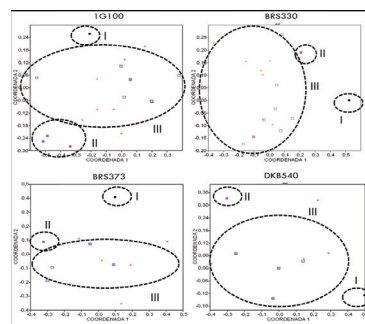
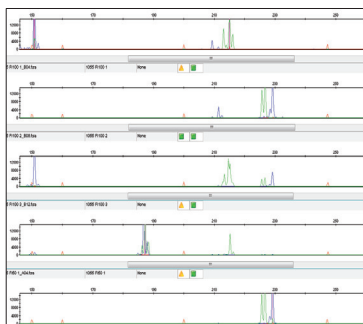


Diversidade Genética da Comunidade de Microrganismos da Rizosfera de Genótipos de Milho e Sorgo Cultivados em Condições de Campo sob Diferentes Fontes e Níveis de Fósforo



***Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Milho e Sorgo
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento***

**BOLETIM DE PESQUISA
E DESENVOLVIMENTO
169**

**Diversidade Genética da Comunidade
de Microrganismos da Rizosfera de
Genótipos de Milho e Sorgo Cultivados
em Condições de Campo sob Diferentes
Fontes e Níveis de Fósforo**

Mariana Lourenço Campolino
Ubiraci Gomes de Paula Lana
Eliane Aparecida Gomes
Antonio Marcos Coelho
Sylvia Moraes de Sousa Tinoco

*Embrapa Milho e Sorgo
Sete Lagoas, MG
2018*

Esta publicação está disponível no endereço:

<https://www.embrapa.br/milho-e-sorgo/publicacoes>

Embrapa Milho e Sorgo

Rod. MG 424 Km 45
Caixa Postal 151
CEP 35701-970 Sete Lagoas, MG
Fone: (31) 3027-1100
Fax: (31) 3027-1188
www.embrapa.br/fale-conosco/sa

Comitê Local de Publicações
da Unidade Responsável

Presidente

Sidney Netto Parentoni

Secretário-Executivo

Elena Charlotte Landau

Membros

*Antonio Claudio da Silva Barros, Cynthia
Maria Borges Damasceno, Maria Lúcia
Ferreira Simeone, Roberto dos Santos
Trindade e Rosângela Lacerda de Castro*

Revisão de texto

Antonio Claudio da Silva Barros

Normalização bibliográfica

Rosângela Lacerda de Castro (CRB 6/2749)

Tratamento das ilustrações

Tânia Mara Assunção Barbosa

Projeto gráfico da coleção

Carlos Eduardo Felice Barbeiro

Editoração eletrônica

Tânia Mara Assunção Barbosa

Foto da capa

*Mariana Lourenço Campolino
Sylvia Moraes de Sousa Tinoco*

1ª edição

Formato digital (2018)

Todos os direitos reservados.

A reprodução não autorizada desta publicação, no todo ou em parte,
constitui violação dos direitos autorais (Lei nº 9.610).

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Nome da unidade catalogadora

Diversidade genética da comunidade de microrganismos da rizosfera de genótipos
de milho e sorgo cultivados em condições de campo sob diferentes fontes e ní-
veis de fósforo / Campolino, Mariana Lourenço ... [et al.]. – Sete Lagoas :
Embrapa Milho e Sorgo, 2018.
29 p. : il. -- (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento / Embrapa Milho e Sorgo,
ISSN 1679-0154; 169).

1. Fungo. 2. Bactéria. 3. *Zea mays*. 4. *Sorghum bicolor*. 5. Biologia do solo.
I. Campolino, Mariana Lourenço. II. Lana, Ubiraci Gomes de Paula. III. Gomes,
Eliane Aparecida. IV. Coelho, Antônio Marcos. V. Tinoco, Sylvia Moraes de Sousa.
VI. Série.

CDD 631.46 (21. ed.)

Sumário

Resumo4

Abstract6

Introdução.....7

Metodologia9

Resultados e Discussão13

Conclusões.....22

Referências22

Diversidade Genética da Comunidade de Microrganismos da Rizosfera de Genótipos de Milho e Sorgo Cultivados em Condições de Campo sob Diferentes Fontes e Níveis de Fósforo

Mariana Lourenço Campolino¹

Ubiraci Gomes de Paula Lana²

Eliane Aparecida Gomes³

Antonio Marcos Coelho⁴

Sylvia Moraes de Sousa Tinoco^{*5}

Resumo - Os fertilizantes químicos têm sido fundamentais para a intensificação da agricultura. Entretanto, se aplicados em excesso, podem contaminar o meio ambiente, além de aumentarem significativamente os custos de produção. Somente os cereais recebem quase metade das aplicações de fertilizantes fosfatados no mundo. Sendo assim, a eficiência de uso do fósforo (P) pelas plantas deve ser aumentada, visando uma agricultura mais sustentável. Uma alternativa consiste na utilização de fontes menos solúveis de P associadas a genótipos mais eficientes. Além disso, a simbiose entre fungos micorrízicos arbusculares (FMA) e/ou bactérias solubilizadoras de P e plantas pode contribuir para aumentar a aquisição desse nutriente e promover o crescimento das plantas cultivadas. Desse modo, o objetivo desse estudo foi avaliar a diversidade genética da população de FMA e bactérias da rizosfera de genótipos de milho e sorgo cultivados sob diferentes fontes e níveis de P. Quatro genótipos de milho e quatro de sorgo foram cultivados em condições de campo sob três fontes de P, totalmente solúvel (superfosfato triplo), parcialmente solúvel (fosfato reativo - Bayóvar) e baixa solubilidade

¹ Doutoranda em Bioengenharia, Universidade Federal de São João Del Rei, UFSJ, São João Del Rei, MG.

² Químico, DSc., Analista, Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, MG.

³ Bióloga, DSc., Pesquisadora em Microbiologia, Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, MG.

⁴ Eng.-Agrôn., DSc., Pesquisador em Fertilidade do solo, Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, MG.

⁵ Bióloga, DSc., Pesquisadora em Biologia Molecular, Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, MG.

*Autora correspondente

(fosfato de rocha - Itafós) e três doses de P, 0, 50 e 100 Kg de P_2O_5 ha⁻¹. Amostras de solo rizosférico e solo não rizosférico (controle) foram coletadas durante florescimento das plantas e analisadas pela técnica de T-RFLP (polimorfismo de comprimento de fragmentos terminais de restrição). Dentro de cada cultura, não foi observado efeito significativo do genótipo e do tipo de fonte fosfatada na comunidade microbiana. No entanto, a dose de P foi significativa na estruturação da comunidade microbiana, dentro de cada fonte fosfatada, formando três grupos distintos: I) solo não rizosférico; II) 0 kg ha⁻¹ e III) 50 e 100 kg ha⁻¹ para todas as amostras de milho e sorgo, tanto para FMA quanto para bactérias. Esses resultados sugerem que a disponibilidade de P é o fator predominante na estruturação das comunidades bacterianas e de FMA na rizosfera de milho e sorgo nos genótipos avaliados, seguida pela fonte de P. A maior compreensão da alteração da comunidade microbiana nesse cenário se dará por meio da identificação dos táxons de cada grupo e da análise do seu papel funcional no ambiente.

Termos para indexação: T-RFLP, fungos micorrízicos arbusculares, comunidade bacteriana, *Zea mays*, *Sorghum bicolor*

Genetic diversity of the community of rhizosphere microorganisms from maize and sorghum genotypes grown under field conditions under different sources and levels of phosphorus

Abstract - Chemical fertilizers have been instrumental in the intensification of agriculture. However, if applied in excess, they can contaminate the environment, and can significantly increase the production cost. Cereals receive almost half of the world's phosphate fertilizer applications. Therefore, plant's phosphorus (P) use efficiency should be increased, aiming a more sustainable agriculture. One alternative is to use less soluble P sources associated with genotypes that are more efficient. In addition, the symbiosis between arbuscular mycorrhizal (FMA) and/or P solubilizing bacteria and plants can contribute to increase the acquisition of this nutrient and promote the growth of cultivated plants. Thus, the objective of this study was to evaluate the genetic diversity of FMA and rhizosphere bacteria of maize and sorghum genotypes grown under different sources and levels of P. Four maize and four sorghum genotypes were grown under field conditions under three sources of P, completely soluble (triple superphosphate), partially soluble (reactive phosphate - Bayovar) and low soluble (rock phosphate - Itafós) and three P doses, 0, 50 and 100 kg P_2O_5 ha⁻¹. Samples of rhizospheric soil and non-rhizospheric soil (control) were collected during the flowering time, and they were analyzed by the T-RFLP technique (Restriction Fragment Length Polymorphism). Within each culture, no significant effect of genotype and phosphate source was observed in the microbial community. However, the P dose was significant in the microbial community structure, within each phosphate source, forming three distinct groups: I) non-rhizospheric soil; II) 0 kg ha⁻¹ and III) 50 and 100 kg ha⁻¹ for all maize and sorghum samples, both for FMA and bacteria. These results suggested that P availability is the predominant factor in bacterial and FMA communities' structures in the maize and sorghum rhizosphere from the evaluated genotypes, followed by P source. The greater understanding of the microbial community modification in

this scenario will occur through the identification of the taxa of each group and the analysis of their role in the environment.

Index terms: T-RFLP, Arbuscular mycorrhizal fungi, Bacterial community, *Zea mays*, *Sorghum bicolor*

Introdução

Os fertilizantes químicos, dentre eles os fertilizantes fosfatados, têm sido fundamentais para a intensificação da agricultura, garantindo o cultivo e a produtividade de diferentes culturas. Na agricultura brasileira predomina o uso dos fertilizantes fosfatados acidulados e sintéticos, como o superfosfato triplo, obtidos a partir do tratamento ácido de rochas fosfáticas. O uso excessivo desses fertilizantes solúveis eleva os custos de produção e pode exercer efeitos ambientais negativos, quando utilizados em excesso, incluindo impactos sobre o meio aquático pela eutrofização da superfície da água e liberação de NO_2 associados às alterações climáticas (Dodds et al., 2009). As reservas de fósforo são recursos finitos e não renováveis (Vance; Chiou, 2011), justificando assim uma preocupação constante pelo uso mais sustentável e equitativo deste nutriente na agricultura.

As maiores reservas mundiais estão no Marrocos (60%), na China (15%), nos Estados Unidos (4%), na África do Sul (4%) e na Jordânia (2%), que detêm 85% das reservas da rocha. O Brasil é o sétimo produtor mundial de fosfato e possui suas maiores jazidas nos estados de Minas Gerais e Goiás. Os maiores consumidores desses fertilizantes minerais no mundo são a China (30%), a Índia (13%), os Estados Unidos (12%) e o Brasil, consumindo 6% de todo o fertilizante utilizado no mundo. A produção nacional atende somente a uma pequena parte do consumo interno, sendo necessária a importação de mais de dois terços dos fertilizantes minerais (International Fertilizer Association, 2018). Visando uma maior sustentabilidade, torna-se necessário melhorar a eficiência de utilização dos fertilizantes fosfatados em diferentes sistemas agrícolas (Bouwman et al., 2009; Cordell et al., 2009; Van Kauwenbergh, 2010; Simpson et al., 2011).

Uma alternativa ao uso de fosfatos solúveis consiste na utilização de fosfatos naturais que resultam da moagem de rochas fosfáticas, podendo ou não passar por processos físicos de concentração. A solubilidade desses

fertilizantes é variável em função da origem, da granulometria e do grau de substituições iônicas isomórficas (Kaminski; Peruzzo, 1997; Daroub et al., 2000).

Os fosfatos naturais apresentam, normalmente, baixa solubilidade, em especial no ano da aplicação e nas culturas anuais, as quais apresentam alta demanda de fósforo (P) num curto espaço de tempo. Ao considerar a produção acumulada de vários cultivos após a aplicação, verifica-se que o desempenho de alguns fosfatos naturais pode equiparar-se ao das fontes mais solúveis. Isso se explica pelo fato do P, prontamente liberado dos fertilizantes solúveis, passar para formas menos disponíveis no solo, enquanto os fosfatos naturais vão sendo solubilizados no decorrer do tempo (Resende et al., 2006; Daroub et al., 2000). Apesar do fosfato natural ser menos reativo, a taxa de disponibilidade de P pode ser aumentada ao longo do tempo de cultivo pela contribuição da microbiota do solo (Rashid et al., 2004; Mendes et al., 2014).

Análises comparativas das comunidades microbianas utilizando técnicas baseadas em regiões conservadas do DNA têm sido utilizadas para melhorar a compreensão da estrutura e função dessas comunidades nos componentes edáficos e da rizosfera, além de permitirem avaliar uma maior abundância de microrganismos em comparação com abordagens dependentes de cultivo (Miethling et al., 2000; Schallmach et al., 2000; Schwieger; Tebbe, 2000; Chauhan et al., 2011; Toju et al., 2012; Klindworth et al., 2013; Peiffer et al., 2013; Li et al., 2014; Yang et al., 2017).

Dentre essas metodologias, a técnica de T-RFLP (*Terminal Restriction Fragment Length Polymorphism*) tem sido amplamente utilizada por sua simplicidade relativa, custo reduzido e independência de cultivo dos microrganismos (Lord et al., 2002; Johnson et al., 2004; Kennedy et al., 2005; Genney et al., 2006). O T-RFLP é baseado na análise das diferenças dos tamanhos dos fragmentos terminais do DNA das subunidades ribossomais (rDNA) de fungos e bactérias após a digestão por enzimas de restrição (Lord et al., 2002; Johnson et al., 2004).

A técnica de T-RFLP tem sido utilizada na análise da comunidade microbiana da rizosfera, uma zona estreita de solo adjacente e influenciada pelas raízes das plantas (Kennedy, 1999) que apresenta alta atividade e diversidade microbiana que afetam o crescimento e a sanidade das plantas (Rashid et al., 2004; Matthews et al., 2016). A diversidade e a composição

dos táxons microbianos na rizosfera podem ser afetadas por vários fatores, incluindo espécies de plantas (Miller et al., 1989), tipo de solo (Hoitink; Boehm, 1999), práticas de manejo do solo, fertilização (Rovira et al., 1990) e interações microbianas (Hedges; Messens, 1990).

Apesar de vários fatores influenciarem a comunidade microbiana rizosférica, alguns microrganismos mostram-se predominantes em amostras de solos fertilizados em relação a solos não fertilizados. Dentre as rizobactérias, as pertencentes ao filo *Proteobacteria* são encontradas em maior quantidade, seguidas pelos filos *Actinobacteria*, *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Planctomycetes*, *Verrumicrobia* e *Acidobacteria*. Já entre a comunidade fúngica da rizosfera, os principais filos presentes são *Ascomycota* e *Glomeromycota*, este último incluindo os fungos micorrízicos arbusculares (FMA). Esses microrganismos estão relacionados com a ciclagem de P no solo contribuindo para a nutrição das plantas, sofrendo impactos diretos em sua riqueza e abundância pela quantidade desse nutriente disponível no solo (Kitts, 2001; Carson et al., 2010; Gosling et al., 2013; Flores, 2015; Tang et al., 2016; Silva et al., 2017; Trabelsi et al., 2017).

O objetivo desse estudo foi avaliar a diversidade genética da população de FMA e bactérias presentes na rizosfera de genótipos de milho e sorgo cultivados sob diferentes fontes e níveis de P.

Metodologia

Material genético e delineamento experimental

Quatro genótipos de milho e quatro de sorgo (Tabela 1) foram cultivados independentemente no campo experimental da Embrapa Milho e Sorgo (solo não removível desde 2000), em Latossolo, textura argilosa (64% de argila), deficiente em P (Tabela 2), na safra de 2016/17.

Tabela 1. Genótipos de milho e sorgo cultivados na safra 2016/20.

Genótipo	Origem
Milho	
BRS1055	Programa de Melhoramento Genético da Embrapa Milho e Sorgo
1M1752	Programa de Melhoramento Genético da Embrapa Milho e Sorgo
AG8088	Sementes comercializadas pela Monsanto
DKB390	Sementes comercializadas pela Monsanto
Sorgo	
BRS330	Programa de Melhoramento Genético da Embrapa Milho e Sorgo
BRS373	Programa de Melhoramento Genético da Embrapa Milho e Sorgo
DKB 540	Sementes comercializadas pela Monsanto
1G100	Sementes comercializadas pela Monsanto

Tabela 2. Análises químicas do solo da área experimental da Embrapa Milho e Sorgo.

Extrato do solo	10blocos	pH	H+Al	P	MO	C	Al	Ca	Mg
(cm)	(18m x 20m)	(água)	(cmol _c /dm ³)	(mg/dm ³)	(g/kg)	(g/kg)	(cmol _c /dm ³)	(cmol _c /dm ³)	(cmol _c /dm ³)
0 - 20	Média	5,9	7,36	5,16	36,9	21,4	0,14	3,03	0,47
20 - 40	Média	5,6	7,37	3,60	31,1	18,1	0,28	2,09	0,38

Extrato do solo	10blocos	K	SB	CTC	V	SAT.Al	Cu	Fe	Mn	Zn
(cm)	(18m x 20m)	(mg/dm ³)	(cmol/dm ³)	(cmol/dm ³)	(%)	(%)	(mg/kg)	(mg/kg)	(mg/kg)	(mg/kg)
0 - 20	Média	53,8	3,63	10,99	33,4	4,59	0,71	25,68	6,42	4,34
20 - 40	Média	47,2	2,58	9,95	26	10,78	0,65	23,14	5,65	2,91

Legenda: pH - potencial hidrogeniônico; H+Al - potencial de acidez; P - fósforo; MO - matéria orgânica; C - carbono; Ca - cálcio; Mg - magnésio; K - potássio; SB - soma das bases; CTC - capacidade de troca de cátions; V - saturação das bases; SAT.Al - saturação de alumínio; Cu - cobre; Fe - ferro; Mn - manganês e Zn - zinco.

Foram utilizadas três fontes de P: totalmente solúvel (superfosfato triplo); parcialmente solúvel (fosfato reativo - Bayóvar) e pouco solúvel (fosfato de rocha - Itafós) aplicadas em diferentes doses: 0, 50 e 100 Kg de P_2O_5 ha⁻¹. Foi utilizado o delineamento experimental de blocos ao acaso com três repetições, com os tratamentos dispostos em parcelas sub-subdivididas, dispondo nas parcelas fontes de P, nas subparcelas as doses de P subdivididas ainda entre os genótipos de milho e sorgo. Cada parcela foi constituída de quatro linhas de 6 m de comprimento e espaçamento de 0,50 m.

Coleta e preparação das amostras

No período de florescimento, foram coletadas raízes de quatro plantas de milho ou quatro de sorgo de cada sub-subparcela, além do solo não rizosférico (controle). Após remoção do solo fracamente aderido por agitação manual, foram pesados cinco gramas de raízes finas com solo rizosférico aderido. As amostras foram transferidas para tubos cônicos contendo 35 mL solução de pirofosfato de sódio 0,1% (m/v) e agitadas por 30 minutos em homogeneizador horizontal na velocidade de 130 rpm. As raízes foram removidas e as amostras foram centrifugadas a 10.000 rpm por 30 minutos. O sobrenadante foi descartado e o solo foi ressuspensionado em 1,8 mL de água ultrapura estéril. Posteriormente, o solo foi centrifugado a 14.000 rpm por 4 minutos e o sobrenadante, descartado. As amostras de solo foram congeladas em nitrogênio líquido e armazenadas a -80 °C até a extração do DNA da comunidade microbiana.

Extração de DNA de solo

A extração de DNA total de solo rizosférico e não rizosférico foi realizada com o *Kit PowerSoil® DNA Isolation (MoBio Laboratories, Inc. EUA)*, segundo as recomendações do fabricante. Em seguida, o DNA foi quantificado em espectrofotômetro Nanodrop® (*Thermo Fisher Scientific, EUA*) e diluído para concentração de 1,0 ng μL^{-1} .

Amplificação do gene rRNA da comunidade microbiana

Fragmentos do gene *16S rRNA* foram amplificados utilizando os *primers* 8F-FAM 5'AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3' marcados com fluorescência na posição 5' e 1492R, 5'-TACGGTACCTTGTTACGACTT-3'. A reação de PCR constituiu-se de 2,5 ng de DNA, cada oligonucleotídeo a 0,25 mM, tampão de reação 1X, MgCl₂ 3,12 mM, dNTPs 0,125 mM cada, 1,25 U de Taq DNA polimerase (*Invitrogen Paisley, UK*) em um volume final de 50 µL. A amplificação foi realizada com desnaturação inicial a 94 °C durante 3 minutos, seguida de 25 ciclos a 94 °C por 45 segundos, anelamento dos oligonucleotídeos a 55 °C por 45 segundos, extensão a 72 °C por 2 minutos e extensão final a 72 °C por 5 minutos.

Para a amplificação do gene *28S rRNA* de fungos micorrízicos arbusculares (FMA) foi utilizado *nested-PCR* a partir de reação com oligonucleotídeos LR1 (5'- GCATATCAATAAGCGGAGGA-3') e FLR2 (5'-GTCGTTTAAAGC CATTACGTC-3'). A reação inicial constituiu-se de 2,5 ng de DNA, cada oligonucleotídeo a 0,2 mM, tampão de reação 1X, MgCl₂ 2,5 mM, dNTPs 0,125 mM, 1,5 U de Taq DNA polimerase (*Invitrogen Paisley, UK*), betaína 1 mM, em um volume total de 50 µL.

Para a segunda PCR, foram utilizados 2,5 µL do produto da primeira reação e o oligonucleotídeo FLR3 foi marcado com FAM (5'-TTGAAAGGGAAACGATTGAAGT-3') e o FLR4 foi marcado com HEX (5'-TACGTCAACATCCTTAACGAA-3') na concentração final de 0,2 mM cada, tampão de reação 1X, MgCl₂ 2,5 mM, dNTPs 0,125 mM e 1,5 U de Taq DNA polimerase (*Invitrogen Paisley, UK*), num total de 50 µL. As amplificações para FMA foram realizadas com desnaturação inicial a 95 °C durante 5 minutos, seguida de 35 ciclos a 94 °C por 1 minuto, anelamento dos oligonucleotídeos a 60 °C por 1 minuto, extensão a 72 °C por 1 minuto e extensão final a 72 °C por 10 minutos.

Uma alíquota de 1 µL dos produtos de PCR foi corada com *GelRed* (*Biotium, Hayward, Califórnia, USA*) e submetida a eletroforese em gel de agarose 1% (m/v), utilizando-se como marcador de peso molecular 1Kb *Plus DNA Ladder* (*Life Technologies, USA*). A visualização do DNA amplificado foi realizada em transluminador sob luz ultravioleta e fotografada no equipamento L-PIX *Image EX* (Loccus Biotecnologia - Loccus do Brasil, Cotia, SP, Brasil).

Genotipagem por T-RFLP

Os fragmentos amplificados das regiões 16S rDNA e 28S rDNA foram digeridos com as enzimas de restrição *AluI* (Tipaynoa et al., 2012) e *TaqI* (Verbruggen et al., 2012), respectivamente. Para a digestão com a enzima *AluI* foram utilizados 10 µL do produto de PCR, 2 µL do tampão da enzima 10X e 1 µL da enzima 10 U µL⁻¹, incubados a 37 °C por 4 horas. Para a digestão com a enzima *TaqI* foram utilizados 10 µL do produto de PCR, 2 µL do tampão da enzima 10X, 0,2 µL de BSA 10 ng µL⁻¹ e 0,5 µL da enzima 10 U µL⁻¹, sendo a mistura incubada a 65 °C por 4 h.

Para avaliar os fragmentos de DNA gerados, 2 µL da digestão foram adicionados a 9,8 µL de formamida deionizada (*Applied Biosystems*, EUA) e 0,2 µL de padrão ROX 500 (*Applied Biosystems*). Os perfis de digestão foram avaliados no equipamento Genetic Analyzer 3500XL (*Applied Biosystems*) com o software *GeneMapper* 5.0 (*Applied Biosystems*).

Análise de dados

Para a avaliação da diversidade microbiana por T-RFLP, os dados gerados no software *GeneMapper* 5.0 foram exportados e carregados na plataforma de processamento online T-REX (Culman et al., 2009), possibilitando a filtragem dos ruídos e alinhamento automático referente ao tamanho dos fragmentos gerados pela digestão enzimática. Após filtragem e alinhamento, os dados foram exportados em planilha binária para o software estatístico PAST (Hammer et al., 2001). Os resultados foram ordenados com base no padrão de discriminação determinado por escalonamento multidimensional não métrico (NMDS), utilizando a medida de distância de *Jaccard*.

Resultados e Discussão

A técnica de T-RFLP é um método amplamente utilizado para estudar alterações estruturais na comunidade microbiana sob diferentes condições, incluindo fertilidade do solo (Bissett et al., 2013; Trabelsi et al., 2012). A análise de NMDS, que mede o grau de similaridade genética entre as amostras, mostrou que as comunidades de bactérias e de FMA de milho (Figuras 1, 3 e 5) e de sorgo (Figuras 2, 4 e 6) presentes no solo rizosférico distanciaram-se

das amostras de solo não rizosférico na projeção bidimensional, indicando diferenças na estruturação das comunidades microbianas na ausência de plantas. A diferença encontrada entre essas amostras corrobora com os dados da literatura, uma vez que no solo rizosférico há uma interação complexa entre exsudados radiculares, nutrientes e microrganismos do solo, o que não ocorre no solo não rizosférico (Peiffer *et al.*, 2013).

Arizosfera é uma zona crítica do solo em torno das raízes que é diretamente influenciada pelas plantas, que podem secretar até 11% do carbono na forma de exsudatos (Jones *et al.*, 2009; Dennis *et al.*, 2010). Existe uma estreita interação bidirecional entre a comunidade microbiana e seu hospedeiro vegetal, fato essencial para a sanidade e produtividade das plantas. Isso torna-se aparente nas associações simbióticas entre rizóbios e leguminosas, bem como na aquisição generalizada de nutrientes como fosfato por fungos micorrízicos arbusculares (Lanfranco; Young, 2012; Terpolilli *et al.*, 2012; Udvardi; Poole, 2013; Nuccio *et al.*, 2013). As hifas fúngicas partem das regiões mais ativas das raízes e se estendem no solo, aumentando a aérea para captação de P pelas plantas (Smith; Read, 2008).

A análise das comunidades bacterianas (Figuras 1A e 2A) e de FMA (Figuras 1B e 2B) presentes na rizosfera de milho e sorgo mostrou um grupo único dos dados relacionados ao genótipo x fonte de fósforo, indicando uma similaridade da comunidade de microrganismos quanto a essas variáveis. Recentemente, estudos relacionados com o impacto da fertilização fosfatada em milho em longo tempo demonstraram uma maior abundância e diversidade de FMA no solo suplementado com fosfato de rocha em relação ao superfosfato triplo (Silva *et al.*, 2017). A similaridade entre as comunidades encontradas no presente estudo pode estar relacionada ao fato das fontes de fertilizantes fosfatados estarem atuando na abundância relativa de microrganismos e não necessariamente na biodiversidade microbiana, como também demonstrado por Tang *et al.* (2016), que avaliaram o efeito da fertilização fosfatada sobre a rizosfera (taxa de micorrização e comunidade bacteriana e fúngica) de trigo e fava cultivados em sistema de consórcio. Estudos adicionais visando a identificação dos taxons presentes no solo sob cada fonte fosfatada podem ajudar no entendimento da modulação da estrutura das comunidades microbianas mediante disponibilidade de P.

Quando comparados genótipo e dose de fósforo para bactérias (Figura 3 e 4) e FMA (Figura 5 e 6) foram observados três grupos distintos relacionados à disponibilidade de P: I) solo não rizosférico; II) 0 kg ha⁻¹ e III) 50 e 100 kg ha⁻¹ para todas as amostras de milho e sorgo. Dessa maneira, os resultados sugerem que a disponibilidade de P influencia as comunidades bacterianas e de fungos micorrízicos arbusculares presentes na rizosfera de milho e sorgo. Para FMA, esse resultado era esperado, uma vez que há uma diminuição significativa na porcentagem de colonização de FMA no solo com alto nível de P disponível (Smith et al., 1992). No entanto, nesse mesmo estudo também houve uma menor abundância de FMA no solo sem adição de P, possivelmente por causa da ocorrência de competição de P entre as hifas de FMA e raízes na rizosfera (Smith et al., 2011).

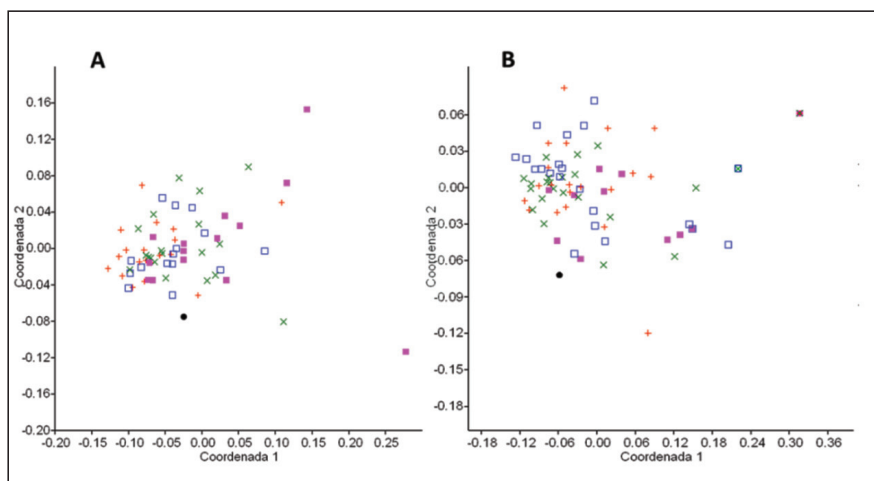


Figura 1. Análise de escalonamento multidimensional não métrica (NMDS) utilizando a medida de distância de *Jaccard* para diversidade genética da comunidade bacteriana (A) e de fungos micorrízicos arbusculares (B) da rizosfera de genótipos de milho (BRS1055, 1M1752, AG8088, DKB390) cultivados em diferentes fontes de fósforo.

● Solo não rizosférico; ■ Controle negativo; + Fosfato reativo; ■ Fosfato de rocha; x Super triplo.

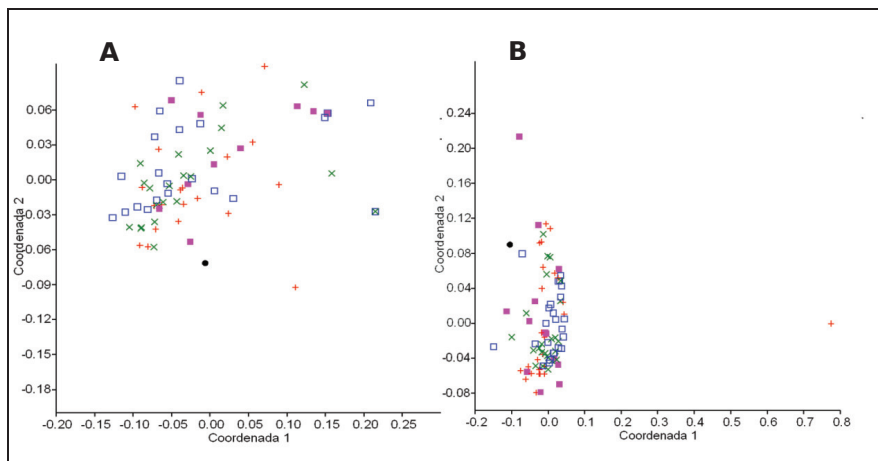


Figura 2. Análise de escalonamento multidimensional não métrica (NMDS) utilizando a medida de distância de *Jaccard* para diversidade genética da comunidade bacteriana (A) e fungos micorrízicos arbusculares (B) da rizosfera de genótipos de sorgo (1G100, BRS373, BRS330, DKB540) cultivados em diferentes fontes de fósforo.

● Solo não rizosférico; ■ Controle negativo; + Fósforo reativo; ■ Fósforo de rocha; x Super triplo.

Estudos sobre o efeito da adubação fosfatada na colonização radicular de *Mendicato truncatula* pelo FMA *Rizhophagus irregulares* mostraram que a dose da adubação fosfatada reduziu a colonização da raiz pelo fungo e está relacionada com a expressão de genes relacionados à captação de P no meio. A análise de vias de sinalização para colonização tem indicado que, em altas concentrações de P, compostos sinalizadores como as estrigolactonas têm sua síntese reduzida quando comparada em meios com baixa disponibilidade de P, estabelecendo uma simbiose mais evidente em baixas concentrações de P disponíveis (Balzergue et al., 2013).

As altas dosagens da fertilização fosfatada podem impactar a abundância e composição da comunidade bacteriana do solo, alterando a estrutura bacteriana de microrganismos oligotróficos para copiotróficos e aumentando a população de alguns grupos como Proteobactérias, Actinobactérias e Firmicutes. Esses microrganismos apresentam crescimento rápido quando os nutrientes estão mais disponíveis no ambiente (Tang et al., 2016; Silva et al., 2017). Esse fato também pode ser observado na adubação nitrogenada, evidenciando o impacto da fertilização química no solo (Enwall et al., 2007; Fierer et al., 2012; Tang et al., 2016). No presente estudo, a diferenciação

dos grupos II e III em todos os genótipos (Figuras 3 a 6) corrobora resultados de outros trabalhos que demonstraram que existe uma maior interação entre plantas e microrganismos na ausência de fertilização fosfatada, além do aumento da produção de fosfatases ácidas e alcalinas para maior solubilização de fosfato, promovendo diferenças entre as comunidades estudadas (Lu et al., 2008; Zhang et al., 2009; Gosling et al., 2013; Hunter et al., 2014).

O efeito da fertilização fosfatada sobre a comunidade microbiana da rizosfera de feijão (*Phaseolus vulgaris*) avaliado por T-RFLP da região 16SrDNA revelou que a fertilização afetou a riqueza bacteriana do solo. Foram avaliados o fosfato de rocha da Tunísia e o superfosfato triplo, ambos com a mesma dose de P. O superfosfato triplo estimulou o grupo das actinobactérias tanto na rizosfera quanto em solo não rizosférico. Algumas destas actinobactérias são conhecidas pela capacidade de produzir ácidos orgânicos promovendo a dissolução de fosfatos de cálcio e de fósforo. Outra característica importante foi a estimulação de bactérias auxiliares das micorrizas das famílias *Comamonadaceae*, *Bradyrhizobacteriaceae* e *Oxalobacteraceae* e outras bactérias promotoras de crescimento de plantas, principalmente das famílias *Enterobacteriaceae* e *Pseudomonodaceae*. Estas bactérias podem contribuir para a solubilização do fosfato através da produção de ácidos orgânicos e fitohormônios que estimulam o desenvolvimento da raiz da planta, aumentando a área de superfície de absorção (Trabelsi et al., 2012). Além disso, análises realizadas por T-RFLP mostraram que altas concentrações de P no solo resultaram em um impacto negativo na colonização de FMA em uma gama de plantas hospedeiras. Essa interação pode ser impactada pelo estágio de crescimento da planta hospedeira, estresses bióticos e abióticos e tipo de solo (Gosling et al., 2013).

Estudos da diversidade microbiana sob impacto da fertilização fosfatada relacionados ao sorgo são escassos na literatura. Os resultados obtidos a partir dos genótipos dessa cultura (Figuras 2,4 e 6) foram similares aos encontrados para o milho (Figuras 1,3 e 5). Sob deficiência de P, as raízes do milho exibem extensas alterações morfológicas e fisiológicas (Zhu et al., 2005, 2010; Zhang et al., 2012; Postma et al., 2014; Miguel et al., 2015) relacionadas ao aumento da eficiência na aquisição de P. Os genótipos de milho eficientes têm maior razão raiz/parte aérea, maior densidade de raízes, o que favorece a colonização de microrganismos e maior liberação de exsudados do que os genótipos ineficientes para P (Bates; Lynch, 2001; Liu

et al., 2004; Zhu; Lynch, 2004; Zhu et al., 2005; Corrales et al., 2007; Lynch, 2011).

Portanto, a dose de P parece ser o fato determinante no agrupamento das comunidades microbianas para os genótipos estudados. Para entender melhor a alteração da comunidade microbiana serão necessários estudos relacionados à identificação dos táxons de cada grupo encontrado e análise do seu papel funcional no ambiente.

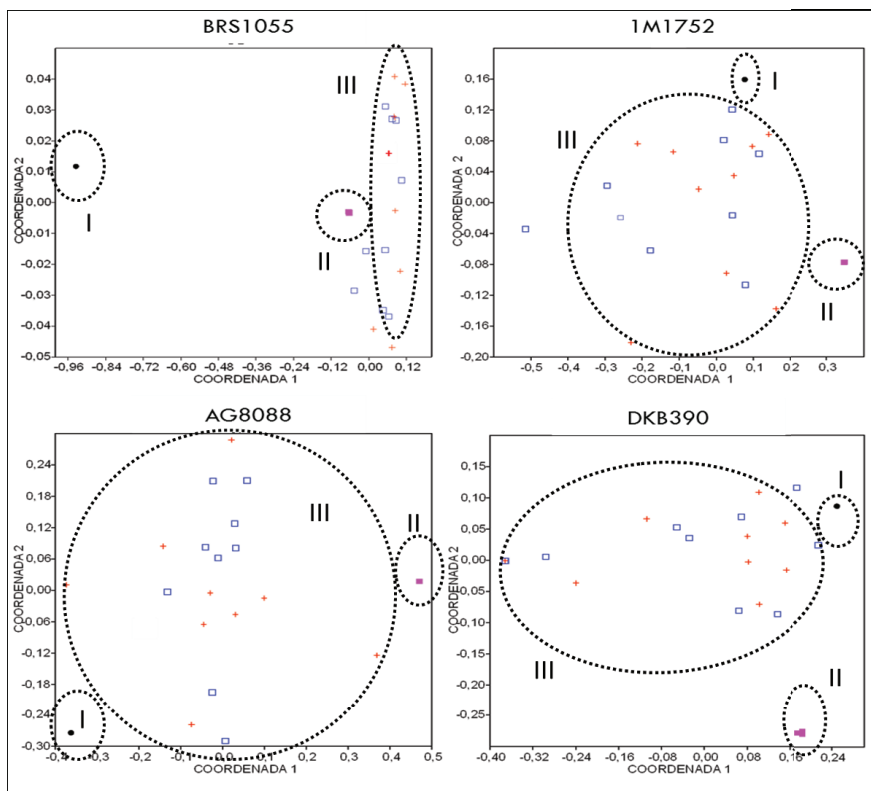


Figura 3. Análise de escalonamento multidimensional não métrica (NMDS) utilizando a medida de distância de *Jaccard* para diversidade genética da comunidade bacteriana da rizosfera de genótipos de milho cultivados em solos com diferentes níveis de fósforo.

● Solo não rizosférico; ■ 0 Kg ha⁻¹ de fósforo; + 50 Kg ha⁻¹ de fósforo; ■ 100 Kg ha⁻¹ de fósforo.

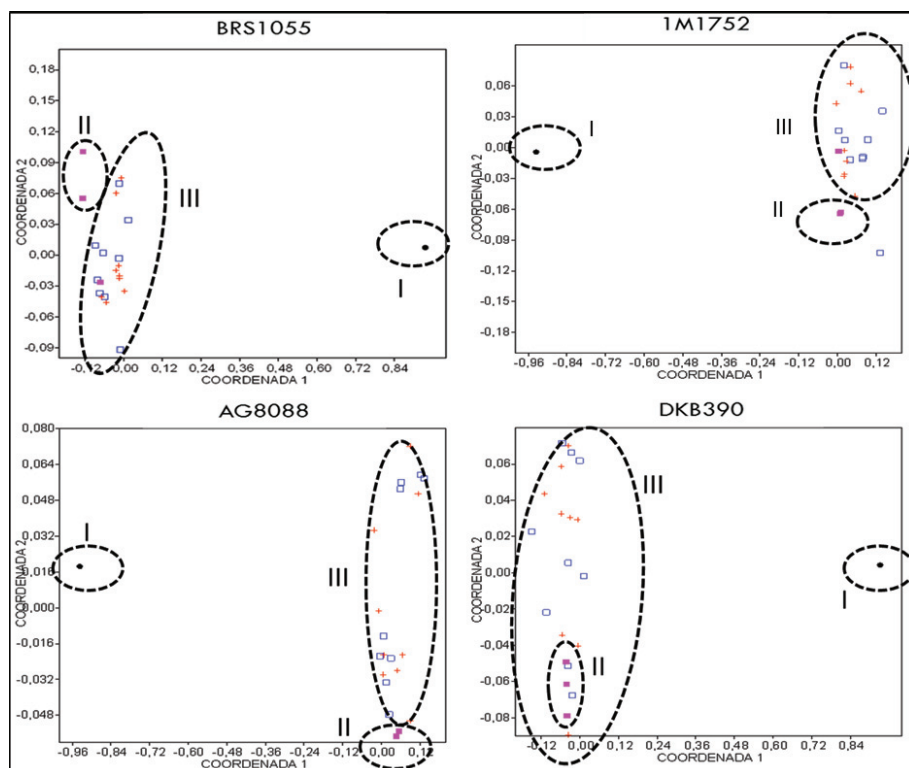


Figura 4. Análise de escalonamento multidimensional não métrica (NMDS) utilizando a medida de distância de *Jaccard* para diversidade genética da comunidade bacteriana da rizosfera de genótipos de sorgo cultivados em solos com diferentes níveis de fósforo.

● Solo não rizosférico; ■ 0 Kg ha⁻¹ de fósforo; + 50 Kg ha⁻¹ de fósforo; ■ 100 Kg ha⁻¹ de fósforo.

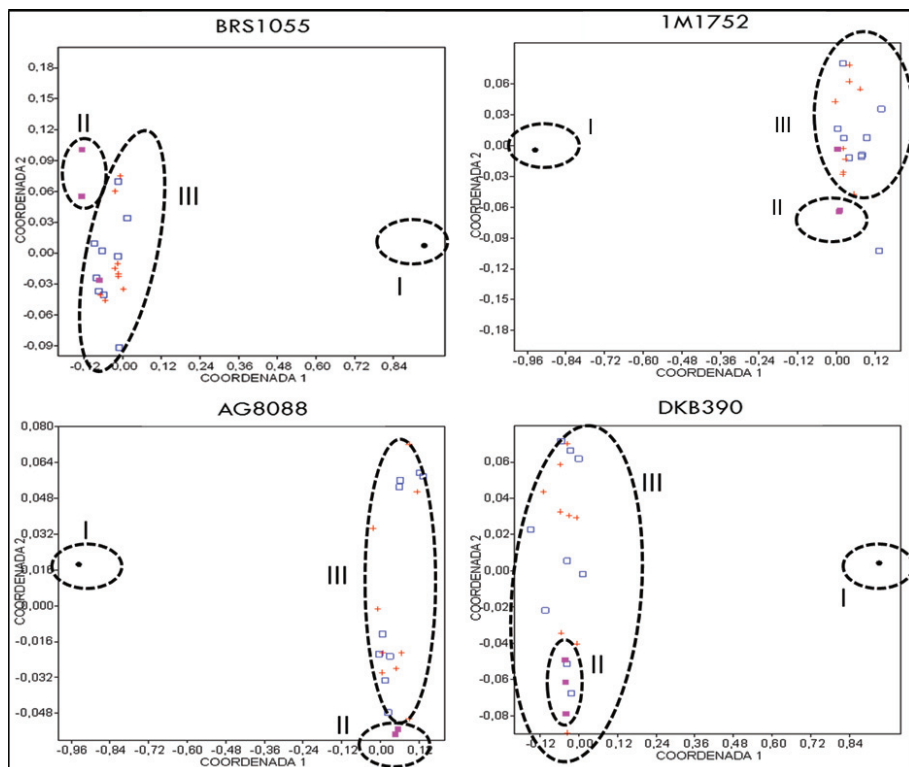


Figura 5. Análise de escalonamento multidimensional não métrico (NMDS) utilizando a medida de distância de *Jaccard* para diversidade genética da comunidade de fungos micorrízicos arbusculares presentes na rizosfera de genótipos de milho cultivados em solo com diferentes níveis de fósforo.

● Solo não rizosférico; ■ 0 Kg ha⁻¹ de fósforo; + 50 Kg ha⁻¹ de fósforo; ■ 100 Kg ha⁻¹ de fósforo.

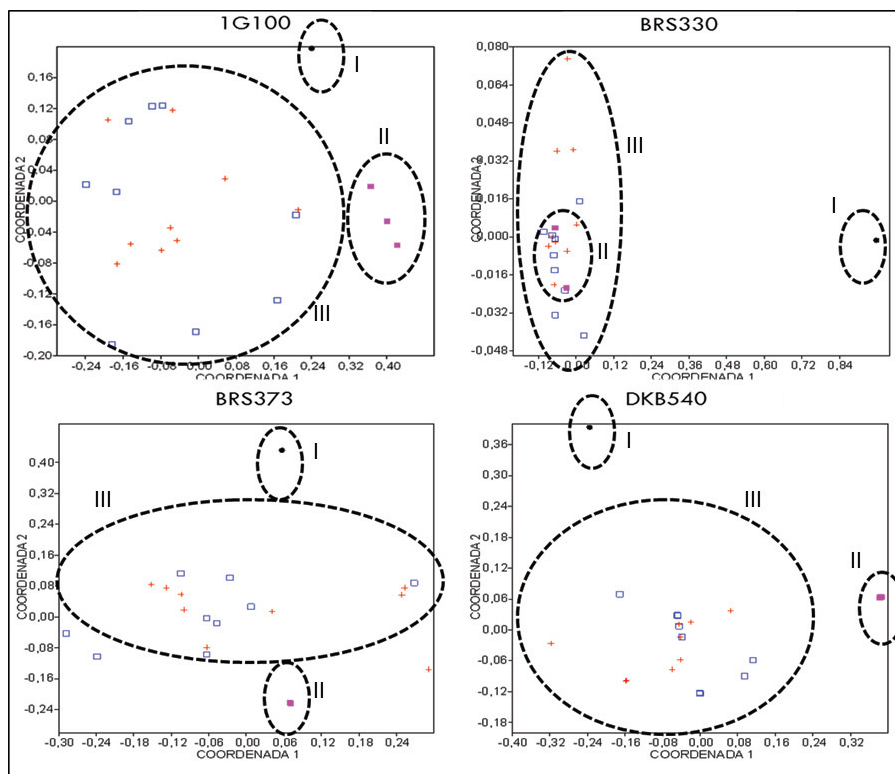


Figura 6. Análise de escalonamento multidimensional não métrico (NMS) utilizando a medida de distância de *Jaccard* para diversidade genética da comunidade de fungos micorrízicos arbusculares da rizosfera de genótipos de sorgo cultivados em solos com diferentes níveis de fósforo.

● Solo não rizosférico; ■ 0 Kg ha⁻¹ de fósforo; + 50 Kg ha⁻¹ de fósforo; ■ 100 Kg ha⁻¹ de fósforo.

Conclusão

A dose de P foi o fator que mais influenciou a estrutura da comunidade microbiana de bactérias e fungos micorrízicos do solo, seguida pela fonte de P, considerando todos os genótipos de milho e sorgo estudados.

Referências

BALZERGUE, C.; CHABAUD, M.; BARKER, D. G.; BÉCARD, G.; ROCHANGE, S. F. High phosphate reduces host ability to develop arbuscular mycorrhizal symbiosis without affecting root calcium spiking responses to the fungus. **Frontiers in Plant Science**, v. 4, n. 4, article 426, 2013.

BATES, T. R.; LYNCH, J. P. Root hairs confer a competitive advantage under low phosphorus availability. **Plant and Soil**, v. 236, p. 243-250, 2001.

BISSETT, A.; RICHARDSON, A. E.; BAKER, G.; KIRKEGAARD, J.; THRALL, P. H. **Bacterial community response to tillage and nutrient additions in a long-term wheat cropping experiment. Soil Biology & Biochemistry**, v. 58, p. 281-292, 2013.

BOUWMAN, A. F.; BEUSEN, A. H. W.; BILLEN, G. Human alteration of the global nitrogen and phosphorus soil balances for the period 1970-2050. **Global Biogeochemical Cycles**, v. 23, n. 4, p. 1-16, 2009.

CARSON, J. K.; GONZALEZ-QUIÑONES, V.; MURPHY, D. V.; HINZ, C.; SHAW, J. A.; GLEESON, D. B. Low pore connectivity increases bacterial diversity in soil. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 76, n. 12, p. 3936-3942, 2010.

CHAUHAN, P. S.; CHAUDHRY, V.; MISHRA, S.; NAUTIYAL, C. S. Uncultured bacterial diversity in tropical maize (*Zea mays* L.) rhizosphere. **Journal of Basic Microbiology**, v. 51, p. 15-32, 2011.

CORDELL, D.; DRANGERT, O.; WHITE, S. The story of phosphorus: global food security and food for thought. **Global Environmental Change-Human and Policy Dimensions**, v. 19, p. 292-305, 2009.

CORRALES, I.; AMENOS, M.; POSCHENRIEDER, C.; BARCELO, J. Phosphorus efficiency and root exudates in two contrasting tropical maize varieties. **Journal of Plant Nutrition**, v. 30, p. 887-900, 2007.

CULMAN, S. W.; BUKOWSKI, R.; GAUCH, H. G.; CADILLO-QUIROZ, H.; BUCKLEY, D. H. T-REX: software for the processing and analysis of T-RFLP data. **BMC Bioinformatics**, v. 10, n. 171, p. 1-10, 2009.

DAROUB, S. H.; PIERCE, J.; ELLIS, B. G. Phosphorus fractions and fate of phosphorus- 33 in soils under plowing and no-tillage. **Soil Science Society of America Journal**, v. 64, n. 1, p. 170-176, 2000.

DENNIS, P. G.; MILLER, A. J.; HIRSCH, P. R. Are root exudates more important than other sources of rhizodeposits in structuring rhizosphere bacterial communities? **FEMS Microbiol Ecology**, v. 72, p. 313-327, 2010.

DODDS, W. K.; BOUSKA, W. W.; EITZMANN, J. L.; PILGER, T. J.; PITTS, K. L.; RILEY, A. J. Eutrophication of U.S. freshwaters: analysis of potential economic damages. **Environment Science Technology**, n. 43, p.12-19, 2009.

ENWALL, K.; NYBERG, K.; BERTILSSON, S.; CEDERLUND, H.; STENSTROM, J.; HALLIN, S. Long-term impact of fertilization on activity and composition of bacterial communities and metabolic guilds in agricultural soil. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 39, p. 106-115, 2007.

FIERER, N.; LAUBER, C. L.; RAMIREZ, K. S.; ZANEVELD, J.; BRADFORD, M. A.; KNIGHT, R. Comparative metagenomic, phylogenetic and physiological analyses of soil microbial communities across nitrogen gradients. **Multidisciplinary Journal of Microbial Ecology**, v. 6, p. 1007-1017, 2012.

FLORES, S. W. S. **Composição e funcionalidade do microbioma da rizosfera de feijão selvagem e cultivado**. 2015. 150 f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agrícola) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, 2015.

GENNEY, D. R.; ANDERSON, I. C.; ALEXANDER, I. J. Fine-scale distribution of pine ectomycorrhizas and their extramatrical mycelium. **New Phytology**, v. 170, n. 2, p. 381-390, 2006.

GOSLING, P.; MEAD, A.; PROCTOR, M.; HAMMOND, J. P.; BENDING, G. D. Contrasting arbuscular mycorrhizal communities colonizing different

host plants show a similar response to a soil phosphorus concentration gradient. **New Phytologist**, v. 198, n. 2, p. 546-556, 2013.

HAMMER, O.; HARPER, D. A. T.; RYAN, P. D. **PAST**: Paleontological Statistics software package for education and data analysis: version. 1.37. 2001. Disponível em: <https://palaeo-electronica.org/2001_1/past/issue1_01.htm>. Acesso em: 15 jan. 2018.

HEDGES, R. W.; MESSENS, E. Genetic aspects of rhizosphere interactions. In: LYNCH, J. M. (Ed.). **The rhizosphere**. Chichester: John Wiley, 1990. p. 129-176.

HOITINK, H. A. J.; BOEHM, M. J. Biocontrol within the context of soil microbial communities: a substrate-dependent phenomenon. **Annual Review Phytopathology**, v. 37, p. 427-446, 1999.

HUNTER, P. J.; TEAKLE, G. R.; BENDING, G. D. Root traits and microbial community interactions in relation to phosphorus availability and acquisition, with particular reference to Brassica. **Frontiers in Plant Science**, v. 5, n. 27, 2014.

INTERNATIONAL FERTILIZER ASSOCIATION. **IFA public website**. Paris, 2018. Disponível em: <<https://www.fertilizer.org/>>. Acesso em: 10 jun. 2018.

JOHNSON, D.; VANDENKOORNHUYSE, P. J.; LEAKE, J. R.; GILBERT, L.; BOOTH, R. E.; GRIME, J. P.; YOUNG, J. P. W.; READ, D. J. Plant communities affect arbuscular mycorrhizal fungal diversity and community composition in grassland microcosms. **New Phytology**, v. 161, n. 2, p. 503-515, 2004.

JONES, D. L.; NGUYEN, C.; FINLAY, R. D. Carbon flow in the rhizosphere: carbon trading at the soil-root interface. **Plant and Soil**, v. 321, p. 5-33, 2009.

KAMINSKI, J.; PERUZZO, G. **Eficácia de fosfatos naturais reativos em sistemas de cultivo**. Santa Maria. Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 1997. 31 p.

KENNEDY, A. C. The rhizosphere and spermosphere. In: SYLVIA, D. M.; FUHRMANN, J. J.; HARTEL, P. G.; ZUBERER, D. A. (Ed.). **Principles and applications of soil microbiology**. Upper Saddle River: Prentice Hall, 1999. p. 389-407.

KENNEDY, N.; EDWARDS, S.; CLIPSON, N. Soil bacterial and fungal community structure across a range of unimproved and semi-improved upland grasslands. **Microbial Ecology**, v. 50, p. 463-473, 2005.

KITTS, C. L. Terminal restriction fragment patterns: a tool for comparing microbial communities and assessing community dynamics. **Current Issues in Intestinal Microbiology**, v. 2, p. 17-25, 2001.

KLINDWORTH, A.; PRUESSE, E.; SCHWEER, T.; PEPLIES, J.; QUAST, C.; HORN, M. Evaluation of general 16S ribosomal RNA gene PCR primers for classical and next-generation sequencing-based diversity studies. **Nucleic Acids Research**, v. 41, n. 1, p. 1-11, 2013.

LANFRANCO, L.; YOUNG, J. P. Genetic and genomic glimpses of the elusive arbuscular mycorrhizal fungi. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 15, p. 454-461, 2012.

LI, X. Z.; RUI, J. P.; MAO, Y. J.; YANNARELL, A.; MACKIE, R. Dynamics of the bacterial community structure in the rhizosphere of a maize cultivar. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 68, p. 392-401, 2014.

LIU, Y.; MI, G. H.; CHEN, F. J.; ZHANG, J. H.; ZHANG, F. S. Rhizosphere effect and root growth of two maize (*Zea mays* L.) genotypes with contrasting P efficiency at low P availability. **Plant Science**, v. 167, p. 217-223, 2004.

LORD, N. S.; KAPLAN, C. W.; SHANK, P.; KITTS, C. L.; ELROD, S. L. Assessment of fungal diversity using terminal restriction fragment (TRF) pattern analysis: comparison of 18S and ITS ribosomal regions. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 42, p. 327-337, 2002.

LU, K.; CHAI, Y. R.; ZHANG, K.; WANG, R.; CHEN, L.; LEI, B. Cloning and characterization of phosphorus starvation inducible *Brassica napus* PURPLE ACID PHOSPHATASE 12 gene family, and imprinting of a recently evolved MITE-minisatellite twin structure. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 117, p. 963-975, 2008.

LYNCH, J. P. Root phenes for enhanced soil exploration and phosphorus acquisition: tools for future crops. **Plant Physiology**, v. 156, p. 1041-1049, 2011.

MATTHEWS, S.; ADZAHAR, M. S. Application of phosphate solubilising microorganisms to increase the solubilisation of rock phosphates in soil. **Journal Tropical Agriculture and Food Science**, v. 44, p. 9-18, 2016.

MENDES, G. O.; FREITAS, A. L. M. de; PEREIRA, O. L.; SILVA, I. R. da; VASSILEV, N. B.; COSTA, M. D. Mechanisms of phosphate solubilization by fungal isolates when exposed to different P sources. **Annals of Microbiology**, v. 64, p. 239-249, 2014.

MIETHLING, R.; WIELAND, G.; BACKHAUS, H.; TEBBE, C. C. Variation of microbial rhizosphere communities in response to crop species, soil origin, and inoculation with *Sinorhizobium meliloti* L33. **Microbial Ecology**, v. 41, p. 43-56, 2000.

MIGUEL, M. A.; POSTMA, J. A.; LYNCH, J. P. Phen synergism between root hair length and basal root growth angle for phosphorus acquisition. **Plant Physiology**, v. 167, p. 1430-1439, 2015.

MILLER, H. J.; HENKEN, G.; VAN VEEN, J. A. Variation and composition of bacterial populations in the rhizosphere of maize, wheat and grass cultivars, wheat and grass cultivars. **Canadian Journal Microbiology**, v. 35, p. 656-660, 1989.

NUCCIO, E. E.; HODG, A.; PETT-RIDGE, J.; HERMAN, D. J.; WEBER, P. K.; FIRESTONE, M. K. An arbuscular mycorrhizal fungus significantly modifies the soil bacterial community and nitrogen cycling during litter decomposition. **Environmental Microbiology**, v. 15, p. 1870-1881, 2013.

PEIFFER, J. A.; SPOR, A.; KOREN, O.; JIN, Z.; TRINGE, S. G.; DANGL, J. L. Diversity and heritability of the maize rhizosphere microbiome under field conditions. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 110, n. 16, p. 6548-6553, 2013.

POSTMA, J. A.; DATHE, A.; LYNCH, J. P. The optimal lateral root branching density for maize depends on nitrogen and phosphorus availability. **Plant Physiology**, v. 166, p. 590-602, 2014.

RASHID, M.; KHALIL, S.; AYUB, N.; ALAM, S.; LATIF, F. Organic acids production and phosphate solubilization by phosphate solubilizing microorganisms (PSM) under in vitro conditions. **Pakistan Journal Biological Sciences**, v.7, p. 187-196, 2004.

RESENDE, A. V.; FURTINI NETO, A. E.; ALVES, V. M. C.; MUNIZ, J. A.; CURI, N.; FAQUIN, V.; KIMPARG, D. I.; SANTOS, J. Z. L.; CARNEIRO, L. F. Fontes e modos de aplicação de fósforo para o milho em solo cultivado da região do Cerrado. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 30, p. 453-466, 2006.

ROVIRA, A. D.; ELLIOT, L. F.; COOK, R. J. The impact of cropping systems on rhizosphere organisms affecting plant health. In: LYNCH, J. M. (Ed.). **The rhizosphere**. Chichester: John Wiley, 1990. p. 389-436.

SCHALLMACH, E.; MINZ, D.; JURKEVITCH, E. Culture-independent detection of changes in root-associated bacterial populations of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) following nitrogen depletion. **Microbial Ecology**, v. 40, p. 309-316, 2000.

SCHWIEGER, F.; TEBBE, C. C. Effect of field inoculation with *Sinorhizobium meliloti* L33 on the composition of bacterial communities in rhizospheres of a target plant (*Medicago sativa*) and a non-target plant (*Chenopodium album*) linking of 16S rRNA gene-based single-strand conformation polymorphism community profiles to the diversity of cultivated bacteria. **Applied Environmental Microbiology**, v. 66, p. 3556-3565, 2000.

SILVA, U. C.; MEDEIROS, J. D.; LEITE, L. R.; MORAIS, D. K.; CUADROS-ORELLANA, S.; OLIVEIRA, C. A. de; LANA, U. G. de P.; GOMES, E. A.; SANTOS, V. L. dos. Long-term rock phosphate fertilization impacts the microbial communities of maize rhizosphere. **Frontiers in Microbiology**, v. 8, article, 1266, 2017.

SIMPSON, R.; OBERSON, A.; CULVENOR, R.; RYAN, M.; VENEKLAAS, E.; LAMBERS, H.; LYNCH, J.; RYAN, P.; DELHAIZE, E.; SMITH, F. A.; SMITH, S.; HARVEY, P.; RICHARDSON, A. Strategies and agronomic interventions to improve the phosphorus-use efficiency of farming systems. **Plant and Soil**, v. 349, p. 89-120, 2011.

SMITH, S. E.; READ, D. J. Mineral nutrition, toxic element accumulation and water relations of arbuscular mycorrhizal plants. In: SMITH, S. E.; READ, D. J. **Mycorrhizal symbiosis**. 3. ed. London: Academic Press, 2008. p. 145-188.

SMITH, S. E.; JAKOBSEN, I.; GRONLUND, M.; SMITH, F. A. 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, 2011.

SMITH, S. E.; ROBSON, A. D.; ABBOTT, L. K. The involvement of mycorrhizas in assessment of genetically dependent efficiency of nutrient uptake and use. **Plant and Soil**, v. 146, p. 169-179, 1992.

TANG, C.; HAN, X. Z.; QIAO, Y. F.; ZHENG, S. J. Phosphorus deficiency does not enhance proton release by roots of soybean. **Environmental And Experimental Botany**, v. 67, p. 228-234, 2009.

TANG, X. Y.; PLACELLA, S. A.; DAYDE, F.; BERNARD, L.; ROBIN, A.; JOURNET, E. P.; JUSTES, E.; HINSINGER, P. Phosphorus availability and microbial community in the rhizosphere of intercropped cereal and legume along a P-fertilizer gradient. **Plant and Soil**, v. 407, p. 119-134, 2016.

TERPOLILLI, J. J.; HOOD, G. A.; POOLE, P. S. What determines the efficiency of N(2)-fixing Rhizobium-legume symbioses? **Advances in Microbial Physiology**, v. 60, p. 325-389, 2012.

TIPAYNOA, S.; KIMB, C.; TONGMIN, S. A. A. T-RFLP analysis of structural changes in soil bacterial communities in response to metal and metalloid contamination and initial phytoremediation. **Applied Soil Ecology**, v. 6, p. 137-146, 2012.

TOJU, H.; TANABE, A. S.; YAMAMOTO, S.; SATO, H. High-coverage ITS primers for the DNA-based identification of ascomycetes and basidiomycetes in environmental samples. **Plos One**, v. 7, n. 7, e40863, 2012.

TRABELSI, D.; BEN AMMAR, H.; MENGONI, A.; MHAMDI, R. Appraisal of the crop-rotation effect of rhizobial inoculation on potato cropping systems in relation to soil bacterial communities. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 54, p. 1-6, 2012.

TRABELSI, D.; CHERNI, A.; ZINEB, A. B.; DHANE, S. F.; MHAMDI, R. Fertilization of *Phaseolus vulgaris* with the Tunisian rock phosphate affects richness and structure of rhizosphere bacterial communities. **Applied Soil Ecology**, v. 114, p. 1-8, 2017.

UDVARDI, M.; POOLE, P. S. Transport and metabolism in legume-rhizobia symbioses. **Annual Review of Plant Biology**, v. 64, p. 781-805, 2013.

VAN KAUWENBERGH, S. J. **World phosphate rock reserves and resources**. Muscle Shoals: International Fertilizer Development Center, 2010.

VANCE, C. P.; CHIOU, T. J. Phosphorus focus editorial. **Plant Physiology**, v. 156, p. 987-988, 2011.

VERBRUGGEN, E.; KURAMAE, E. E.; HILLEKENS, R.; HOLLANDER, M.; KIERS, E. T.; RÖLING, W. F. M.; KOWALCHUK, G. A.; VAN DER HEIJDEN, M. G. A. Testing potential effects of maize expressing the bacillus thuringiensis endotoxin (Bt maize) on mycorrhizal fungal communities via DNACry1Ab and RNA-based pyrosequencing and molecular fingerprinting. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 78, p. 7384-7392, 2012.

YANG, Y.; WANG, N.; GUO, X.; ZHANG, Y.; YE, B. Comparative analysis of bacterial community structure in the rhizosphere of maize by high-throughput pyrosequencing. **Plos One**, v. 5, e0178425, 2017.

ZHANG, H. W.; HUANG, Y.; YE, X. S.; SHI, L.; XU, F. S. Genotypic differences in phosphorus acquisition and the rhizosphere properties of *Brassica napus* in response to low phosphorus stress. **Plant and Soil**, v. 320, p. 91-102, 2009.

ZHANG, Y.; YU, P.; PENG, Y.; LI, X.; CHEN, F.; LI, C. Fine root patterning and balanced inorganic phosphorus distribution in the soil indicate distinctive adaptation of maize plants to phosphorus deficiency. **Pedosphere**, v. 22, p. 870-877, 2012.

ZHU, J.; LYNCH, J. P. The contribution of lateral rooting to phosphorus acquisition efficiency in maize (*Zea mays*) seedlings. **Functional Plant Biology**, v. 31, p. 949-958, 2004.

ZHU, J.; KAEPLER, S. M.; LYNCH, J. P. Topsoil foraging and phosphorus acquisition efficiency in maize (*Zea mays*). **Functional Plant Biology**, v. 32, p. 749-762, 2005.

ZHU, J.; ZHANG, C.; LYNCH, J. P. The utility of phenotypic plasticity of root hair length for phosphorus acquisition. **Functional Plant Biology**, v. 37, p. 313-322, 2010.



Milho e Sorgo

BOLETIM DE PESQUISA E DESENVOLVIMENTO 169



Ministério da
Agricultura, Pecuária
e Abastecimento



CGPE 14866

