyi, O.J.; Odebode, A.C.; Abiala, M.A. (2017) Influence of Arbuscular mycorrhiza fungi (AMF) on drought tolerance and charcoal rot disease of cowpea. *Biotechnology Reports*, v.14, p.8-15.
- Petit, S.; Boursault, A.; Guilloux, M.L.; Munier-Jolain, N.; Reboud, X. (2011). Weeds in agricultural landscapes. A review. *Agronomy for Sustainable Development*, v.31, n.2, p.309-317.
- Priyadharsini, P.; Muthukumar, T. (2014). Insight into the Role of Arbuscular Mycorrhizal Fungi in Sustainable Agriculture. *Environmental Sustainability*, p.3–37.
- Revolti, L.T.M.; Caprio, C.H.; Mingotte, F.L.C.; Môro, G.V. (2018). *Azospirillum* spp. potential for maize growth and yield. Review. *African Journal of Biotechnology*. v. 17, p.574-585.

- Rodrigues, K.M.; Rodrigues, B.F. (2019) Arbuscular Mycorrhizae: Natural Ecological Engineers for Agro-Ecosystem Sustainability. In: Singh, J.S.; Singh, D.P. *New and Future Developments in Microbial Biotechnology and Bioengineering*. Elsevier, p.165–175.
- Santos, J.K. da S.; Santana, M.D.F.; Lara, T.S. (2018). Responsividade de plantas de milho à inoculação com fungos micorrízicos arbusculares da rizosfera de ipê amarelo. *Agroecossistemas*, v.10, n.1, p. 253-264.
- Scannerini, S.; Bonfante-Fasolo, P. (1983) Comparative ultra estrutural analysis of mycorrhizal associations. *Canadian Journal of Botany*, Ottawa, v.61, p.917-943.
- Searchinger, T.; Hanson C.; Ranganathan J.; Lipinski B.; Waite R.; Winterbottom R.; Dinshaw A.; Heimlich R. (2014) Creating a sustainable food future: a menu of solutions to sustainably feed more than 9 billion people by 2050. *World resources report 2013-14: interim findings*. Washington, v.154.
- Sheng, M.; Tang, M.; Chen, H.; Yang, B.; Zhang, F.; Huang, Y. (2008). Influence of arbuscular mycorrhizae on photosynthesis and water status of maize plants under salt stress. *Mycorrhiza*. v.18, p.287-296.
- Sieverding, E. (1990). Ecology of VAM fungi in tropical agrosystems. *Agriculture Ecosystems and Environment*, Amsterdam, v.29, n.1, p.369-390.
- Silva, C.G.M.; Resende, A.V. de; Gutiérrez, A.M.; Moreira, S.G.; Borghi, E.; Almeida, G.O. (2018). Macronutrient uptake and export in transgenic corn under two levels of fertilization. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v.53, n.12, p.1363-1372.
- Smith, S.E.; Jakobsen, I.; Gronlund, M.; Smith, F.A. (2011) Roles of Arbuscular Mycorrhizas in Plant Phosphorus Nutrition: Interactions between Pathways of Phosphorus Uptake in Arbuscular Mycorrhizal Roots Have Important Implications for Understanding and Manipulating Plant Phosphorus Acquisition. *Plant Physiology*, v.156, p.1050–1057.
- Smith, S.E.; Read, D.J. (1997). *Mycorrhizal symbiosis*. 2.ed. Londres, Academic Press, 605p.
- Smith, S.E.; Gianinazzi-Pearson, V. (1988). Physiological interactions between symbionts in vesicular-arbuscular mycorrhizal plants. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, v.39, p.221-224.
- Souza, V.C. de; Silva, R.A. da; Cardoso, G.D.; Barreto, A.F. (2006). Estudos sobre fungos micorrízicos. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, v.10, n.3, p.612–618.
- Tian, H.; Drijber, R.A.; Li, X.; Miller, D.N.; Wienhold, B.J. (2013) Arbuscular mycorrhizal fungi differ in their ability to regulate the expression of phosphate transporters in maize (*Zea mays* L.). *Mycorrhiza*, v.23, p.507–514.

- Veresoglou, S.D.; Chen, B.; Rillig, M.C. (2012). Arbuscular mycorrhiza and soil nitrogen cycling. *Soil Biology and Biochemistry*, v.46, p.53–62.
- Vos, C.; Broucke, D.D.; Lombi, F.M.; Waele, D.D.; Elsen, A. (2012) Mycorrhiza-induced resistance in banana acts on nematode host location and penetration. *Soil Biology and Biochemistry*. v.47, p.60-66.
- Yao, Q.; Zhu, H.H.; Hu, Y.I.; Li, L.Q. (2008) Differential influence of native and introduced arbuscular mycorrhizal fungi on growth of dominant and subordinate plants. *Plant ecology*. v.196, p.261-268.
- Zhao, R.; Guo, W.; Bi, N.; Guo, J.; Wang, L.; Zhao, J.; Zhang, J. (2015). Arbuscular mycorrhizal fungi affect the growth, nutrient uptake and water status of maize (*Zea mays* L.) grown in two types of coal mine spoils under drought stress. *Applied Soil Ecology*, v. 88, p.41-49.