



ANA PAULA VALADARES DA SILVA

**COMMUNITIES OF ARBUSCULAR MYCORRHIZAL FUNGI
IN COFFEE PLANTATIONS AT "MATA ATLANTICA"
DOMAIN**

LAVRAS-MG

2024

ANA PAULA VALADARES DA SILVA

**COMMUNITIES OF ARBUSCULAR MYCORRHIZAL FUNGI IN COFFEE
PLANTATIONS AT "MATA ATLANTICA" DOMAIN**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo, área de concentração em Biologia, Microbiologia e Processos Biológicos do Solo, para obtenção do título de doutora.

Orientadora: Fatima Maria de Souza Moreira

Coorientador: Teotonio S. de Carvalho

LAVRAS-MG

2024

**Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca
Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).**

da Silva, Ana Paula Valadares.

Communities of ArbuscularMycorrhizal Fungi in Coffee
Plantations at "Mata Atlantica" Domain / Ana Paula Valadares da
Silva. - 2024.

102 p. : il.

Orientador(a): Fatima Maria de Souza Moreira.

Coorientador(a): Teotonio Soares de Carvalho.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Lavras, 2024.

Bibliografia.

1. Ecologia microbiana. 2. Qualidade microbiológica do solo.
3. Glomeromycota. I. Moreira, Fatima Maria de Souza Moreira. II.
de Carvalho, Teotonio Soares. III. Título.

ANA PAULA VALADARES DA SILVA

**COMMUNITIES OF ARBUSCULAR MYCORRHIZAL FUNGI IN COFFEE
PLANTATIONS AT "MATA ATLANTICA" DOMAIN**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo, área de concentração em Biologia, Microbiologia e Processos Biológicos do Solo, para obtenção do título de doutora.

APROVADA em 26 de março de 2024

Ph.D. Fatima Maria de Souza Moreira- UFLA – MG/BR

Ph.D. Teotonio Soares de Carvalho - UFLA – MG/BR

Ph.D. Cândido Barreto de Novais - SCHEFFER – MT/BR

Ph.D. Jessé Valentim dos Santos – UFLA – MG/BR

Ph.D. Orivaldo José Saggin Junior - EMBRAPA – RJ/BR

Orientadora: Fatima Maria de Souza Moreira

Coorientador: Teotonio S. de Carvalho

LAVRAS – MG

2024

Agradecimentos

Agradeço a Deus por me permitir realizar este sonho.

Agradeço aos meus pais, Conceição e Luciano, pelo apoio incondicional e pela educação que me deram, mesmo sem terem tido a oportunidade de estudar, especialmente à minha mãe, que sempre reconheceu a importância do estudo.

Agradeço aos meus irmãos, especialmente à minha irmã Maria E. Valadares, carinhosamente apelidada de "escravinha", por todo o apoio e pela ajuda fundamental nas análises de laboratório.

Agradeço ao meu noivo, Lucas Benedet, meu maior incentivador, por todo o companheirismo, paciência, amor, dedicação e compreensão durante todo o doutorado, e por segurar a barra nos momentos difíceis. Agradeço também aos meus sogros, Inês e Jaci, por todo o apoio.

Agradeço ao meu amigo Paulo, que sempre esteve presente para me ajudar e ouvir minhas lamúrias. Também agradeço a ele como profissional, por ser o técnico que me deu assistência em inúmeras questões.

Agradeço aos meus amigos da pós-graduação, Aline Franco, Aline Oliveira, Ana Lúcia, Katia e Letícia. Cada uma, à sua maneira especial, me apoiou e ajudou, fazendo o melhor por mim. Sou muito grata a todas.

Agradeço às meninas da minha república (Tatiane Casarin, Jessyca Adriana, Débora, Ana Paula, Maria Eduarda, Franciele, Rafaela e Renata) por terem transformado nossa república em um ambiente familiar e acolhedor durante toda esta jornada, e por se preocuparem comigo.

Agradeço aos meus amigos de longa data, Enivânia, Cristina e Samuel, que há muito tempo vêm torcendo e me encorajando em tudo que faço.

Agradeço à minha orientadora, professora Fatima, que aceitou me receber e orientar em um espaço de tempo mais curto para a execução desta tese, por compartilhar seus conhecimentos comigo, pelos ensinamentos intelectuais e por toda a compreensão.

Agradeço ao pós-doutorando Éder, que me ajudou muito na parte estatística. Agradeço ao professor Teotônio e aos pesquisadores Orivaldo e Cândido por toda a assistência intelectual e profissional na realização desta tese.

Agradeço as agências de fomento CNPq, Capes e Fapemig. (Fapemig CAG - RED-00330-16) (CNPq Processos 310015/2021-9 e 431504/2016-4 e a minha bolsa 140456/2020-1) (Capes AUXPE 0307/2021). Este trabalho foi realizado no âmbito do INCT Biodiversidade do Solo.

GENERAL ABSTRACT

The objective of this study was to relate coffee productivity to the density and diversity of native AMF (arbuscular mycorrhizal fungi) at different soil depths, as well as to assess the impact of land use change (from forest to coffee plantations) on mycorrhizal communities present in the soil and litter. Regarding different depths (0-20, 20-40, 40-60 cm), soil samples were collected from two plots (with higher and lower productivity but with the same management, soil type, spacing, and variety). Concerning the comparison between forest and coffee, soil and litter samples were collected along transects located in 4 coffee plots and 4 forest fragments in different seasonal periods (dry and wet). Parameters such as soil fertility, spore density, morphological identification, species richness, and Hill numbers were analyzed in both studies, while total soil protein concentrations related to glomalin, both total and easily extractable, and mycorrhizal colonization in the 0-10 cm layer were measured only for the study at different depths. The results indicate that higher diversity and density of species and spores at different depths do not directly correlate with coffee productivity. However, the high concentration of easily extractable glomalin-related soil protein (EE-GRSP) at all depths and total glomalin (T-GRSP) in the 0-20 cm layer showed a relationship with higher productivity, along with greater AMF colonization in that area. There were species exclusively found at depths below 20 cm, indicating specific richness in these deeper soil layers. The change from forest to coffee plantations had a significant impact on the AMF community, both in the soil and litter, resulting in a decrease in spore density and species diversity. Seasonality, especially the dry season, favored an increase in spores in the coffee plots, both in the soil and litter, but had no significant impact on the soil and litter in the forest.

Keywords: Microbial ecology; Microbiological soil quality; Glomeromycota.

RESUMO GERAL

O objetivo deste estudo foi relacionar a produtividade cafeeira com a densidade e diversidade dos FMA nativos em diferentes profundidades do solo, assim como verificar o efeito da mudança do uso da terra (de Mata para cafezais) nas comunidades micorrízicas presentes no solo e na serrapilheira. Em relação às diferentes profundidades (0-20, 20-40, 40-60 cm), as amostras de solo foram coletadas em dois talhões (com maior e menor produtividade, mas com mesmo manejo, tipo de solo, espaçamento e variedade). Já em relação à comparação de mata e café, foram realizadas coletas de solo e serrapilheira em transectos situados em 4 talhões de café e 4 fragmentos de mata em diferentes sazonalidades (seca e úmida). Foram analisados parâmetros como fertilidade do solo, densidade de esporos, identificação morfológica, riqueza de espécies e número de Hill nos dois estudos, enquanto as concentrações de proteína total do solo relacionada à glomalina, tanto total quanto facilmente extraível, e a colonização micorrízica na camada 0-10 cm foram realizadas apenas para o estudo em diferentes profundidades. Os resultados indicam que a maior diversidade e densidade de espécies e esporos em diferentes profundidades não se correlacionam diretamente com a produtividade do café. No entanto, a elevada concentração de proteína do solo relacionada à glomalina facilmente extraível (EE-GRSP) em todas as profundidades e à glomalina total (T-GRSP) na camada de 0-20 cm mostraram relação com a maior produtividade, juntamente com a maior colonização de FMA nessa área. Houve espécies que foram exclusivamente encontradas em profundidades abaixo de 20 cm, indicando uma riqueza específica nessas camadas mais profundas do solo. A mudança da mata para plantações de café teve um impacto significativo na comunidade de FMA, no solo e na serrapilheira, resultando na diminuição da densidade do número de esporos e diversidade de espécies. A sazonalidade, especialmente a época seca, favoreceu o aumento de esporos nos talhões de café, tanto no solo quanto na serrapilheira, mas não houve impacto significativo no solo e na serrapilheira da mata.

Palavras chaves: Ecologia microbiana; Qualidade microbiológica do solo; Glomeromycota.

INDICADORES DE IMPACTO

O estudo sobre os impactos da conversão da Mata Atlântica em plantações de café no município de Santo Antônio do Amparo, Minas Gerais, revelou resultados significativos em termos de biodiversidade e sustentabilidade agrícola, com potenciais impactos econômicos, sociais e ambientais para a região. A investigação focou na relação entre a densidade e diversidade de fungos micorrízicos arbusculares (FMA) e a produtividade cafeeira, com análises detalhadas dos fungos micorrízicos em diferentes profundidades do solo e da serrapilheira, além de considerar a sazonalidade. A conversão de áreas nativas para o cultivo de café resultou em uma diminuição da densidade de esporos e da diversidade de FMA, afetando diretamente a saúde do solo e, potencialmente, a sustentabilidade a longo prazo das plantações. Em termos tecnológicos, a pesquisa evidenciou a importância da glomalina, uma proteína do solo, para a produtividade cafeeira, sugerindo que práticas agrícolas que promovem a colonização micorrízica podem melhorar a eficiência produtiva e reduzir a necessidade de insumos químicos. Esses achados têm potencial para influenciar políticas agrícolas e práticas de manejo que promovam a conservação da biodiversidade do solo, alinhando-se aos Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS) da ONU, particularmente aos ODS 2 (Fome Zero e Agricultura Sustentável), e ODS 15 (Vida Terrestre). A pesquisa demonstra caráter extensionista ao envolver diretamente produtores locais e estudantes, promovendo uma transferência de conhecimento que beneficia tanto a comunidade acadêmica quanto os agricultores, com impactos que podem ser ampliados em outras regiões cafeeiras do Brasil. Em suma, este trabalho oferece uma visão abrangente dos impactos da conversão de mata para agricultura sobre a comunidade de fungos micorrízicos arbusculares e a produtividade, contribuindo para o desenvolvimento de práticas agrícolas mais sustentáveis e a preservação dos recursos naturais em áreas de grande importância ecológica.

IMPACT INDICATORS

The study on the impacts of converting the Atlantic Forest into coffee plantations in the municipality of Santo Antônio do Amparo, Minas Gerais, revealed significant results in terms of biodiversity and agricultural sustainability, with potential economic, social, and environmental impacts for the region. The research focused on the relationship between the density and diversity of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) and coffee productivity, with detailed analyses of mycorrhizal fungi at different soil depths and in litter, while also considering seasonality. The conversion of native areas into coffee cultivation resulted in a decrease in spore density and AMF diversity, directly affecting soil health and potentially the long-term sustainability of the plantations. Technologically, the research highlighted the importance of glomalin, a soil protein, for coffee productivity, suggesting that agricultural practices promoting mycorrhizal colonization can enhance productive efficiency and reduce the need for chemical inputs. These findings have the potential to influence agricultural policies and management practices that promote soil biodiversity conservation, aligning with the United Nations' Sustainable Development Goals (SDGs), particularly SDG 2 (Zero Hunger and Sustainable Agriculture), and SDG 15 (Life on Land). The research demonstrates an extensionist character by directly involving local producers and students, promoting a knowledge transfer that benefits both the academic community and farmers, with impacts that can be expanded to other coffee-growing regions in Brazil. In summary, this work provides a comprehensive view of the impacts of forest-to-agriculture conversion on the arbuscular mycorrhizal fungi community and productivity, contributing to the development of more sustainable agricultural practices and the preservation of natural resources in areas of great ecological importance.

SUMÁRIO

PRIMEIRA PARTE – INTRODUÇÃO E REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	10
1. INTRODUÇÃO GERAL	10
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	11
2.1. Fungos Micorrízicos Arbusculares.....	11
2.2. Diversidade de FMA	13
2.3. Cultura do Café e FMA	15
2.4. Aspectos da Cultura do Café	17
2.5. Relação entre FMA e Produtividade do Café.....	19
REFERÊNCIAS	21
SEGUNDA PARTE – ARTIGOS	28
ARTIGO I – Communities of Mycorrhizal Fungi at Different Soil Depths in Coffee Plots and Their Relationship with Edaphic Attributes and Productivity	28
Materials and Methods	32
Results	37
Discussion.....	50
Conclusions	54
References	55
Material Suplementar – Artigo I.....	60
ARTIGO II – Diversidade de fungos micorrízicos arbusculares em serrapilheira e solo de talhões de café e mata adjacente no domínio Mata Atlântica.....	67
1. Introdução.....	69
2. Material e Métodos.....	70
2.1 Caracterização e amostragem das áreas do estudo.....	70
2.2 Análises Físicas e Químicas.....	72
2.3 Análises Microbiológicas.....	73
2.4 Análise estatística.....	74
3. Resultados	75
3.1 Atributos químicos e físicos do solo	75
3.2 Densidade, componentes da diversidade e abundância relativa de FMA	77
4. Discussão.....	86
5. Conclusão.....	90
6. Referências.....	90
Material Suplementar – Artigo II	96

PRIMEIRA PARTE – INTRODUÇÃO E REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1. INTRODUÇÃO GERAL

A simbiose entre os fungos micorrízicos arbusculares (FMA) e as raízes das plantas desempenha um papel crucial nos ecossistemas terrestres, sendo reconhecida como uma das simbioses mais importantes para a sustentabilidade dos biomas. Os FMA são biotróficos obrigatórios, sendo, portanto, dependentes das raízes metabolicamente ativas para completar seu ciclo de vida (Siqueira et al., 1985). Esses microrganismos exercem uma série de funções vitais, incluindo a ciclagem de nutrientes, a absorção de água e nutrientes pelas plantas, e a proteção contra patógenos e elementos potencialmente tóxicos, conferindo às plantas maior capacidade adaptativa em diferentes ambientes (BETHLENFALVAY; LINDERMAN, 1992; SMITH; READ, 2010). No contexto da produção agrícola brasileira, onde a cafeicultura tem grande importância econômica (CONAB, 2021), a compreensão da interação entre os fungos micorrízicos arbusculares (FMA) e o cafeeiro é crucial para promover sistemas de produção mais sustentáveis e aumentar a produtividade (COSTA, 2020; SILVA; CORTEZ, 1998).

Pesquisas anteriores destacaram o potencial da inoculação de espécies selecionadas de FMA para aumentar a produtividade do café (SAGGIN JÚNIOR; SIQUEIRA, 1996), principalmente nos primeiros anos e com reduzida eficácia a longo prazo devido à presença de FMA nativos no ambiente, que podem suprimir o efeito da inoculação de espécies isoladas (SIQUEIRA et al., 1993, 1998). Nesse sentido, compreender não apenas a dinâmica da interação entre o cafeeiro e os FMA, mas também os fatores que influenciam essa interação, como a diversidade e distribuição dos FMA em diferentes profundidades do solo e na serrapilheira, torna-se fundamental, uma vez que a distribuição da diversidade de FMAs pode variar conforme a profundidade do solo, havendo espécies com maior preferência por camadas mais superficiais ao passo que outras vão ser observadas em camadas mais profundas (SHUKLA; ANURADHA, 2013) como já observado em café (MULETA et al., 2008).

Destaca-se ainda que estudos recentes observaram uma correlação positiva entre a maior produtividade de café e uma maior biomassa microbiana, parte significativa da qual é composta por FMA, sugerindo que esses microrganismos podem influenciar positivamente a produtividade do café (DA SILVA ARAGÃO et al., 2020). No entanto,

não existem informações sobre como a distribuição e diversidade dos FMA variam em talhões de maior e menor produtividade em diferentes profundidades.

O impacto da mudança do uso da terra sobre os FMA na serrapilheira pode ser relevante, uma vez que a remoção da cobertura florestal reduz a disponibilidade de substratos lábeis do solo, o que pode alterar a proporção de grupos de microrganismos no solo como observado por Carvalho et al. (2016) ao avaliar o uso da terra, na profundidade 0-10 cm entre floresta e pastagem, destacando que a proporção de Proteobactérias pode ser reduzida em áreas agricultáveis, enquanto o filo Acidobactérias pode aumentar em áreas agrícolas em relação à floresta. Adicionalmente, os fungos micorrízicos arbusculares (FMA) na serrapilheira também podem revelar espécies ainda desconhecidas ou negligenciadas quando avaliamos apenas o solo na profundidade padrão de 0-10 ou 0-20 cm (JOBIM et al., 2019; KEMMELMEIER et al., 2022). Assim, é importante a avaliação da serrapilheira dos FMA em áreas de cultivo de café e em áreas de mata adjacente. Portanto, esta pesquisa visa não apenas avaliar a abundância e diversidade de FMA no solo em profundidade em talhões de menor e maior produtividade com mesmo tipo de solo, variedade, ano de plantio e espaçamento, mas também comparar talhões de cultivo de café com fragmentos de Mata Atlântica adjacentes. Além disso, será considerada também a relação com fatores como sazonalidade e atributos físico-químicos do solo.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Fungos Micorrízicos Arbusculares

A associação entre fungos micorrízicos arbusculares (FMA) e raízes de plantas constitui uma das simbioses mais importantes nos ecossistemas terrestres (READ, 1992). Há a hipótese de que os FMA desempenharam um papel crucial na adaptação das plantas dos ambientes aquáticos para os terrestres, há mais de 400 milhões de anos (TAYLOR et al., 1995; RICH et al., 2021). Uma das principais contribuições dessa adaptação está relacionada à aquisição de nutrientes no solo, já que as plantas não apresentavam um sistema radicular definido e o solo ainda não estava propriamente formado. Rich et al. (2021), ao investigar a transferência de lipídios entre plantas e FMA, evidenciaram a ativação do metabolismo lipídico e a regulação direta por fatores de transcrição específicos. Essa interação simbiótica, que inclui a formação de estruturas de troca de

nutrientes chamadas arbúsculos, é considerada uma característica ancestral que pode ter facilitado a “terrestriation” (processo evolutivo pelo qual organismos originalmente aquáticos se adaptaram para viver em ambientes terrestres) das plantas em ambientes terrestres.

Estima-se que cerca de 80% das plantas existentes realizam simbiose com fungos micorrízicos (OEHL et al., 2011). Estes microrganismos participam da ciclagem de nutrientes, estruturação do solo, transporte de água, nutrição de planta, proteção contra patógenos e elementos potencialmente tóxicos, conferindo às plantas maior capacidade adaptativa em diferentes ecossistemas (BETHLENFALVAY; LINDERMAN, 1992; MOREIRA; SIQUEIRA, 2006; SMITH; READ, 2010). Os FMA apresentam pouca especificidade quanto à planta hospedeira, podendo uma única espécie colonizar raízes de diferentes grupos de plantas. (SIQUEIRA et al., 2002). No entanto, algumas plantas são micotróficas obrigatórias, não crescendo na ausência de FMA (SIQUEIRA; COLOZZI –FILHO, 1986; SIQUEIRA; SAGGIN JÚNIOR, 2001). Adicionalmente, as plantas podem ser mais responsivas a determinadas espécies de FMA, como por exemplo, mudas de café a *Gigaspora margarita* e *Acaulospora laevis* (BHATTACHARYA; BAGYARAJ, 2002).

Os fungos micorrízicos são biotróficos obrigatórios, ou seja, dependem da planta para adquirirem carboidratos e lipídios necessários ao seu desenvolvimento (SIQUEIRA et al., 1985). As principais estruturas que compõem este microrganismo são hifas, esporos, micélios, vesículas e/ou células auxiliares e arbúsculos (BRUNDRETT et al., 1996; OEHL et al., 2011). O arbúsculo é a estrutura que mais caracteriza este grupo de fungo, sendo a responsável por realizar as trocas de nutrientes entre os simbioses dentro da célula vegetal (BONFANTE-FASOLO; VIAN, 1984). No entanto, para identificação morfológica de espécies entre os FMA, o esporo é a estrutura mais utilizada (BONFANTE-FASOLO; VIAN, 1984; OEHL et al., 2011).

Os esporos são denominados como estruturas reprodutivas típicas, assexuadas, que apresentam alta diversidade estrutural, relacionada principalmente com a parede do esporo, que em geral, varia quanto ao número de camadas, aparência, cor, espessura, finalidade e composição química (GOTO; MAIA, 2006; MORTON, 1988). Assim, a identificação dos esporos, também pode ser usada para determinar a riqueza e a diversidade de espécies de FMA presentes em áreas de cultivo ou em biomas naturais. Porém, Öpik; Davison (2016) sugerem o uso simultâneo da abordagem de características morfológicas e moleculares, para melhor elucidar a comunidade de FMA.

2.2. Diversidade de FMA

Os FMA pertencem taxonomicamente ao filo Glomeromycota (SCHÜBLER et al., 2001), e, são de ocorrência generalizada em ecossistemas terrestres onde são selecionados pelas condições ambientais em que o hospedeiro cresce (WINAGRASKI et al., 2019). Em análise, em nível mundial, foi demonstrado que as condições do ambiente local e configurações espaciais determinam a composição das comunidades de FMA (DAVISON et al., 2015). Desta forma, este grupo pode ser influenciado pelo bioma, diversidade de plantas, monocultura, pH do solo, tipo de solo, uso da terra, profundidade, temperatura, precipitação, altitude, latitude, fenologia e fertilidade (DAVISON et al., 2015; MELLO et al., 2012; PRATES JÚNIOR et al., 2019; SCHALAMUK et al., 2006; SIQUEIRA, 1996; STÜRMER; KEMMELMEIER, 2021). Assim, estudos sobre padrões de distribuição destes microrganismos, considerando estes fatores, podem elucidar melhor sua participação na produtividade de ecossistemas agrícolas (STÜRMER; SIQUEIRA, 2008).

Existem cerca de 355 espécies de FMA já descritas de Glomeromycota, tanto morfologicamente quanto com base em características moleculares, na Coleção Internacional de Glomeromycota (AMF PHYLOGENY, 2024). Estas estão distribuídas entre as ordens Diversisporales, Glomerales, Archaeosporales e Paraglomerales, apresentando de 39 a 49 gêneros distintos a depender do sistema de classificação (WIJAYAWARDENE ET AL., 2020).

Em uma revisão sistemática com ênfase na distribuição dos FMA nos Neotrópicos, reino biogeográfico que inclui 11 dos 14 biomas terrestres reconhecidos e localizados na América do Sul e parte da América Central, Stürmer; Kemmelmeier (2021) evidenciaram que 221 espécies de FMA foram registradas nesta região, representando 69% da diversidade total do filo Glomeromycota. Os autores também relatam que 63 espécies foram detectadas em apenas um bioma, ao passo que as espécies *Claroideoglomus etunicatum*, *Acaulospora scrobiculata*, *Acaulospora mellea* e *Ambispora leptoticha* foram as que mais frequentemente ocorreram nos Neotrópicos. No entanto, destaca-se que estas espécies também foram reportadas em outros continentes, sendo, portanto, espécies cosmopolitas (STÜRMER ET AL., 2018).

No Brasil, uma compilação da diversidade de fungos micorrízicos em ecossistemas florestais, usando como critérios de seleção as palavras-chave "forest,"

"diversity," "mycorrhizal," e "Brazil," resultou na identificação de 160 espécies de FMA a partir de 74 artigos considerados na revisão (Winagraski et al., 2019). Esse número certamente subestima a diversidade de espécies que podem ser encontradas nos biomas brasileiros. A Floresta Amazônica, a Mata Atlântica e o Cerrado apresentaram a maior diversidade; no entanto, os autores destacam que os estudos com FMA ainda são incipientes na Floresta Amazônica (1 estudo), no Pantanal (1 estudo), no Pampa (1 estudo) e no Cerrado (7 estudos), citando poucos trabalhos publicados sobre a diversidade de FMA. Em contraste, a Mata Atlântica e a Caatinga concentraram 74% dos estudos (WINAGRASKI et al., 2019). No mesmo trabalho, os autores identificaram cinco espécies (*Acaulospora scrobiculata*, *Acaulospora foveata*, *Acaulospora mellea*, *Clareoideglomus etunicatum* e *Glomus macrocarpum*) consideradas onipresentes e adaptadas a diferentes manejos, enquanto cerca de 20 espécies foram consideradas raras, encontradas apenas em um bioma.

Além dos poucos estudos em diversidade de FMA realizados em alguns biomas brasileiros, a abundância e a diversidade destes fungos podem diferir conforme o método adotado e a profundidade de amostragem. Souza et al. (2010) apontam que a falta de padronização quanto ao período de coleta (estação seca e chuvosa) pode ter efeito sobre o número de esporos recuperados das amostras de solo. Este efeito foi mostrado por Pagano et al. (2009), em trabalho de campo com monocultura e consórcio, que reportaram que o número médio de esporos foi significativamente maior na estação chuvosa em comparação com a estação seca. Por outro lado, Jobim et al. (2019) identificaram uma nova espécie de FMA no Brasil ao investigar a composição e distribuição de espécies de FMA em função da profundidade do solo em um fragmento florestal da Mata Atlântica em Sete Lagoas, Minas Gerais. O trabalho base para a descoberta da nova espécie, realizado por Jobim (2015), observou que algumas espécies apresentaram ocorrência somente em zonas superficiais ou de maior profundidade, enquanto outras foram amplamente distribuídas. Assim, a amostragem de zonas mais profundas do solo nos estudos de diversidade de FMA permite acessar uma diversidade negligenciada (JOBIM, 2015; JOBIM et al., 2019).

Em geral, a amostragem de diversidade e riqueza de FMA no solo é realizada com a coleta de amostras na camada de 0-20 cm (PAGANO et al., 2009; POUYU-ROJAS et al., 2006; PRATES JÚNIOR et al., 2019; TEIXEIRA et al., 2017). No entanto, alguns autores trabalham apenas com o solo rizosférico ou na camada menos profunda de 0-10 cm (COSTA et al., 2016; FERNANDES et al., 2016)

Outro aspecto importante é análise da riqueza de espécies de FMA tanto em solos nativos como cultivados. A primeira, por se tratar de áreas com potencial reservatório de espécies ainda não catalogadas, permite a detecção de padrões de distribuição natural destes microrganismos, que podem contribuir com estratégias de conservação da biodiversidade e desenvolvimento mais sustentável (JOBIM, 2015). Por outro lado, em solos cultivados o maior interesse é identificar como a abundância e a diversidade de FMA afeta a produtividade e quais os efeitos da mudança de uso (mata para a agricultura) afetou a diversidade.

Em Minas Gerais, muitos trabalhos de pesquisa foram e ainda são desenvolvidos com ênfase na cultura do café, uma vez que o estado é o maior produtor do país (CONAB, 2023). A contribuição dos FMA para o desenvolvimento de mudas de café é bem documentada no estado, porém trabalhos que relacionam em campo a produtividade dos cafeeiros com os FMA ainda são poucos (SIQUEIRA, 1996; SAGGIN JÚNIOR; SIQUEIRA, 1996; SIQUEIRA et al., 1998). Cogo et al. (2017), em meta-análise sobre FMA na cultura do café, reportaram apenas 3 trabalhos no mundo ((COLOZZI-FILHO et al. (1994) e SIQUEIRA et al. (1993,1998)) com resultados positivos de produtividade do café associada aos FMA. Todos os trabalhos foram realizados no estado de Minas Gerais.

2.3. Cultura do Café e FMA

A ocorrência de FMA em café (*Coffea arabica* L.) foi observada pela primeira vez na ilha de Java em vasos mantidos sob condições de campo (JANSE, 1897). Mas somente cerca de 80 anos após esta publicação iniciaram-se os estudos experimentais para demonstrar a importância destes fungos para o cafeeiro (SAGGIN JÚNIOR; SIQUEIRA, 1996). Desde então, trabalhos vêm evidenciando a contribuição deste grupo de fungos para a cultura do café.

Os efeitos benéficos dos FMA em solos tropicais são atribuídos principalmente ao aumento da nutrição de P no café (SIQUEIRA, 1994). Em um compilado de 20 estudos de micorrização do cafeeiro, Saggin Júnior e Siqueira (1996) observaram que a inoculação de FMA proporcionou um aumento médio de 63% na altura das mudas e cerca de 150% no teor de P nos tecidos das mudas de café.

As mudas de café apresentam alto grau de micotrofismo (dependência da associação micorrízica), além disso, as plantas de café podem apresentar respostas diferentes dependendo da espécie micorrízica inoculada. Colozzi Filho et al. (1994) ao

avaliar a efetividade de diferentes espécies de FMA na formação de mudas e produção de cafeeiro, observaram que inicialmente, na fase de transplântio, todas as espécies de FMA inoculadas foram eficientes em proporcionar maior crescimento das mudas em solo fumigado (desinfestado com brometo de metila). No entanto, em campo, apenas a *Gigaspora margarita* e fungos indígenas foram capazes de aumentar significativamente a produtividade do café. Paralelamente, Lopes et al. (1983) ao avaliar o efeito da inoculação do cafeeiro com diferentes espécies de FMA em solo esterilizado, verificaram que a *Gigaspora margarita* também foi a espécie mais eficiente, mas que a inoculação com *Glomus macrocarpum* não resultou na colonização das raízes do cafeeiro, além disso, a inoculação de *Scutellospora heterogama* proporcionou a colonização das raízes, mas não resultou em incremento no crescimento das plantas.

A colonização micorrízica em cafeeiro é fortemente afetada pelos teores de P disponíveis no solo. Quando a quantidade de P no solo é alta a planta tende a promover uma menor interação micorrízica (SAGGIN JÚNIOR; SIQUEIRA, 1996). Assim, os efeitos nutricionais dos FMA são mais evidenciados em cafeeiros cultivados em solos pobres de P. Saggin Júnior (1992) ao avaliar o efeito da inoculação de FMA e da adubação fosfatada em cafeeiros transplantados em solo de baixa fertilidade em Lavras - MG, com doses crescentes de 0, 20, 40, 80 e 160 g de P_2O_5 /cova, observou que a colonização do cafeeiro no campo 23 meses após o transplântio foi mais alta na menor dose de P_2O_5 . Porém em relação a produtividade, as plantas de café inoculadas com os isolados de *G. etunicatum* (originados de cafeeiro das cidades mineiras de Patrocínio e Varginha) produziram mais que a testemunha não inoculada na dose de 80g de P_2O_5 /cova, sendo que nesta dose de P se atingiu 82% da produtividade máxima obtida com 160g de P_2O_5 , representando assim uma economia considerável deste nutriente.

O efeito do P na micorrização e produtividade do café também foi investigada no estudo de Siqueira et al. (1998) no Cerrado em que investigou plantas pré-colonizadas com diferentes espécies de fungos micorrízicos arbusculares (*Glomus clarum*, *Gigaspora margarita* e *Glomus etunicatum*) em solo de baixa fertilidade com doses crescentes de P no plantio. Após 26 meses, a colonização micorrízica foi alta, mas não diferiu significativamente da colonização das mudas não inoculadas com fungos nativos. No entanto, a colonização micorrízica reduziu linearmente com o aumento das doses de P, assim como o número de esporos.

Os autores concluíram que a pré-colonização foi eficaz em aumentar os rendimentos na primeira colheita, estimando um incremento de 254 kg/ha devido ao efeito

micorrízico. Contudo, nas colheitas subsequentes, os resultados foram menores e inconsistentes, indicando que a resposta à pré-colonização com fungos micorrízicos pode variar ao longo do tempo e com diferentes níveis de aplicação de P. Esta inconsistência pode ter sido provocada pela presença no ambiente de FMA nativos eficientes para o cafeeiro, que acabam suprimindo os efeitos da inoculação de espécies isoladas de FMA. Um dos grandes desafios da inoculação de microrganismos no solo é de sua eficiência superar e competir com as populações nativas da microbiota do solo (RAY et al., 2020).

Desta forma, estudos mais recentes com FMA em cafeeiros focam na abundância, diversidade e colonização das comunidades nativas e suas interações e contribuições para a cultura (COGO, 2016; ARDITO et al., 2017; COGO et al., 2020; PRATES JÚNIOR et al., 2019; PRATES et al., 2021). Cogo (2016) ao avaliar o efeito de doses de gesso na comunidade de FMA em diferentes profundidades em cafeeiro do Cerrado mineiro, observou correlação positiva da colonização radicular na profundidade de 0,40 – 0,60 m com a produtividade e carbono orgânico do solo. No entanto, a produtividade do cafeeiro reduziu na taxa 56 t ha⁻¹ de gesso, mesmo apresentando teores elevados de P nos grãos e folhas, o que sugere que a comunidade micorrízica afetou de forma negativa a produtividade (COGO et al., 2020).

Além disso, as condições e manejo de cultivos, também podem influenciar os efeitos e interações entre os FMA sobre a produtividade da cultura do café, já que os sistemas de cultivo podem determinar o potencial produtivo da planta. Prates Júnior et al. (2019) em sistema consorciado de macaúba e café verificaram que a produtividade do cafeeiro foi mais relacionada com o sistema de cultivo do que com a comunidade de FMA. Este resultado tem forte relação com alguns aspectos da cultura do café, uma vez que originalmente seu cultivo é feito em consórcio com outras árvores, a fim de garantir o sombreamento e um clima mais ameno.

2.4. Aspectos da Cultura do Café

O Brasil iniciou a produção de café no século 18 no estado do Pará, mais tarde o cultivo deslocou-se para o Sudeste do país, para o Rio de Janeiro, depois para São Paulo e Paraná e, finalmente, o estado de Minas Gerais que atualmente é responsável por 50% da produção nacional da cultura (VOLSI et al., 2019). O estado também se destaca pelo cultivo mais moderno e de alta produtividade no bioma de Cerrado (ORTEGA; JESUS, 2011; VOLSI et al., 2019). Tal fato se deve ao uso de máquinas e o cultivo em sol pleno.

A espécie *Coffea arabica* representa cerca de 75% de todo o café cultivado em Minas Gerais (VOLSI et al., 2019). Esta espécie é nativa de regiões de elevada altitude no Sul da Etiópia, sendo encontrada naturalmente sob sombra em florestas tropicais. Por esta razão, muitos países cultivam o café sob sombra, no entanto, no Brasil devido a necessidade de se uniformizar a maturação dos frutos para que a colheita fosse uniformizada, assim como cultivares cada vez mais adaptadas o cultivo é predominantemente em sol pleno (LUNZ, 2006). Esta característica fez com que o café cultivado a pleno sol apresentasse maior bienalidade (variação de produtividade entre safras sucessivas) (BERNARDES; KHATOUNIAN, 2013; LUNZ, 2006). Isto ocorre devido à alta intensidade luminosa, que faz com que a planta produza um elevado número de flores, consequentemente exige mais fotoassimilados e nutriente para um número excessivo de frutos, isto leva a redução do crescimento dos ramos produtivos ou a seca destes, e em caso mais graves pode provocar a seca da planta inteira, com isso, uma safra tende a ter alta produtividade e em outra menor, pois a planta ainda não se recuperou (BERNARDES; KHATOUNIAN, 2013). O cultivo em sol pleno também afeta a longevidade da cultura (LUNZ, 2006).

Quanto à precipitação, esta cultura perene cresce em uma ampla variação, sendo tolerante a um déficit hídrico de até 150 mm, principalmente quando isso ocorre na fase de floração (RENA; MAESTRI, 1986). No entanto, a precipitação tem grande influência sobre a produtividade, interferindo em todo estágio fenológico da planta, principalmente na floração, frutificação e amadurecimento, sendo que a faixa de precipitação ótima para a cultura é 1500 a 2000 mm /ano (CANNELL et al., 1985; NUNES et al., 2010). Chuvas abundantes durante o ano podem prejudicar a produtividade da cultura, sendo necessário um período de seca quando cultivado em regiões tropicais. Além disso, a ocorrência de geada, mesmo que esporádica, também pode limitar muito a produtividade (CAMARGO, 1985; MAESTRI; BARROS, 1977).

O café apresenta seis fases fenológicas distintas em seu ciclo, sendo duas vegetativas e quatro reprodutivas. A primeira fase se caracteriza pela vegetação e formação das gemas florais (1º ano, de setembro a março), a segunda fase constitui a indução e maturação das gemas (1º ano, de abril a agosto). O ciclo reprodutivo começa com a florada na terceira fase (2º ano, de setembro a dezembro), granação dos frutos na quarta fase (2º ano, de janeiro a março), maturação dos frutos na quinta fase (2º ano, de abril a junho), e por último, na sexta fase (2º ano, de julho a agosto), o repouso e senescência dos ramos (CAMARGO; CAMARGO, 2001). Para a conclusão de todas as

fases o café demora cerca de 2 anos para completar o seu ciclo, assim dentro de um mesmo ano cronológico, uma planta apresentará duas fases distintas, uma vegetativa e outra reprodutiva (CAMARGO; CAMARGO, 2001).

Quanto a fertilidade, esta planta perene necessita inicialmente de maiores quantidades de P, pois este nutriente atua principalmente na estruturação das raízes e lenho, é componente da adenosina trifosfato (ATP), molécula responsável pelo armazenamento e fornecimento de energia nas células, é um elemento estrutural em ácidos nucleicos e fosfolipídios e participa da ativação de intermediários metabólicos. Já quando adulta, a necessidade de nitrogênio (N) e potássio (K) passa a ser maior em relação a P (BUSCHER, 2006; MESQUITA et al., 2016).

O sistema radicular do café pode apresentar cerca de 80% de suas raízes nos primeiros 30 cm de profundidade, as chamadas raízes superficiais ou radicelas. Em geral, estas alcançam um raio de 2 a 2,5 metros partir da base da planta. Além das radicelas, o cafeeiro possui raízes pivotantes, sendo uma raiz central, que chega a atingir 50 a 60 centímetros de profundidade em uma planta adulta (DE OLIVEIRA et al., 2012).

Com isso, a maior parte das análises da interação de FMA em cafeeiros acabam sendo feitas na região das raízes superficiais. Porém, a relação da interação micorrízica pode ser limitada pelo excesso de adubação realizada nesta região.

2.5. Relação entre FMA e Produtividade do Café

Evidências dos efeitos de fungos micorrízicos sobre variáveis de crescimento, nutricionais e de danos causados por patógenos em cafeeiros são conhecidas na literatura, principalmente em trabalhos realizados em casa de vegetação (BAON et al., 1988; BHATTACHARYA; BAGYARAJ, 2002; SAGGIN JÚNIOR; SIQUEIRA, 1996; VALLEJOS-TORRES et al., 2021). Porém, o efeito destes fungos em condições de campo sobre a produtividade cafeeira ainda requer maiores estudos, pois vários aspectos do solo e do ambiente podem interferir na comunidade destes fungos, assim como a própria planta e as relações entre ambos (COGO et al., 2017; DE BEENHOUWER et al., 2015; SAGGIN JÚNIOR; SIQUEIRA, 1996).

Dessa forma, para o desenvolvimento deste estudo foi realizada uma pesquisa inicial com diferentes bases de dados (Embase, Scopus, Web of Science e Google Scholar). Para isso, foram escolhidas palavras chaves para pesquisar estudos realizados

no estado de Minas Gerais ('coffee' OR 'coffea arabica') AND ('arbuscular mycorrhiza' OR 'root colonization' OR 'symbiosis' OR 'symbiosis') AND 'productivity' AND 'minas gerais') e no mundo (arbuscular mycorrhiza AND coffee AND productivity OR yield). Os critérios de seletividade foram os trabalhos que apresentassem resultados de produtividade e colonização e/ou inoculação e/ou diversidade e/ou contagem de esporos de FMA, assim como ter sido executado em campo.

A pesquisa resultou em apenas 6 artigos, nos quais 5 deles foram executados no estado de Minas Gerais: COGO et al., 2020; COLOZZI FILHO et al., 1994; DARAS et al., 2015; PRATES et al., 2021; SIQUEIRA et al., 1998, sendo um publicado apenas em revista impressa (SIQUEIRA et al., 1993).

O estudo de Colozzi Filho et al. (1994) abordou a pré-inoculação, investigando durante três anos a produtividade de cinco tratamentos com inoculação de fungos micorrízicos arbusculares (FMA) no campo. Eles reportaram ganhos em produtividade, mas não verificaram a persistência desse efeito nas safras subsequentes. Observou-se também que as mudas não inoculadas apresentaram alta colonização micorrízica.

Cogo (2016), em sua tese, avaliou o efeito de doses de gesso nas comunidades de FMA e a distribuição em profundidades em duas estações do ano. Ele encontrou correlação entre colonização micorrízica e produtividade apenas na profundidade de 40 a 60 cm. No entanto, a colonização foi superior na camada de 0-20 cm com o tratamento de 56 t ha⁻¹ de gesso. Em relação aos esporos, Cogo et al. (2020) verificaram que a densidade de esporos não variou entre os tratamentos, mas diminuiu na estação seca.

O mais recente trabalho encontrado na pesquisa foi a avaliação da comunidade de FMA em sistema agroflorestal de café e Palma de Macaúba, localizado no bioma da Mata Atlântica no município de Viçosa – Minas Gerais (PRATES et al., 2021). Os autores identificaram mudança na comunidade micorrízica provocada principalmente pelo microclima, porém observaram que no ano de maior produtividade do café, o cultivado sob sombra de macaubeiras foi o que apresentou maior produtividade.

Os trabalhos apresentam outros tratamentos que interferem na comunidade micorrízica, como doses de P, gesso, inoculação e diferentes microclima, que dificultam associar a produtividade dos cafezais à atuação específica dos FMA (COGO et al., 2020; PRATES et al., 2020; SIQUEIRA et al., 1998). Outros desafios relacionados às pesquisas de cafeeiros em campo são relacionados ao fato de que a inoculação tende a perder seu efeito sobre a produtividade após o primeiro ano de cultivo e que há uma dificuldade de adquirir inóculos em quantidade suficiente para inoculação de áreas maiores (SIQUEIRA

et al., 1998). Adicionalmente, os FMA são encontrados naturalmente nos solos, e o cafeeiro é facilmente colonizado por várias espécies destes fungos. Assim, até o momento, há uma evidente escassez de trabalhos desenvolvidos em condições de campo que tenham controle da homogeneidade de variáveis que influenciem a produtividade, como adubação, clima, variedade, idade e solo, para se destacar e elucidar a real participação dos FMA na produção cafeeira.

No entanto, da Silva Aragão et al. (2020) observaram uma relação positiva entre a produtividade cafeeira com o carbono da biomassa microbiana, que é em boa parte constituída por FMA. Desta forma, este grupo de microrganismos nativos pode estar diretamente associado ao melhor rendimento da cultura do café em talhões com mesmo tipo de solo, época de plantio e cultivar, mas com diferença quanto a produtividade.

REFERÊNCIAS

AMF PHYLOGENY. Disponível em: <<http://www.amf-phylogeny.com>>. Acesso em: 25 maio 2024.

ARDITO, A. C. d. S.; SAGGIN JUNIOR, O. J.; ORTEGA FORS, R.; COSTA, R. S. C. d.; SILVA, E. M. R. d. Arbuscular mycorrhizal fungi selection for *Coffea canephora* pierre ex a. Froehner clonal cultivar conilon ‘BRS Ouro Preto’. **Coffee Science - ISSN 1984-3909**, v.12, n.4, p.486 - 497, 2017. URL: <https://coffeescience.ufla.br/index.php/Coffeescience/article/view/1352>

BAON, J. B.; WIRYADIPUTRA, S.; SULISTYOWATI, E. Infection of *Pratylenchus coffeae* on coffee plant as affected by mycorrhizae inoculation. Pelita Perkebunan (Indonesia), v. 4, n. 1, 1988.

BERNARDES, Marcos Silveira; KHATOUNIAN, Carlos Armenio. Cafeicultura a pleno sol supera o vantajoso sistema agroflorestal. Revista Visão Agrícola, n. 12, 2013.

BETHLENFALVAY, Gabor J.; LINDERMAN, R. G. Mycorrhizae in sustainable agriculture. Madison: American Society of Agronomy, 1992. DOI:10.2134/asaspecpub54

BHATTACHARYA, S.; BAGYARAJ, D. J. Effectiveness of arbuscular mycorrhizal fungal isolates on arabica coffee (*Coffea arabica* L.). Biological agriculture & horticulture, v. 20, n. 2, p. 125-131, 2002.

BONFANTE-FASOLO, Paola; VIAN, Brigitte. Wall texture in the spore of a vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus. **Protoplasma**, v. 120, p. 51-60, 1984.

BRUNDRETT, Mark et al. Working with mycorrhizas in forestry and agriculture. Canberra: Australian Centre for International Agricultural Research, 1996.

BUCHER, Marcel. Functional biology of plant phosphate uptake at root and mycorrhiza interfaces. **New phytologist**, v. 173, n. 1, p. 11-26, 2007.

CAMARGO, AP de. O clima e a cafeicultura no Brasil. Informe Agropecuário, v. 11, n. 126, p. 13-26, 1985.

CAMARGO, Ângelo Paes de; CAMARGO, Marcelo Bento Paes de. Definição e esquematização das fases fenológicas do cafeeiro arábica nas condições tropicais do Brasil. **Bragantia**, v. 60, p. 65-68, 2001.

CANNELL, M.G.R., CLIFFORD, M.N., WILLSON, K.C. Coffee: botany, biochemistry and production of beans and beverage. **Physiol.** coffee Crop. Croom Helm Ltd, London 108–134, 1985.

CONAB. Acompanhamento da safra brasileira – Café, 3º levantamento 2021 .Disponível em: < <https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/cafe> >. Acesso em: 20 novembro de 2021

CARVALHO, Teotonio Soares et al. Land use intensification in the humid tropics increased both alpha and beta diversity of soil bacteria. Ecology, v. 97, n. 10, p. 2760-2771, 2016. <https://doi.org/10.1002/ecy.1513>

COGO, F.D. Doses de gesso e distribuição em profundidade no solo de fungos micorrízicos arbusculares e glomalina em cafeeiro no cerrado. 2016.

COGO, Franciane Diniz et al. Arbuscular mycorrhiza in *Coffea arabica* L.: review and meta-analyses. 2017. <http://hdl.handle.net/123456789/9133>

COGO, Franciane Diniz et al. High rates of agricultural gypsum affect the arbuscular mycorrhiza fungal community and coffee yield. *Bragantia*, v. 79, p. 612-622, 2020. <https://doi.org/10.1590/1678-4499.20200014>

COLOZZI FILHO, A., et al. Efectividade de diferentes fungos micorrízicos arbusculares na formacao de mudas, crescimento pós-transplante e producao do cafeeiro. *Pesqui. Agropecu. Bras.* v. 29 p. 1397-1406,1994.

COSTA, Hesmael Antonio Orlandi et al. Species richness and root colonization of arbuscular mycorrhizal fungi in *Syngonanthus elegans*, an endemic and threatened species from the Cerrado domain in Brazil. **Ciencia e Agrotecnologia**, v. 40, n. 3, p. 326-336, 2016.

COSTA, Bruna De Ribeiro. Brazilian specialty coffee scenario. In: *Coffee consumption and industry strategies in Brazil*. Woodhead Publishing, 2020. p. 51-64. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814721-4.00003-2>

DARAS, Usman et al. Effect of mycorrhiza and NPKMg fertilizers on growth and production of Arabica coffee. *Journal of Industrial and Beverage Crops*, v. 2, n. 2, p. 91-98, 2015. DOI: 10.21082/jtidp.v2n2.2015.p91-98

DAVISON, J. et al. Global assessment of arbuscular mycorrhizal fungus diversity reveals very low endemism. *Science*, v. 349, n. 6251, p. 970-973, 2015. DOI: 10.1126/science.aab1161

DA SILVA ARAGAO, Osnar Obede et al. Microbiological indicators of soil quality are related to greater coffee yield in the Brazilian Cerrado region. *Ecological Indicators*, v. 113, p. 106205, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2020.106205>

DE BEENHOUWER, Matthias et al. Changing soil characteristics alter the arbuscular mycorrhizal fungi communities of Arabica coffee (*Coffea arabica*) in Ethiopia across a management intensity gradient. *Soil Biology and Biochemistry*, v. 91, p. 133-139, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2015.08.037>

DE OLIVEIRA, Itamar Pereira; OLIVEIRA, Luana Carvalho; DE MO, Camila Stéffane Fernandes Teixeira. Cultura de café: histórico, classificação botânica e fases de crescimento. *Revista Eletrônica Faculdade Montes Belos*, v. 5, n. 4, 2012.

FERNANDES, Rafaela Alves et al. Occurrence and species richness of mycorrhizal fungi in soil under different land use. *Canadian Journal of Soil Science*, v. 96, n. 3, p. 271-280, 2016. <https://doi.org/10.1139/cjss-2015-0011>

GOTO, Bruno Tomio; MAIA, Leonor Costa. Glomerospores: a new denomination for the

spores of Glomeromycota, a group molecularly distinct from the Zygomycota. *Mycotaxon*, v. 96, n. 4, p. 129-132, 2006.

JM, JANSE. Les endophytes radicaux de quelques plantes javanaises. *Ann Jardin Bot Buitenzorg*, v. 14, p. 53-201, 1897.

JOBIM, Khadija et al. New sporocarpic taxa in the phylum Glomeromycota: *Sclerocarpum amazonicum* gen. et sp. nov. in the family Glomeraceae (Glomerales) and *Diversispora sporocarpia* sp. nov. in the Diversisporaceae (Diversisporales). *Mycological Progress*, v. 18, p. 369-384, 2019. DOI:<https://doi.org/10.1007/s11557-018-01462-2>

JOBIM, Khadija. Fungos micorrízicos arbusculares (Glomeromycota) em diferentes níveis de profundidade em fragmentos florestais, Sete Lagoas, MG. 2015. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Rio Grande do Norte.

KEMMELMEIER, Karl et al. Composition and seasonal variation of the arbuscular mycorrhizal fungi spore community in litter, root mat, and soil from a subtropical rain forest. *Mycorrhiza*, v. 32, n. 5, p. 409-423, 2022..<https://doi.org/10.1007/s00572-022-01084-3>

LOPES, E. S. et al. Efeito da inoculação do cafeeiro com diferentes espécies de fungos micorrízicos vesicular-arbusculares. 1983.

LUNZ, Aurenny Maria Pereira. Crescimento e produtividade do cafeeiro sombreado e a pleno sol. 2006.

MAESTRI, M.; BARROS, R.S. Coffee. In: ALVIM, P. de T.; KOZLOWSKI, T.T. (Ed.). *Ecophysiology of tropical crops*. New York: Academic Press, 1977. p.249-278.

MELLO, Catarina Maria Aragão de et al. Diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in an area of Caatinga, PE, Brazil. *Acta Botanica Brasilica*, v. 26, p. 938-943, 2012. <https://doi.org/10.1590/S0102-33062012000400023>

MESQUITA, Carlos Magno de et al. *Manual do café: manejo de cafezais em produção*. Belo Horizonte: Emater-MG, p. 1-52, 2016.

MOREIRA, FM De S.; SIQUEIRA, J. O. *Microbiologia e bioquímica do solo*. Lavras, MG, UFLA, 2006.

NUNES, Fabiana Lataro et al. Modelos agrometeorológicos de estimativa da duração do estágio floração-maturação para três cultivares de café arábica. *Bragantia*, v. 69, p. 1011-1018, 2010. <https://doi.org/10.1590/S0006-87052010000400029>

OEHL, Fritz et al. Advances in Glomeromycota taxonomy and classification. *IMA fungus*, v. 2, p. 191-199, 2011. <https://doi.org/10.5598/ima fungus.2011.02.02.10>

ÖPIK, Maarja; DAVISON, John. Uniting species-and community-oriented approaches to understand arbuscular mycorrhizal fungal diversity. *Fungal Ecology*, v. 24, p. 106-113, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.funeco.2016.07.005>

ORTEGA, Antonio César; JESUS, Clesio Marcelino. Território café do Cerrado: transformações na estrutura produtiva e seus impactos sobre o pessoal ocupado. *Revista de Economia e Sociologia Rural*, v. 49, p. 771-800, 2011. <https://doi.org/10.1590/S0103-20032011000300010>

PAGANO, Marcela C.; SCOTTI, Maria R.; CABELLO, Marta N. Effect of the inoculation and distribution of mycorrhizae in *Plathymenia reticulata* Benth under monoculture and mixed plantation in Brazil. *New Forests*, v. 38, p. 197-214, 2009. <https://doi.org/10.1007/s11056-009-9140-0>

POUYU-ROJAS, Enrique; SIQUEIRA, José Oswaldo; SANTOS, José Geraldo Donizetti. Compatibilidade simbiótica de fungos micorrízicos arbusculares com espécies arbóreas tropicais. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, v. 30, p. 413-424, 2006. <https://doi.org/10.1590/S0100-06832006000300003>

PRATES JÚNIOR, Paulo et al. Agroecological coffee management increases arbuscular mycorrhizal fungi diversity. *PLoS One*, v. 14, n. 1, p. e0209093, 2019. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0209093>

PRATES JÚNIOR, Paulo et al. Structure of AMF community in an agroforestry system of coffee and macauba palm. *Floresta e Ambiente*, v. 28, p. e20210013, 2021. <https://doi.org/10.1590/2179-8087-FLORAM-2021-0013>

RAY, Prasun et al. Microbe to microbiome: a paradigm shift in the application of microorganisms for sustainable agriculture. *Frontiers in Microbiology*, v. 11, p. 622926, 2020. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.622926>

READ, D. J. The Mycorrhizal Mycelium DJ Read. Mycorrhizal functioning: an integrative plant-fungal process, v. 1102, 1992.

RENA, A. B.; MAESTRI, M. Fisiologia do cafeeiro. In: RENA, A. B.; MALAVOLTA, E.; ROCHA, M. & YAMADA, T. (Eds.). *Cultura do Cafeeiro: Fatores que afetam a produtividade*. Piracicaba, POTAFOS. 1986. p 13-86

RICH, Mélanie K. et al. Lipid exchanges drove the evolution of mutualism during plant terrestrialization. *Science*, v. 372, n. 6544, p. 864-868, 2021. DOI: 10.1126/science.abg0929

SAGGIN JUNIOR, O. J.; SIQUEIRA, J. O. Micorrizas arbusculares em cafeeiro. In: SIQUEIRA, J.O. (Ed.). **Avanços em fundamentos e aplicação de micorrizas**. Lavras: Universidade Federal de Lavras/DCS e DCF, 1996. p.203-254.

SAGGIN JÚNIOR, Orivaldo José. Efeito de fungos micorrízicos e adubação fosfatada no crescimento, nutrição e produtividade do cafeeiro (*Coffea arabica* L.). 1992.

SCHALAMUK, S. et al. Fungal spore diversity of arbuscular mycorrhizal fungi associated with spring wheat: effects of tillage. *Mycologia*, v. 98, n. 1, p. 16-22, 2006. <https://doi.org/10.1080/15572536.2006.11832708>

SCHÜBLER, A.; SCHWARZOTT, D.; WALKER, C. A new fungal phylum, the

glomeromycota: Phylogeny and evolution* *dedicated to manfred kluge (technische universität darmstadt) on the occasion of his retirement. **Mycological Research**, v.105, n.12, p.1413-1421, 2001. doi: <https://doi.org/10.1017/S0953756201005196>.

SILVA, Lucas F.; CORTEZ, José G. A qualidade do café no Brasil: histórico e perspectivas. 1998.

SIQUEIRA, J. O. Avanços em fundamentos e aplicação de micorrizas. Universidade de Lavras/DCS e DCF, 1996.

SIQUEIRA, J. O. Micorrizas arbusculares. ARAUJO, RS; HUNGRIA, M. Microorganismos de importancia agricola. Brasilia: EMBRAPA-CNPAF/EMBRAPA-CNPSO/EMBRAPA-SPI, 1994.

SIQUEIRA, J. O. et al. Crescimento de mudas e produção do cafeeiro sob influência de fungos micorrízicos e superfosfato. Revista brasileira de ciência do solo, v. 17, n. 1, p. 53-60, 1993.

SIQUEIRA, José Oswaldo; COLOZZI FILHO, Arnaldo; SAGGIN JUNIOR, Orivaldo José. Efeitos da infecção de plântulas de cafeeiro com quantidades crescentes de esporos do fungo endomicorrízico *Gigaspora margarita*. Pesquisa Agropecuária Brasileira, v. 29, n. 6, p. 875-883, 1994.

SIQUEIRA, J. O.; COLOZZI-FILHO, A. Micorrizas vesículo-arbusculares em mudas de cafeeiro. II. Efeito do fósforo no estabelecimento e funcionamento da simbiose. Revista Brasileira de Ciência do Solo, v. 10, n. 3, p. 207-211, 1986.

SIQUEIRA, José Oswaldo; LAMBAIS, Marcio Rodrigues; STÜRMER, Sidney L. Fungos micorrízicos arbusculares. Biotecnologia ciência & desenvolvimento, n. 25, p. 12-21, 2002.

SIQUEIRA, J. O.; SAGGIN JUNIOR, O. J. Dependency on arbuscular mycorrhizal fungi and responsiveness of some brazilian native woody species. **Mycorrhiza**, v.11, n.5, p.245-255, 2001. doi: 10.1007/s005720100129.

SIQUEIRA, José O. et al. Arbuscular mycorrhizal inoculation and superphosphate application influence plant development and yield of coffee in Brazil. **Mycorrhiza**, v. 7, n. 6, p. 293-300, 1998. <https://doi.org/10.1007/s005720050195>

SIQUEIRA, J. O. et al. Spores, germination, and germ tubes of vesicular–arbuscular mycorrhizal fungi. Canadian Journal of Microbiology, v. 31, n. 11, p. 965-972, 1985.

SMITH, Sally E.; READ, David J. Mycorrhizal symbiosis. Academic press, 2010.

SOUZA, FA de et al. Classificação e taxonomia de fungos micorrízicos arbusculares e sua diversidade e ocorrência no Brasil. Micorrizas, v. 30, p. 15-73, 2010.

STÜRMER, Sidney L.; BEVER, James D.; MORTON, Joseph B. Biogeography of arbuscular mycorrhizal fungi (Glomeromycota): a phylogenetic perspective on species distribution patterns. **Mycorrhiza**, v. 28, n. 7, p. 587-603, 2018.

<https://doi.org/10.1007/s00572-018-0864-6>

STÜRMER, Sidney Luiz; KEMMELMEIER, Karl. The Glomeromycota in the neotropics. *Frontiers in microbiology*, v. 11, p. 553679, 2021. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.553679>

STÜRMER, S. L.; SIQUEIRA, J. O. Diversidade de fungos micorrízicos arbusculares em ecossistemas brasileiros. *Biodiversidade do solo em ecossistemas brasileiros*, p. 537-583, 2008.

TAYLOR, Thomas N. et al. Fossil arbuscular mycorrhizae from the Early Devonian. *Mycologia*, v. 87, n. 4, p. 560-573, 1995. <https://doi.org/10.1080/00275514.1995.12026569>

TEIXEIRA, Anita Fernanda dos Santos et al. Arbuscular mycorrhizal fungal communities in an iron mining area and its surroundings: Inoculum potential, density, and diversity of spores related to soil properties. *Ciência e Agrotecnologia*, v. 41, p. 511-525, 2017. <https://doi.org/10.1590/1413-70542017415014617>

VALLEJOS-TORRES, Geomar et al. The role of arbuscular mycorrhizal fungi against root-knot nematode infections in coffee plants. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, v. 21, n. 1, p. 364-373, 2021. <https://doi.org/10.1007/s42729-020-00366-z>

VOLSI, Bruno et al. The dynamics of coffee production in Brazil. *PloS one*, v. 14, n. 7, p. e0219742, 2019. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0219742>

WIJAYAWARDENE, Nalin N. et al. Outline of Fungi and fungus-like taxa. *Mycosphere Online: Journal of Fungal Biology*, v. 11, n. 1, p. 1060-1456, 2020. <https://doi.org/10.5943/mycosphere/11/1/8>

WINAGRASKI, Etienne et al. Diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in forest ecosystems of Brazil: A review. *Cerne*, v. 25, p. 25-35, 2019. <https://doi.org/10.1590/01047760201925012592>

SEGUNDA PARTE – ARTIGOS

ARTIGO I – Communities of Mycorrhizal Fungi at Different Soil Depths in Coffee Plots and Their Relationship with Edaphic Attributes and Productivity

(Artigo formatado conforme as regras do periódico *Biology and Fertility of Soils*)

Communities of Mycorrhizal Fungi at Different Soil Depths in Coffee Plots and Their Relationship with Edaphic Attributes and Productivity

Autors: Ana Paula Valadares da Silva, Éder Rodrigues Batista, Ana Lucia Nunez Villalobos, André Ribeiro Silveira, Marcia Rufini, Mariângela Viana Barbosa, Cristiane Figueira da Silva, Orivaldo José Saggin Júnior, Cândido Barreto de Novais, Teotonio Soares de Carvalho, Fatima Maria de Souza Moreira.

anapaulavaladaresdasilva@gmail.com; eder.pgagri@gmail.com;
ana.villalobos@estudante.ufla.br; andre.silveira2@estudante.ufla.br;
marciarufini@gmail.com; mvbarbosa10@gmail.com; cfigueirasilva@yahoo.com.br;
orivaldo.saggin@embrapa.br; candidobnn@yahoo.com.br; teotonio.carvalho@ufla.br;
fmoreira@ufla.br.

Abstract

Brazil is the world's largest coffee producer. To ensure the sustainability of this production, it is essential to understand the influence of various factors, especially biological ones. Although it is recognized that arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) positively impact coffee cultivation, there is a lack of evidence regarding their relationship with productivity and their occurrence at different depths where the root system of the crop is located. This study aims to investigate the relationship between the presence and diversity of AMF at different depths in coffee plantations with crop productivity and soil chemical and physical attributes. The two selected coffee plots share similarities in terms of planting year, soil type, cultivar, and other aspects, but differ in productivity. Soil samples were collected at three depths (0-20, 20-40, 40-60 cm). Variables such as soil fertility, spore density, presence of AMF species, species richness, concentrations of soil protein related to glomalin (GRSP), both total (T) and easily extractable (EE), and mycorrhizal colonization of roots in the 0-10 cm layer were analyzed. The results indicate that higher species diversity and spore density at different depths do not directly correlate with coffee productivity. However, high concentrations of easily extractable soil protein related to glomalin (EE-GRSP) at all depths and total glomalin (T-GRSP) in the 0-20 cm layer, along with higher root colonization by AMF, were greater in the higher productivity plot. The species *Cetraspora pellucida*, *Dentiscutata reticulata*, *Glomus* sp2, *Scutellospora calospora*, *Scutellospora scutata*, *Scutellospora* sp, and the unidentified morphospecies 2 were exclusively found at depths below 20 cm, indicating specific richness in the deeper soil layers.

Introduction

The association between arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) and plant roots is one of the most crucial mutualistic symbioses in terrestrial ecosystems (Read, 1992). These microorganisms play a significant role in nutrient cycling, soil structuring, water and nutrient absorption by plants, and protection against pathogens and potentially toxic elements. As a result, they enhance the adaptive capacity of plants across various ecosystems (Bethlenfalvay and Linderman, 1992; Moreira and Siqueira, 2006; Smith and Read, 2010). Consequently, AMF can have both direct and indirect effects on crop productivity.

Coffee is an economically important crop, with Brazil being the world's largest producer and exporter and the second-largest consumer (MAP, 2023). The country's high coffee production is attributed to its favorable climate, substantial investments, and the adoption of new management technologies (Angnes, 2021; Costa, 2020; Silva and Cortez, 1998). However, coffee growers and researchers continue to seek improvements in Brazilian coffee production systems, aiming to enhance productivity sustainably while reducing dependency on inputs and improving agroecosystem quality (Costa, 2020; Haddad et al., 2009; Latini et al., 2020; Neves and Hirose, 2005; Santos et al., 2023). In this context, understanding and enhancing the symbiosis between coffee plants and AMF is crucial for achieving high-performance and sustainable future production.

Due to the high mycotrophy of coffee plants, AMF can significantly boost productivity when seedlings are inoculated (Colozzi Filho et al., 1994). Siqueira et al. (1993) found that AMF inoculation increased coffee bean yield by an average of 74% compared to non-inoculated plants in the first harvest year. However, over a longer evaluation period (6 years), the effect of inoculation on productivity was inconsistent in the last two years, likely due to the presence of native AMF in the environment, which can diminish the lasting impact of inoculation with isolated AMF species (Siqueira et al., 1998). As coffee is a perennial crop, pre-planting field inoculation may become less effective over time. Nonetheless, the presence of native AMF associated with coffee may help sustain production gains.

Recent observations by da Silva Aragão et al. (2020) indicated that high-productivity coffee plots had higher microbial biomass, partly composed of AMF,

suggesting that these microorganisms may influence coffee productivity. Mycorrhizal fungi constitute between one-third and half of the soil biomass (Kiers and Sheldrake, 2021). Additionally, these microorganisms are obligate biotrophs, requiring symbiosis with plant roots to complete their life cycle (Read, 1992). Therefore, in coffee production systems, the growth and multiplication of AMF depend on their interaction with the plants, allowing them to perform their ecological functions in coffee plant development. However, determining the extent to which AMF influence and are influenced by various factors remains a challenge that requires further investigation (Ryan and Graham, 2002). Moreover, data on spore density and diversity in the soil profile near coffee roots are still scarce, as is their effect on productivity within conventional management and their relationship with soil physical-chemical attributes.

Soil sampling to assess the presence of AMF spores is commonly done at a depth of 0-20 cm (Pagano et al., 2009; Pouyu-Rojas et al., 2006; Prates Júnior et al., 2019; Teixeira et al., 2017). Similarly, some studies focus only on rhizosphere soil or shallower layers of 0-10 cm (Costa et al., 2016; Fernandes et al., 2016). However, sampling deeper soil zones in AMF studies allows access to a diversity that may be overlooked. Additionally, the coffee root system can have about 80% of its roots within the top 30 cm of soil, comprising surface roots or rootlets and taproots, which are central roots reaching depths of 50 to 60 cm in mature plants (de Oliveira et al., 2012). This suggests that the interaction between AMF and coffee roots can occur at much greater depths than typically assessed. Therefore, it is necessary to investigate spore presence at greater depths, as only four studies in coffee plantations have addressed different depths. These include research by Cardoso et al. (2003) (0–1, 2–3, 5–7.5, 10–15, 20–30, and 40–60 cm), Cogo et al. (2020) (0-20, 20-40, and 40-60 cm), Muleta et al. (2008) (0–10, 10–20, 20–30, 30–40, and 40–50 cm), and Prates et al. (2021) (0-20 and 20-40 cm). However, these authors did not evaluate soil protein concentrations related to glomalin (GRSP), which are mixtures of humic substances and heat-stable glycoproteins, mainly of AMF origin, nor did they assess the total diversity and richness of spore morphospecies and their relationship with total soil fertility, including micronutrients and soil penetration resistance.

Evidence already suggests that certain AMF taxa exhibit ecological specialization, predominantly occurring in deeper soil layers (Sosa-Hernández et al., 2018). In a study on coffee cultivation conducted by Cogo et al. (2020), the effect of liming on AMF communities was investigated at three depths (0-20, 20-40, 40-60 cm) in conventional cultivation plots. Although the authors did not conclude about exclusive species below 20

cm depth, during the dry period, we observed the exclusive presence of species like *Acaulospora morrowiae*, *Claroideoglossum etunicatum*, and *Rhizophagus intraradices* below this depth. Thus, our study hypothesizes that sampling at greater soil depths, i.e., below 20 cm, may reveal AMF diversity that has been overlooked in previous studies, contributing to the understanding of these microorganisms' influence on coffee plant development, with positive reflections on productivity and possible relationships with soil physical-chemical attributes.

Materials and Methods

Study Area

Soil Sampling

Soil sampling in the plots was conducted in February 2022, during the rainy season. The plots are located in the Campos das Vertentes mesoregion, in the municipality of Santo Antônio do Amparo, in the state of Minas Gerais, Brazil (20°53'29.92" S 44°52'02.10" W and 20°54'08.70" S 44°51'55.14" W). The climate of the region is classified as Cwa according to Köppen's classification, characterized by a dry winter and a rainy summer. The average annual temperature is 20°C, and the average annual precipitation is 1089 mm.

Two plots on the same property were selected, Galpão and Buraco do Lobo (B. do Lobo), both established in the same year with identical coffee cultivation practices, including fertilization, soil type, variety, and spacing (Table 1). Both plots have high productivity, averaging 30 sacks/ha. However, they differ in the number of sacks harvested annually, with Buraco do Lobo being the plot with the highest total productivity over the last four years (Table 1). To understand the factors related to the productivity of both plots, five sampling points were taken from each plot, totaling 10 points (Figure 1). At each point, soil penetration resistance was assessed up to 60 cm.

Subsequently, using a lever and an articulated spade, a mini-trench approximately 20 cm wide and 60 cm deep was excavated. Soil samples were collected at every 20 cm depth (0-20, 20-40, and 40-60 cm), resulting in three samples per trench. Roots were manually collected from the projection of the coffee tree canopy in the topsoil layer (0-

10 cm) to ensure the collection of finer coffee roots, confirming they belonged to the coffee plants and not to spontaneous plants. No samples were collected at greater depths due to the thicker root presence in deeper layers and the difficulty in ensuring those roots belonged to the coffee plants.



Fig.1 Sampling plots Galpão (A) and Buraco do Lobo (B). Yellow points indicate the locations where AMF samples were collected in coffee plants of higher and lower productivity. The distance between the central points of the plots was approximately 1.20 km. Buraco do Lobo is situated at an altitude of about 1083 meters above sea level, while Galpão is at 1109 meters.

Table 1- Coffee productivity over four harvests in the Galpão and Buraco do Lobo plots.

Year	Coffee Variety	Plots	Soil Type	Spacing	Area	Safra 18/19	Safra 19/20	Safra 20/21	Safra 21/22	Total
						Productivity				
						M	ha	sacks/ha ⁻¹		
2012	Catuai	Galpão	Oxisol	3,40 x 0,65	1,58	28,1	58,3	19,4	23,3	129,1
2012	Catuai	B. do Lobo	Oxisol	3,50 x 0,65	27,2	41,4	54,0	34,9	19,8	150,1

Coffee Variety: Catuai vermelho.

Characterization of Soil Chemical and Physical Attributes

To determine the soil's chemical composition, samples were dried, ground, and sieved through a 2 mm mesh of air-dried fine soil (ADFS). The following analyses were

performed on the samples: available P, Na, K, Fe, Zn, Mn, Cu, and Fe, extracted with Mehlich-1 (Mehlich, 1953); exchangeable Ca, Mg, and Al, extracted with 1 mol L⁻¹ KCl (McLean et al., 1958); potential acidity (H⁺ + Al) using the SMP method; cation exchange capacity at pH 7.0 (T) determined indirectly by the sum of bases (Shoemaker et al., 1961); soil organic matter (SOM) by oxidation with Na₂Cr₂O₇ 4 N + H₂SO₄ 10 N (Walkley and Black, 1934); residual P (Prem) (Alvarez and Fonseca, 1990) and S using a mono-calcium phosphate extractor in acetic acid (Hoeft et al., 1973). pH was measured in water (1:2.5). B was extracted with hot water (Raij et al., 2001). Nitrogen (N) was determined by the Kjeldahl method (Teixeira et al., 2017). The results of the chemical characterization are presented in Table 2. Soil texture was determined using the Bouyoucos method (Bouyoucos, 1951).

Soil Penetration Resistance

Soil penetration resistance was determined at each sampling point to a depth of 60 cm using an impact penetrometer (IAA/Planalsucar-Stolf). The number of impacts was recorded, and the penetration depth achieved by the rod in the soil layers was noted and converted to MPa units, as per Equation 1:

$$SRP = \left[\frac{Mg + mg + \left(\frac{M}{M+m} \times \frac{Mg \times h}{X} \right)}{A} \right] \times 0,098 \quad (1)$$

where SRP is the soil penetration resistance, M is the weight of the piston (4.03 kg), g is the acceleration due to gravity (9.8 m s⁻²), m is the weight of the device without the piston (3.24 kg), h is the height traveled by the piston (0.56 m), x is the penetration of the rod into the soil (cm per impact), and A is the basal area of the rod (m²).

The result was processed using a data analysis program titled Impact Penetrometer Stolfem-EXEAL-VBA, for generating the adapted penetration graphs (Stolf et al., 2014).

Determination of Soil Moisture

The determination of soil moisture in its natural state was performed by the ratio between the mass of water (M_w) at each depth, collected in the field, and the solid mass, obtained

after complete drying in an oven at a temperature between 105°C and 110°C (Equation 2).

$$h(\%) = \left(\frac{Ma}{Ms} \right) \times 100 \quad (2)$$

Biological Analyses

Soil GRSP Concentration

The concentrations of soil protein related to easily extractable glomalin (EE-GRSP) and total soil protein related to glomalin (T-GRSP) were quantified according to the procedures described by Wright and Upadhyaya (1996) for soil samples from all studied depths. Briefly, 1 g of each sample was placed in a Falcon centrifuge tube. For EE-GRSP determination, the soil sample was incubated with 8 mL of 20 mM sodium citrate solution (pH 7.0), autoclaved at 121°C and 0.11 MPa for 30 minutes, and then centrifuged at 5,000 rpm for 15 minutes to settle residual soil particles, with the supernatant removed for analysis. For T-GRSP determination, another sample was added with 8 mL of 50 mM sodium citrate solution (pH 8.0), autoclaved at 121°C for 60 minutes, and then centrifuged at 5,000 rpm for 15 minutes to settle residual soil particles, with the supernatant removed. This procedure was repeated between 7 and 9 times, and after each autoclaving and centrifugation cycle, the supernatant was removed and combined with the T-GRSP determination flask. The cycles were repeated until the supernatant was clear. The protein in the supernatants of the EE-GRSP and T-GRSP flasks from each repetition was determined using the Bradford dye-binding assay (1976) with bovine serum albumin as the standard and determined by spectrophotometry.

Extraction and Identification of AM Fungal Spores

Spore extraction from each soil sample, by depth and treatment, was carried out from 50 mL of air-dried fine soil (ADFS) using the wet-sieving method, as described by Gerdemann and Nicolson (1963). The sieving process involved using a sequence of four sieve meshes (300, 180, 90, 45 µm). The material recovered from each sieve was then centrifuged (Jenkins, 1964), first in water (3000 rpm) and subsequently in a 50% sucrose solution (2000 rpm).

Spores were separated using sieves, and the total number of spores was counted using a stereomicroscope with 40x magnification. The number of spores in each sieve was summed. All spores present in the samples were then sorted onto slides by morphotype, considering characteristics such as color, size, and type of spore formation. Slides were prepared with two coverslips each, using a polyvinyl-lacto-glycerol (PVLG) solution on one and PVLG + Melzer's reagent (1:1, v:v) on the other, to create permanent mounts and promote a differential color reaction of the walls to aid in identification.

Morphological identification was conducted using a Nikon Optiphot 2 microscope with phase contrast, observing spore wall characteristics such as thickness, ornamentations, and color reaction to Melzer's reagent (Figure S1). These observations were compared with descriptions from reference cultures in "The International Collection of (Vesicular) Arbuscular Mycorrhizal Fungi" (INVAM, 2024), on Janusz Blaszkowski's (2024) website, and the original descriptions of each species.

Mycorrhizal Colonization of Roots

Collected roots were washed in running water and preserved in 70% alcohol. For staining, they were immersed in 10% KOH and placed in a water bath at 90°C for 30 minutes. After washing in running water, they were cleared with 3% hydrogen peroxide for 30 minutes, followed by acidification with 1% HCl for 2 hours. The roots were then stained with 0.05% trypan blue in lactoglycerol for 30 minutes in a water bath at 90°C (Brundrett et al., 1996). Mycorrhizal colonization was assessed using the gridline intersect method (Giovannetti and Mosse, 1980).

Calculations and Statistical Analyses

Spore abundance was expressed as the total number of spores found in 50 mL of dry soil. All other analyses were performed in R (v.4.1.2) (R Core Team, 2020). Alpha diversity analyses were conducted in R using the packages phyloseq (McMurdie and Holmes, 2013), hilldiv (Alberdi and Gilbert, 2019), and vegan (Oksanen et al., 2022). Rarefaction curves were calculated to standardize the sequencing depth to the smallest number of reads across samples, by averaging 1,000 randomly rarefied datasets without replacement (Cameron et al., 2021).

Alpha diversity was calculated as Hill numbers for total species ($q = 0$, akin to richness), typical species ($q = 1$, akin to Shannon diversity), and dominant species ($q = 2$, akin to Simpson diversity) (Hill, 1973; Jost, 2006). Differences in attributes related to arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) and alpha diversity between soil depths and coffee plots were assessed using linear mixed-effects models (LMMs), with the transect as a random effect and depth, plot, and their interaction as fixed effects using the lme4 package (Bates et al., 2015). Two-way factorial ANOVA, followed by Tukey's tests, was used to test significance in model parameters with the emmeans package (Lenth et al., 2021). Data were transformed to square root or log where necessary.

Permutational multivariate analysis of variance (PerMANOVA) based on the Bray-Curtis dissimilarity matrix was used to determine the effects of depth, plot, and their interaction on AMF community composition (Anderson, 2001). To investigate related environmental drivers, we applied distance-based redundancy analysis (db-RDA) with stepwise selection of explanatory variables (Borcard et al., 2018). First, Mantel tests between species composition data and all environmental variables were performed to filter out collinear variables. Variables significantly correlated with AMF community composition were evaluated for collinearity using the cor() function in R (Spearman's $|\rho| > 0.75$, Dormann et al., 2013). The variable with the highest Mantel statistic in a specific collinear pair was included in the final model. Finally, environmental predictors were selected based on Monte Carlo tests with 9999 permutations. All p-values were adjusted for multiple comparisons using the Benjamini-Hochberg approach, and a significance threshold of $p_{adj} < 0.05$ was used (Benjamini and Hochberg, 1995). All multivariate analyses were conducted using the vegan package (Oksanen et al., 2022). Figures were generated with the ggplot2 package (Wickham, 2016) and Sigma Plot.

Results

Characterization of Study Plots

The two study plots were established with coffee cultivation in the same year (2012) and share identical characteristics, such as soil type, spacing, cultivar, and management, both being considered high-yield plots in Brazil, meaning they produce above 30 sacks per hectare. However, Buraco do Lobo showed about a 14% higher productivity than Galpão (Table 1). Additionally, during the 20/21 harvest, a year of

negative bienniality for the plots, the plot named Buraco do Lobo outperformed Galpão by about 15 sacks of coffee (Table 1). When evaluating the commercial value of a sack in the local market in November 2021, with an average price of US\$231.62 per sack (Cooxupé, 2023), this resulted in a gain of US\$3,590.11 for this plot.

Chemical and Physical Soil Attributes

Soil fertility of the plots is detailed in Table 2, based on the 5th approximation criteria for the state of Minas Gerais (Alvarez et al., 1999). It was noted that Galpão had lower acidity compared to Buraco do Lobo at the 20-40 cm and 40-60 cm depths. For available phosphorus (P) levels in the layers, there was no significant difference between the plots. Both plots showed medium levels of P for coffee cultivation. Additionally, the values for K, N, Ca, SB, t, P-rem, MOS, Fe, Mn, Cu, and B showed no significant variations either between depths or between plots (Table 2). However, Galpão exhibited a higher base saturation index (V) at all depths, higher levels of magnesium (Mg) (0-20 cm), sodium (Na) (40-60 cm), and sulfur (S) (0-20 cm) compared to Buraco do Lobo. In contrast, Buraco do Lobo showed higher potential acidity (H+Al) at all depths, aluminum saturation index (m) (0-20 and 20-40 cm), cation exchange capacity at pH 7.0 (T) (0-20 and 40-60 cm), and higher levels of aluminum (Al) (0-20 and 20-40 cm) and zinc (Zn) (0-20 cm). Clay content was higher in Buraco do Lobo at all depths compared to Galpão (Table 2).

Buraco do Lobo also exhibited a higher percentage of moisture in the 0-20 cm (3%), 20-40 cm (4%), and 40-60 cm (5%) layers compared to Galpão, although no statistical difference was evaluated (Table 2). When assessing soil compaction through penetration resistance, no statistical differences were observed between the plots (Table 2).

Principal component analysis (PCA) of physical-chemical soil attributes, along with easily extractable and total glomalins at different depths in higher and lower productivity coffee plots, revealed that 54.01% of the data variance was explained, with PC1 representing 30.73% and PC2, 23.28% (Figure 2). These results indicate the formation of two distinct clusters between the higher and lower productivity plots (Figure 4 and Table S4). In principal component 1 (PC1), the variables with the highest positive influence were pH, V%, SB, CECe, Mg, Ca, and B, while Al, H+Al, m%, and sand had a strong negative influence (Table S4). Regarding principal component 2 (PC2), the

variables N, CEC_p, SOM, Fe, Zn, P, along with both glomalins fractions (T-GRSP and EE-GRSP), were found to be more influential.

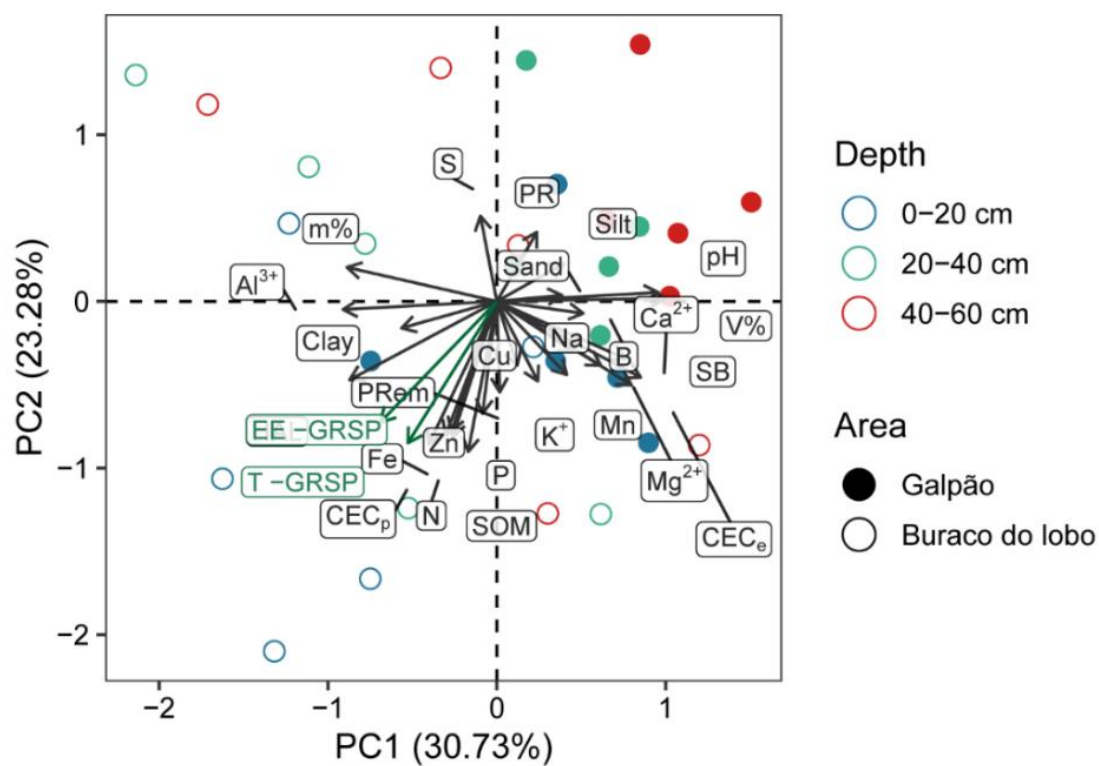


Fig.2. Principal Component Analysis (PCA) for the relationships between physical-chemical and biological variables at different soil depths in high and low productivity coffee plots. Only significant variables ($p < 0.05$) from the envfit() function are shown. BS, base sum; CEC_e, effective cation exchange capacity; CEC_p, potential cation exchange capacity; MOS, soil organic matter; V%, base saturation; m%, aluminum saturation; H+Al, potential acidity; penetration resistance, PR.

Table 2. Mean values ($\pm$ SE) of physical-chemical attributes of soil samples collected at different depths from two coffee plantations.

	Galpão			Buraco do lobo		
	0-20 cm	20-40 cm	40-60 cm	0-20 cm	20-40 cm	40-60 cm
pH	5.34 $\pm$ 0.06Aa ^B	5.44 $\pm$ 0.21Aa	5.76 $\pm$ 0.22Aa	4.94 $\pm$ 0.21Aa ^B	4.8 $\pm$ 0.24Ba	5.11 $\pm$ 0.24Ba
MOS	2.55 $\pm$ 0.34Aa ^M	2.42 $\pm$ 0.33Aa	2.13 $\pm$ 0.30Aa	3.22 $\pm$ 0.40Aa ^M	2.86 $\pm$ 0.37Aa	2.54 $\pm$ 0.34Aa
N	4.51 $\pm$ 0.52Aa	4.22 $\pm$ 0.51Aa	3.56 $\pm$ 0.43Aa	5.07 $\pm$ 0.21Aa	4.78 $\pm$ 0.49Aa	4.29 $\pm$ 0.36Aa
P	28.17 $\pm$ 15.34Aa ^{MB}	4.55 $\pm$ 6.17Aa	2 $\pm$ 4.09Aa	18.06 $\pm$ 12.28Aa ^{MB}	3.93 $\pm$ 5.73Aa	2.66 $\pm$ 4.71Aa
S	134.78 $\pm$ 28.34Aa	107.09 $\pm$ 22.56Aa	90.67 $\pm$ 19.13Aa	59.10 $\pm$ 12.55Ba	87.34 $\pm$ 18.44Aa	68.16 $\pm$ 14.44Aa
K+	71.53 $\pm$ 14.47Aa ^M	63.36 $\pm$ 13.62Aa	72.09 $\pm$ 14.52Aa	71.29 $\pm$ 14.44Aa ^M	66.80 $\pm$ 13.98Aa	80.71 $\pm$ 15.37Aa
Na+	12.18 $\pm$ 2.18Aa	8.91 $\pm$ 1.86Aa	14.13 $\pm$ 2.35Aa	9.95 $\pm$ 1.97Aa	8.83 $\pm$ 1.85Aa	9.38 $\pm$ 1.91Ba
Ca ²⁺	1.45 $\pm$ 0.53Aa ^M	2.04 $\pm$ 0.63Aa	2.53 $\pm$ 0.70Aa	1.54 $\pm$ 0.55Aa ^M	1.45 $\pm$ 0.53Aa	2.08 $\pm$ 0.64Aa
Mg ²⁺	1.76 $\pm$ 0.32Aa ^{MB}	1.04 $\pm$ 0.25Aa	0.99 $\pm$ 0.24Aa	0.78 $\pm$ 0.21Ba ^M	0.60 $\pm$ 0.19Aa	0.78 $\pm$ 0.22Aa
Al ³⁺	0.14 $\pm$ 0.05Ba	0.1 $\pm$ 0.06Ba	0.1 $\pm$ 0.06Aa	0.33 $\pm$ 0.05Aa	0.28 $\pm$ 0.08Aa	0.17 $\pm$ 0.07Aa
H+Al	4.36 $\pm$ 1.21Ba	3.08 $\pm$ 1.02Ba	2.26 $\pm$ 0.87Ba	7.26 $\pm$ 1.56Aa	5.55 $\pm$ 1.37Aa	4.42 $\pm$ 1.22Aa
m%	3.7 $\pm$ 1.67Ba ^I	2.97 $\pm$ 1.42Ba	2.65 $\pm$ 1.3Aa	10.66 $\pm$ 4.16Aa ^I	10.45 $\pm$ 4.08Aa	4.86 $\pm$ 2.09Aa
SB	3.42 $\pm$ 0.61Aa ^M	3.3 $\pm$ 0.6Aa	3.71 $\pm$ 0.63Aa	2.51 $\pm$ 0.52Aa ^M	2.23 $\pm$ 0.49Aa	3.07 $\pm$ 0.58Aa
T	3.57 $\pm$ 0.55Aa ^M	3.4 $\pm$ 0.54Aa	3.82 $\pm$ 0.57Aa	2.86 $\pm$ 0.5Aa ^M	2.6 $\pm$ 0.47Aa	3.3 $\pm$ 0.53Aa
T	7.94 $\pm$ 1.21Ba ^M	6.42 $\pm$ 1.09Aa	6 $\pm$ 1.05Ba	9.87 $\pm$ 1.35Aa ^A	7.97 $\pm$ 1.21Aa	7.74 $\pm$ 1.2Aa
V%	43.6 $\pm$ 9.55Aa ^M	51.57 $\pm$ 10.39Aa	61.8 $\pm$ 11.37Aa	25.99 $\pm$ 7.37Ba ^B	27.09 $\pm$ 7.53Ba	38.71 $\pm$ 9Ba
P-Rem	20.58 $\pm$ 2.87Aa	17.57 $\pm$ 2.65Aa	16.7 $\pm$ 2.58Aa	21.1 $\pm$ 2.9Aa	18.6 $\pm$ 2.73Aa	17.9 $\pm$ 2.68Aa

Mn	3.22 ± 1.09Aa ^B	4.06 ± 1.31Aa	4.03 ± 1.3Aa	3.11 ± 1.06Aa ^B	3.24 ± 1.1Aa	3.37 ± 1.13Aa
Zn	0.99 ± 0.31Ba ^B	0.83 ± 0.26Aa	0.76 ± 0.24Aa	2.32 ± 0.73Aa ^M	1.52 ± 0.48Aa	1.3 ± 0.41Aa
B	0.29 ± 0.07Aa ^M	0.32 ± 0.05Aa	0.36 ± 0.04Aa	0.22 ± 0.05Aa ^M	0.26 ± 0.04Aa	0.23 ± 0.04Aa
Fe	24.31 ± 5.05Aa ^M	19.44 ± 4.03Aa	18.1 ± 3.76Aa	25.76 ± 5.35Aa ^M	21.62 ± 4.49Aa	19.58 ± 4.06Aa
Cu	3.18 ± 1.7Aa ^E	2.53 ± 1.52Aa	2.47 ± 1.5Aa	3.27 ± 1.72Aa ^E	2.04 ± 1.36Aa	1.73 ± 1.25Aa
Argila	55.97 ± 2.18Ba	58.39 ± 2.23Ba	56.58 ± 2.19Ba	64.83 ± 2.35Aa	65.99 ± 2.37Aa	65.38 ± 2.36Aa
Silte	11.26 ± 2.65Aa	8.52 ± 2.31Aa	11.2 ± 2.65Aa	7.73 ± 2.2Aa	5.48 ± 1.85Aa	7.45 ± 2.16Aa
Areia	32.35 ± 2.59Aa	32.56 ± 2.6Aa	31.74 ± 2.57Aa	26.77 ± 2.36Aa	27.12 ± 2.38Aa	26.32 ± 2.34Aa
Umidade	29	29	31	32	33	36

Different lowercase letters in a row indicate significant differences ($p < 0.05$) between depths within the same coffee plantation, while different uppercase letters in a column indicate significant differences ($p < 0.05$) for the same depth between coffee plantations.

MOS, soil organic matter; N (expressed in g kg⁻¹); available P, Zn, Fe, Mn, and Cu (expressed in mg kg⁻¹); K⁺, Na⁺, Ca²⁺, Mg²⁺, Al³⁺, H⁺/Al (potential acidity); BS – base sum; t – potential cation exchange capacity; and T – effective cation exchange capacity (expressed in cmolc dm⁻³); V% – base saturation; m% – aluminum saturation; Clay, Silt, Sand, and soil moisture (expressed in %). Values followed by superscript letters are considered as follows: (MB) = very good; (M) = medium; (A) = good; (B) = low; (I) = very low, according to the soil fertility recommendation manual for the state of Minas Gerais - 5th Approximation (Alvarez et al., 1999).

Biological Analyses

GRSP Concentrations

The concentrations of soil protein related to easily extractable glomalin (EE-GRSP) did not show significant differences within each plantation regarding depth (Figure 3a). However, in the higher productivity plantation (Buraco do Lobo), the EE-GRSP concentrations were higher than those observed in the lower productivity plantation at all depths.

The concentrations of total soil protein related to glomalin (T-GRSP) in the higher productivity plantation (Buraco do Lobo) did not show differences between depths. The same pattern was observed in the lower productivity plantation (Figure 3b). However, when comparing the higher and lower productivity plantations, it was found that the concentration of T-GRSP was higher in Buraco do Lobo at the 0-20 cm depth, while at other depths, no significant differences between the plantations were observed.

Density of Spores and Sporocarps of AMFs

All spores, sporocarps, and auxiliary cells were selected for morphological identification (Table S1). This resulted in 569 slides for identification and a total of 8,669 spores, with 6,577 observed in Galpão and 2,092 in Buraco do Lobo. As shown in Figure 3c, the number of AMF spores per 50 mL of soil indicates that a significantly higher number of AMF spores was found in the lower productivity plantation (Galpão) compared to the higher productivity plantation (Buraco do Lobo). Regarding different depths in each area, no significant differences were observed (Figure 3c, Table S2).

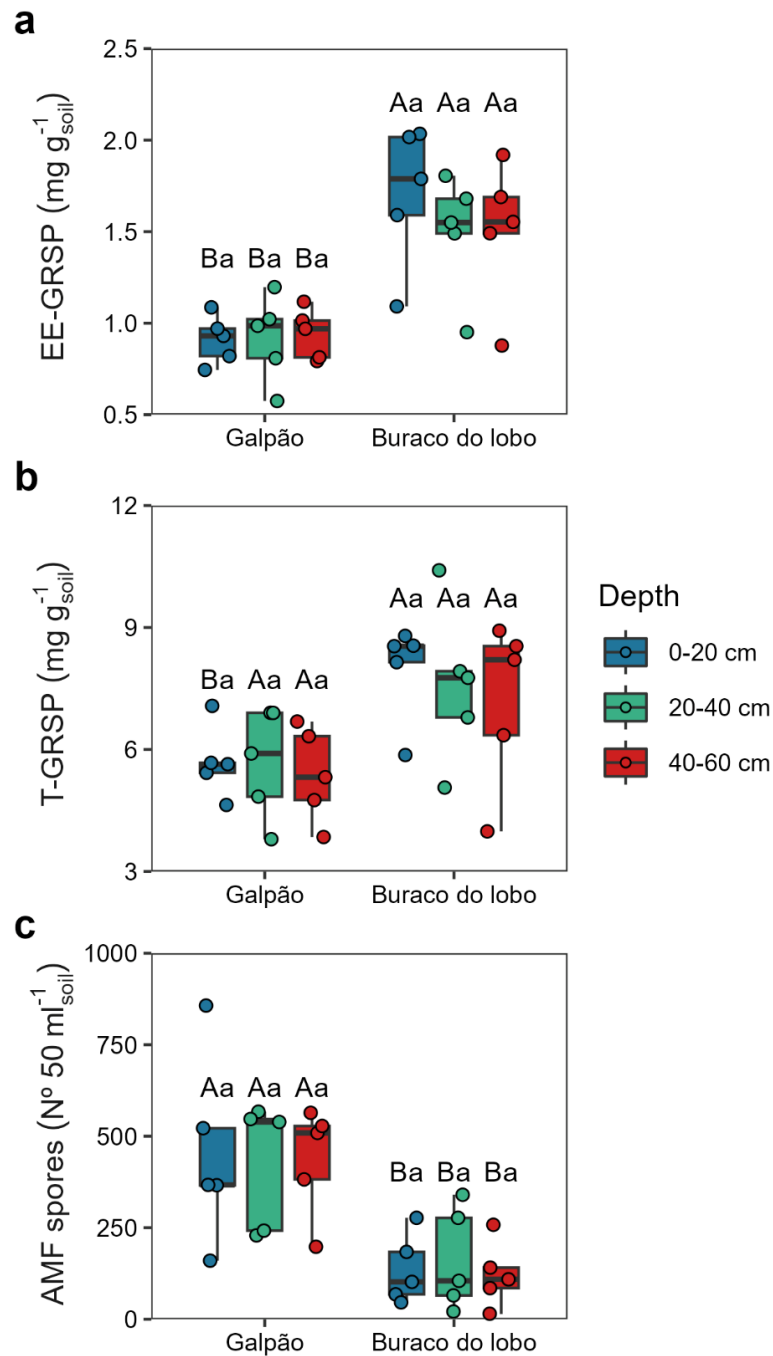


Fig.3. Boxplots for soil protein concentrations related to easily extractable glomalin (EE-GRSP, a), total soil protein related to glomalin (T-GRSP, b), and arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) spore numbers (c) at different soil depths in high and low productivity coffee plantations. The boxplots display quartiles (Q1, median, Q3), and the lines represent the range of data points within 1.5 times the interquartile range. Lowercase letters indicate significant differences ($p < 0.05$) between depths within the same coffee plantation based on Tukey's test; uppercase letters indicate significant differences ($p < 0.05$) for the same depth between coffee plantations based on Tukey's test.

Mycorrhizal Root Colonization

In the surface coffee roots, a higher percentage of mycorrhizal colonization was observed in B. do Lobo compared to Galpão (Figure 4). The high-productivity plot exhibited, on average, eight times greater mycorrhizal colonization compared to the low-productivity plot.

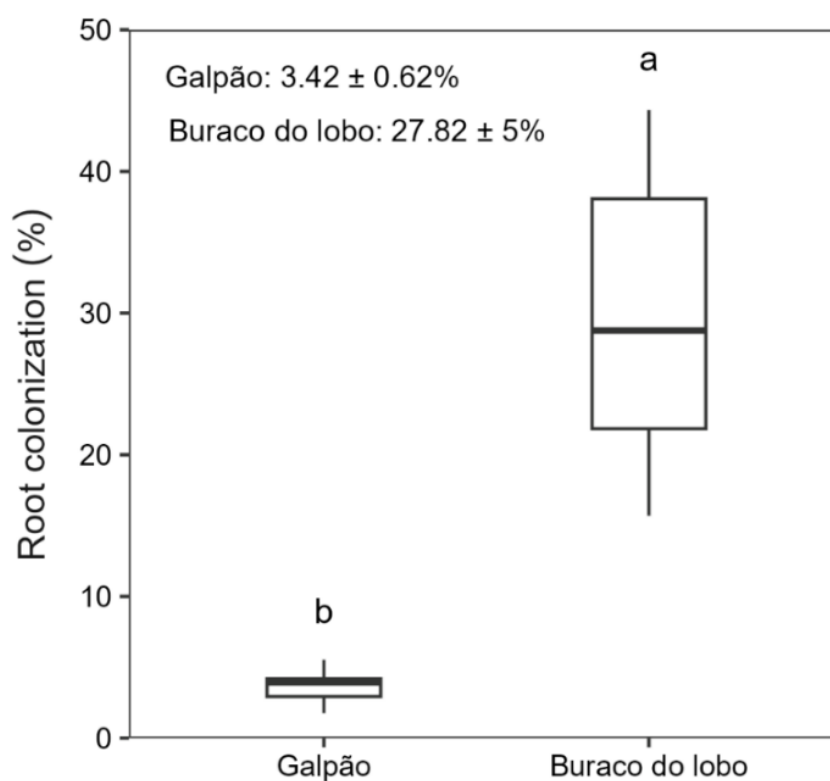


Fig.4. Percentage of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) root colonization in surface coffee roots between high and low productivity plots. Different lowercase letters indicate significant differences ($p < 0.05$). The inserted text shows the mean $\pm$ SE for each area.

Spores Diversity of AMFs

A total of 30 morphospecies were identified based on morphological criteria (Table 3, S1; Figure S1). The most common genera were *Glomus* (6 spp), *Acaulospora* (6 spp), and *Scutellospora* (5 spp), while *Ambispora* (1 sp), *Cetraspora* (1 sp), *Dentiscutata* (1 sp), and *Diversispora* (1 sp) were less frequent, with only one species representing each genus. Two morphospecies remained unidentified due to their morphological characteristics not fitting any known species descriptions.

The low productivity plot (Galpão) had 13 exclusive species, whereas the high productivity plot (B. do Lobo) had only two exclusive species (Figure 5a). Additionally, 11 species exhibited a generalist behavior, being found in all plots and depths assessed

(*Acaulospora scrobiculata*, *Acaulospora endographis*, *Ambispora leptoticha*, *Sieverdingia tortuosa*, *Gigaspora sp*, *sp2*, *Glomus macrocarpum*, *Rhizoglosum microaggregatum*, *Rhizophagus fasciculatus*, *Rhizophagus intraradices*, and unidentified morphospecies 1). Regarding depths (0-20, 20-40, and 40-60 cm), approximately 56% of the species were shared across all depths, while 20% of the species were exclusive to the 40-60 cm depth (Figure 5b).

In Galpão, species were identified that only occurred at depths below 20 cm (Table 3). The species *Cetraspora pellucida* was found at both 20-40 cm and 40-60 cm depths, *Scutellospora scutata* was observed only at the 20-40 cm depth, and *Acaulospora rehmii*, *Dentiscutata reticulata*, *Scutellospora calospora*, *Scutellospora sp*, *Scutellospora sp3*, and unidentified morphospecies 2 were found only at the 40-60 cm depth. In B. do Lobo, only *Glomus clavisporum* (currently trending back to its basionym *Sclerocystis clavispora*) was exclusively observed at the 20-40 cm depth (Table 3 and Figure 5b).

Table 3. Composition, average per replicate of spore, sporocarp, and auxiliary cell abundance of AMF morphospecies found at the study sites.

	Area			Galpão			Buraco do lobo		
	Depths	0-20	20-40	40-60	0-20	20-40	40-60		
AMF spore morphospecies									
1 <i>Acaulospora scrobiculata</i>		2,80	8,20	3,60	23,40	43,20	45,20		
2 <i>Acaulospora tuberculata</i> *		0,20	5,00	5,60					
3 <i>Acaulospora colombiana</i>		0,20	0,20	0,20	0,40		0,20		
4 <i>Acaulospora rehmsii</i> *				1,20					
5 <i>Acaulospora endographis</i>		1,60	7,40	6,20	1,20	0,60	1,80		
6 <i>Acaulospora denticulata</i> **					0,80	0,40	0,20		
7 <i>Ambispora leptoticha</i>		7,00	24,00	10,00	0,40	8,80	6,20		
8 <i>Cetranspora pellucida</i> *			0,20	1,60					
9 <i>Dentiscutata reticulata</i> *				0,20					
10 <i>Sieverdingia tortuosa</i>		202,00	154,00	165,80	57,00	34,80	30,20		
11 <i>Gigaspora sp</i>		7,00	3,00	3,60	1,80	2,20	1,00		
12 <i>Gigaspora sp2</i>		4,00	4,60	2,00	4,00	3,80	1,60		
13 <i>Glomus clavisporum</i>		3,20	0,40	0,40		0,20			
14 <i>Glomus glomerulatum</i>		2,20	0,60	1,40	3,40				
15 <i>Glomus macrocarpum</i>		151,40	119,00	115,60	22,00	37,80	7,60		
16 <i>Rhizoglomus microaggregatum</i>		5,60	5,80	4,20	0,20	1,40	0,20		
17 <i>Glomus multicaule</i> *		0,60		0,20					
18 <i>Glomus sp.1</i> *		0,60	0,20						
19 <i>Glomus sp2</i> **					1,60				
20 <i>Racocetra persica</i>		0,60		0,20	0,20	2,40	1,00		
21 <i>Racocetra fulgida</i> *		0,20		0,20					
22 <i>Rhizophagus fasciculatus</i>		2,60	7,60	9,60	1,60	5,60	3,00		
23 <i>Rhizophagus intraradices</i>		33,40	77,80	93,60	15,60	19,40	22,20		
24 <i>Scutellospora calospora</i> *				0,40					
25 <i>Scutellospora scutata</i> *			0,20						
26 <i>Scutellospora sp</i> *				0,40					
27 <i>Scutellospora sp2</i> *		0,20	0,20						
28 <i>Scutellospora sp3</i> *				0,20					
29 morfoespécie não identificada 1		0,60	1,80	2,20	0,20	0,20	0,20		
30 morfoespécie não identificada 2*				2,60					
Células auxiliares de <i>Gigaspora sp</i>		2,60	2,20	4,80		0,20	0,20		
Células auxiliares de <i>R. persica</i>		0,80							
Células auxiliares de <i>Scutellospora sp</i>		0,20							
Esporocarpo <i>D. tortuosa</i>		1,60	1,80		0,40		0,20		
Esporocarpo <i>G. macrocarpum</i>		6,00	0,20	0,20	0,60		0,20		
Esporocarpo <i>Glomus sp</i>		0,40							
Esporocarpo <i>R. intraradices</i>		16,80	0,40			0,22	0,45		

**Species observed only in the Galpão area. *Species observed exclusively in the B. do Lobo area. Note: *Rhizoglomus* and *Rhizophagus* are synonyms of the same genus.

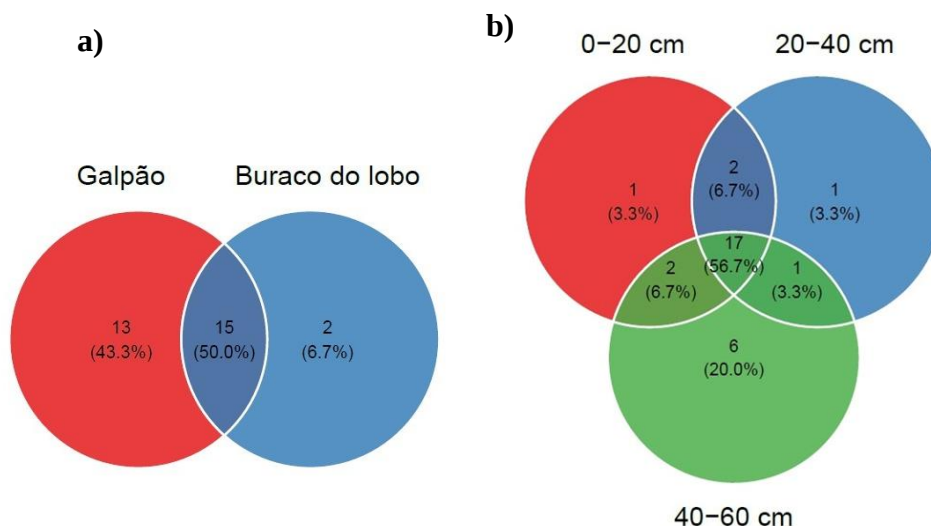


Fig.5. Venn diagram comparing unique and shared arbuscular mycorrhizal fungi species by coffee area (a) and depth (b).

Relative abundance, dominance, and richness of AMF morphospecies

The highest relative abundances in the lower productivity field (Galpão) were found for the morphospecies *Sieverdingia tortuosa*, *Glomus macrocarpum* (0-20 and 20-40 cm), and *Rhizophagus intraradices* (20-40 and 40-60 cm) (Figure 6a). A similar pattern was observed in the higher productivity field, except at the 20-40 and 40-60 cm depths, where the relative abundance of *Acaulospora scrobiculata* and *Rhizophagus intraradices* exceeded that of *Glomus macrocarpum* (Figure 6a).

The chemical, physical, and biological soil variables influencing the composition of AMF species with an average relative abundance greater than 1% in B. do Lobo were soil organic matter (SOM), clay content (Clay), total glomaline-related soil protein, and easily extractable glomaline (T-GRSP and EE-GRSP). In Galpão, the number of spores was the most influential variable (Figure 6b). Regarding the less abundant species, i.e., those with an average relative abundance less than 1% (Figure 7), in the lower productivity field (Galpão), *Acaulospora tuberculata* was the most prominent species at depths of 20-40 and 40-60 cm. In B. do Lobo, at these same depths, the species with the highest abundance was *Racocetra persica* (Figure 7a). Additionally, the biological variable that significantly influenced the AMF species composition in the higher productivity field (B. do Lobo) was EE-GRSP, while in Galpão, the species composition was influenced by the number of spores and pH (Figure 7b).

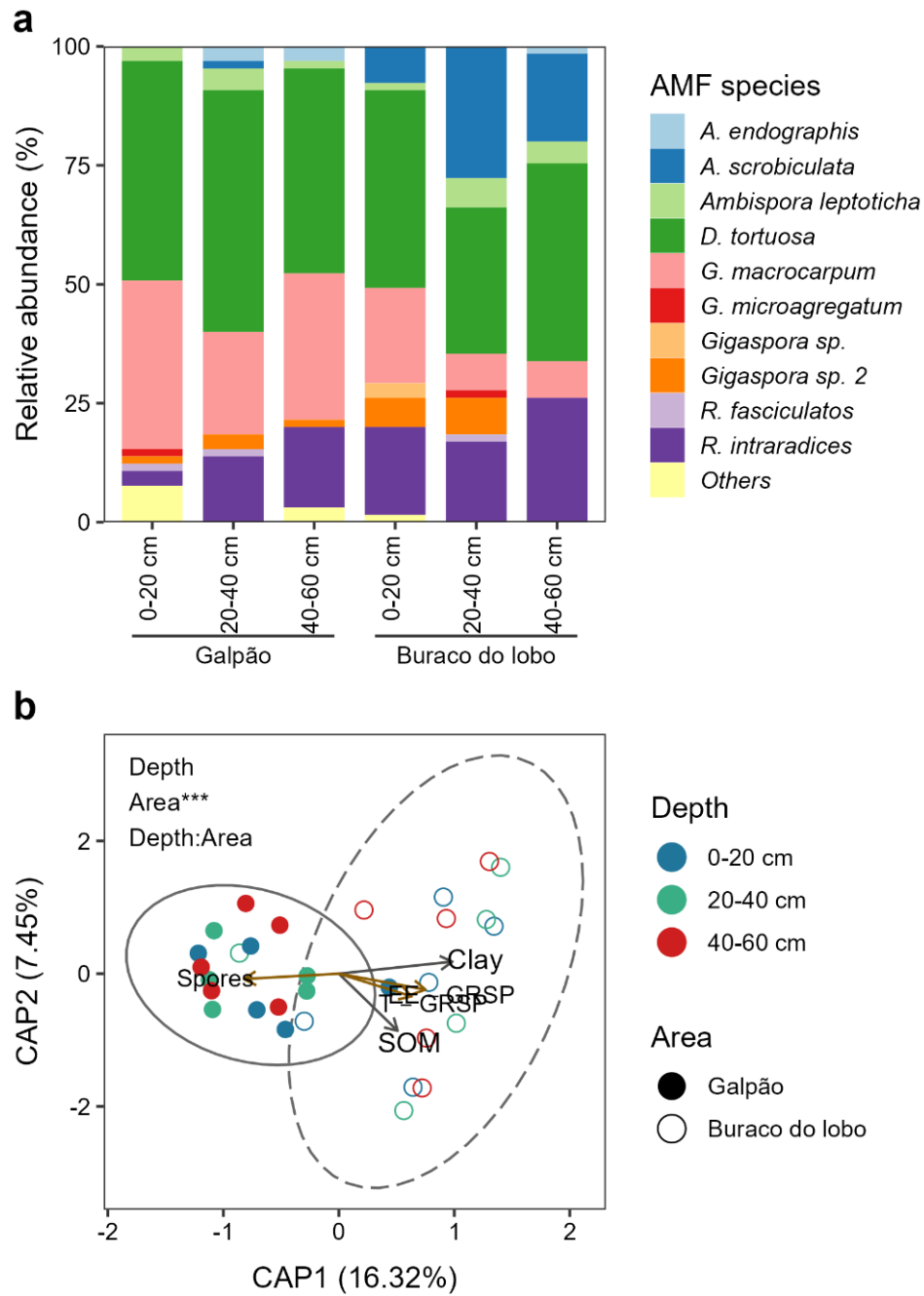


Fig.6. Relative abundance (a) and distance-based redundancy analysis (b) for the effects of different soil depths on the composition of abundant arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) species (mean relative abundance > 1%) in two coffee plantations. * $p < 0.001$.

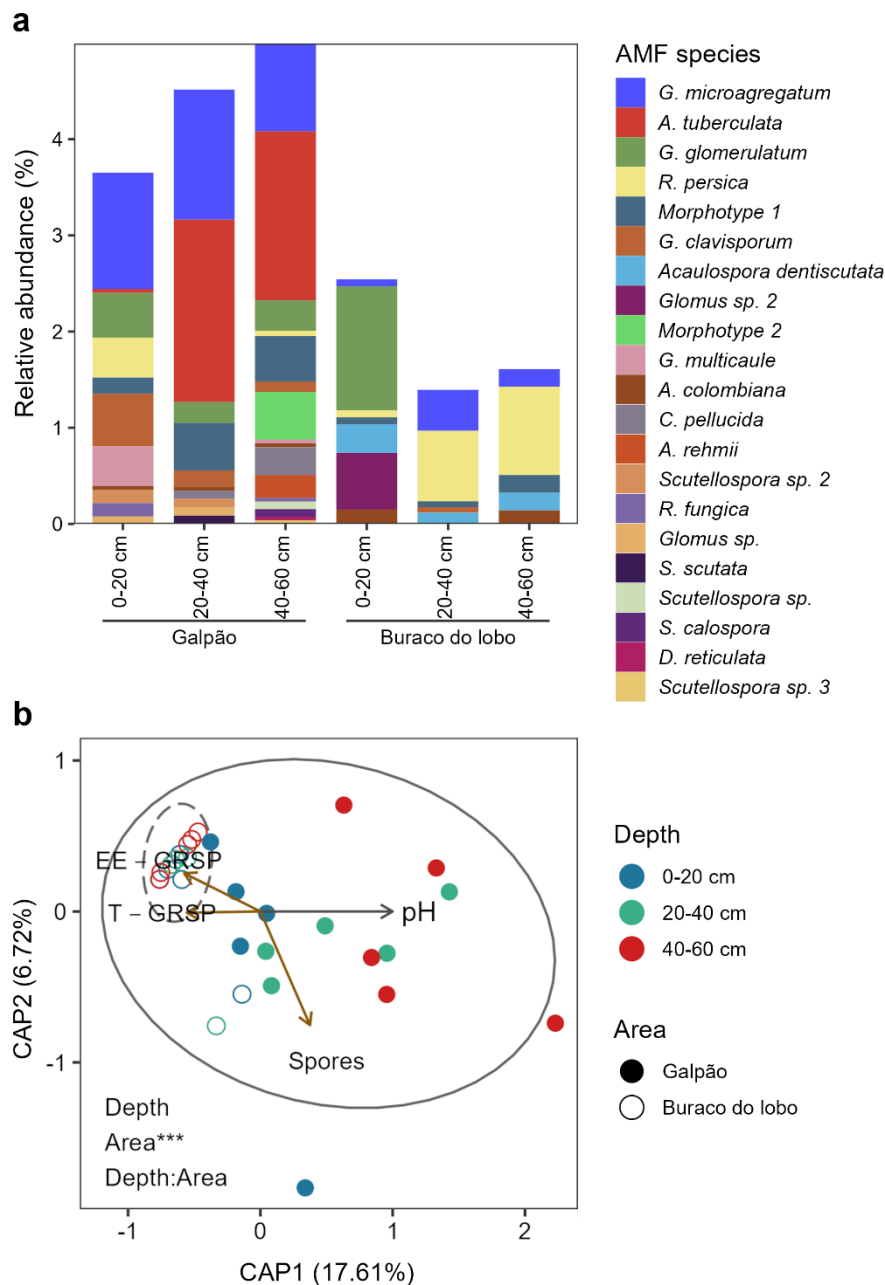


Fig.7. Relative abundance (a) and distance-based redundancy analysis (b) for the effects of different soil depths on the composition of rare arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) species (mean relative abundance < 1%) in two coffee plantations. * $p < 0.001$.

Among the high and low productivity plots, species richness differed at the depths of 20-40 cm and 40-60 cm, being lower in B. do Lobo (Table 3). As for species dominance, no differences were observed between the plots or between depths. Rarefaction was performed to normalize the data before calculating alpha diversity (Figure 8).

Table 3. Predicted alpha diversity values ($\pm$ SE) using Hill numbers for total species = richness ($q = 0$), typical species ($q = 1$), and dominant species ($q = 2$) at different soil depths for two coffee plantations.

Area	Depths	$q = 0$	$q = 1$	$q = 2$
Galpão	0-20 cm	6.49 ± 0.52 Ab	4.97 ± 1.02 Aa	3.84 ± 0.92 Aa
	20-40 cm	7.57 ± 0.6 Aab	5.94 ± 1.02 Aa	4.67 ± 0.92 Aa
	40-60 cm	8.62 ± 0.69 Aa	7.04 ± 1.02 Aa	5.75 ± 0.92 Aa
Buraco do lobo	0-20 cm	6.61 ± 0.53 Aa	5.13 ± 1.02 Aa	4.17 ± 0.92 Aa
	20-40 cm	5.93 ± 0.47 Ba	4.98 ± 1.02 Aa	4.06 ± 0.92 Aa
	40-60 cm	5.76 ± 0.46 Ba	4.75 ± 1.02 Aa	3.97 ± 0.92 Aa

SE denotes the standard error of the mean. In the same row, different lowercase letters indicate significant differences ($p < 0.05$) between depths within the same coffee plantation, while different uppercase letters indicate significant differences ($p < 0.05$) for the same depth between coffee plantations according to Tukey's test.

Rarefaction Curve for the Number of AMF Morphospecies

The rarefaction curves for arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) species, stratified by soil depth for both Galpão and B. do Lobo, mostly did not reach a plateau (Figure 8). This indicates that a larger number of soil samples would be required to reach a plateau and thereby more comprehensively capture species richness. However, species identification using the morphological method, as described and executed in this study, is already extremely laborious. Therefore, increasing the amount of soil could make this assessment technically and analytically unfeasible.

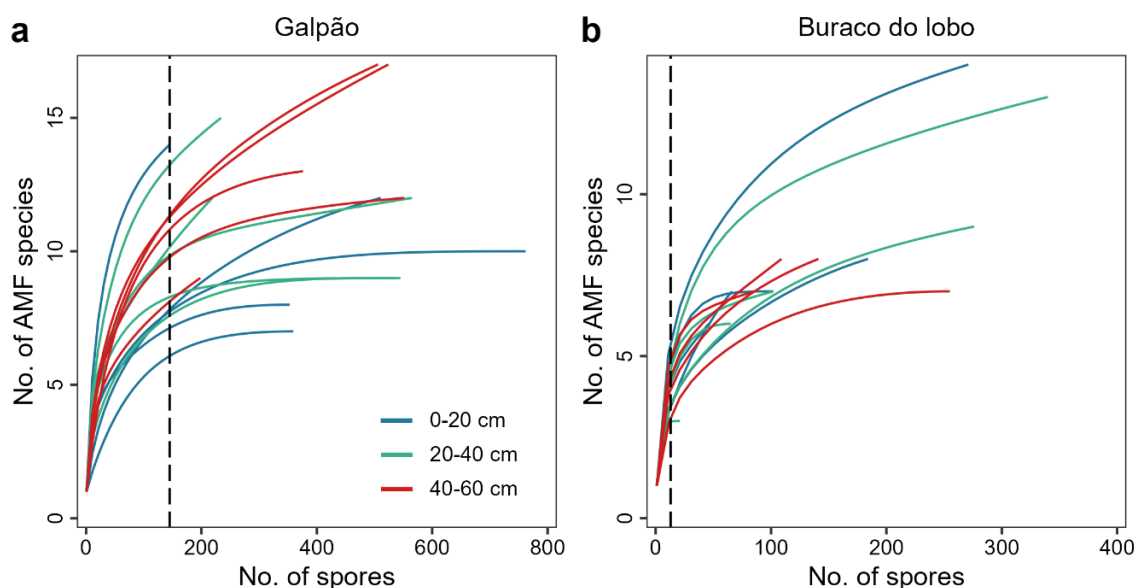


Fig.8. Rarefaction curves for the number of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) species stratified by soil depth in coffee plantations Galpão (a) and Buraco do Lobo (b). The dashed line indicates the lowest species richness. Each line represents a replicate of the treatments.

Discussion

Density and Diversity (Dominance, Richness, etc.) of AMF Morphospecies in Coffee Plantations with Lower and Higher Productivity

In this study, we evaluated Arbuscular Mycorrhizal Fungi (AMF) communities using morphological methods in two high-yield coffee plantations. These plots shared the same management practices, soil type, spacing, planting date, and cultivar (Table 1). Additionally, phosphorus, organic matter, cation exchange capacity (CEC), and calcium levels did not differ statistically, as detailed in Table 2. However, there were variations in productivity, with the ‘B. do Lobo’ plot showing higher productivity over a 4-year period.

It is crucial to note that Brazil has experienced a significant increase in coffee sack prices over the past 10 years, primarily due to climatic variations affecting international prices. As the world's largest coffee producer (CONAB, 2023), understanding the behavior of AMF communities in these plots is essential, given the role of these microorganisms in coffee productivity, as evidenced by previous studies (Siqueira et al., 1993, 1998). Furthermore, the scarcity of studies on the ecological aspects of AMF related to coffee productivity (Arias et al., 2012; Cardoso et al., 2003; Muleta et al., 2007) and at

different soil depths (Cardoso et al., 2003; Cogo et al., 2020; Prates et al., 2021) underscores the relevance of this work in addressing significant research gaps.

This is the second study conducted at different soil depths in coffee plantations with morphological identification of AMF at the species level, the first being carried out by Cogo et al. (2020). Additionally, among the four studies conducted in coffee areas at different depths (Cardoso et al., 2003; Cogo et al., 2020; Muleta et al., 2008; Prates et al., 2021), this is the first to examine the relationship between AMF communities and soil penetration resistance, T-GRSP, and soil fertility, including micronutrients. Among the four cited studies, three were conducted in Minas Gerais, Brazil, in Oxisols (Cardoso et al., 2003; Cogo et al., 2020; Prates et al., 2021).

Although our study did not observe differences in spore density at different depths, Cardoso et al. (2003), when evaluating spore density at depths of 0-1, 2-3, 5-7.5, and 10-15 cm in agroforestry and coffee monoculture systems, found that spore density was relatively low in the deeper soil layers. Cogo et al. (2020), when assessing the effect of gypsum application on AMF communities at depths of 0-20, 20-40, and 40-60 cm in typical dystrophic red Oxisols under conventional coffee systems, also did not observe significant differences in the treatment without gypsum application, with spore density varying between 24 and 84 spores per dm³.

The average number of spores observed in the higher productivity plot (B. do Lobo) was about three times lower than in the Galpão (Figure 3c). This discrepancy may have been caused by a combination of several factors affecting AMF sporulation, such as available phosphorus levels, organic matter, season, moisture, plant species, clay content, AMF species, and pH (Jamiołkowska et al., 2018; Silva-Flores et al., 2019; Smith & Read, 2008), among others. Thus, this difference in spore density may be attributed to the more acidic pH present in B. do Lobo compared to Galpão (Table 2), as spore germination and distribution are affected by this characteristic (Davison et al., 2021; Green et al., 1976; Jamiołkowska et al., 2018; Porter et al., 1987). Soils with neutral pH (around 6.5) tend to have a higher number of spores compared to soils with lower pH, such as pH 5.5. This difference becomes even more pronounced in strongly acidic soils, below 4.5 (Jamiołkowska et al., 2018). However, despite the higher clay content in B. do Lobo (Table 2) compared to Galpão, this did not result in an increase in spore number. This result contradicts the observations of Silva-Flores et al. (2019), who analyzed the effect of soil physical-chemical factors on AMF spore density in two sclerophyllous forests in the Chilean ecosystem.

Additionally, it was found that Galpão had lower moisture at all depths, which may have also favored sporulation. There were no significant differences in calcium and magnesium levels, except for magnesium at the 0-20 cm depth. However, high phosphorus (P) levels can negatively affect spore density, as observed by Anderson et al. (1984). Although the available P and P-rem values were not considered high for coffee cultivation in tropical soils with high clay percentages, these authors observed that, in a nutrient and soil moisture gradient, AMF spore density had a negative relationship with the availability of calcium, magnesium, phosphorus, and soil moisture. It is important to highlight that under extreme conditions, AMF biological activity and spore density may be restricted (Jamiołkowska et al., 2018; Oehl et al., 2003).

Regarding productivity, the V% values (a measure of soil fertility and its ability to supply cationic nutrients to plants) were considered average in the lower productivity plot and twice as high as in the higher productivity plot, which had a low V%. A low V% can increase the presence of acidic cations, such as aluminum (also higher in the higher productivity plot, as shown in Table 2) and hydrogen, which can impair root growth and reduce nutrient uptake (Alvarez et al., 1999). However, the detrimental effect of low V% was not observed in the productivity of the B. do Lobo plot, which may have been mitigated due to the higher AMF colonization (Figure 4).

The number of AMF morphospecies recorded in the coffee cultivation in this study was 30 (Table 3). Another study conducted in Araponga, Minas Gerais, Brazil, at different locations (forest, coffee plantations under conventional and agroecological management systems) at the depth of 0-20 cm, identified a total of 42 AMF morphospecies (Prates Júnior et al., 2019). However, when considering only conventional management, the authors found the same number of species (30) as observed in this study, although the study analyzed 100 ml of soil, double the soil analyzed here, with larger samples potentially increasing species occurrence.

The predominant genera in the coffee plantations were, in descending order, *Glomus*, *Acaulospora*, and *Scutellospora*. These results support the conclusions of Cogo et al. (2017) regarding the diversity of AMF in coffee cultivation across 73 studies, of which only 2 examined different depths (Cardoso et al., 2003; Muleta et al., 2008). These authors identified 70 AMF species associated with coffee plants, with the most common genera being *Glomus* (22 species), followed by *Acaulospora* (18 species), and *Scutellospora* (7 species). Additionally, the higher prevalence of *Glomus* and

Acaulospora can be attributed to their ability to produce spores more quickly compared to genera such as *Gigaspora* and *Scutellospora* (Bever et al., 1996). This fact may help explain the higher number of spores observed in the lower productivity plot (Galpão) (Figure 3c), as these genera were more represented at different depths in this area compared to the higher productivity plot, except for *Acaulospora scrobiculata* (Table 3, Figure 6a).

Regarding the distribution of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) at different soil depths (Figure 5; Table 3), some species were found at all depths, demonstrating a generalist behavior. Examples include *Acaulospora scrobiculata*, *Rhizophagus intraradices*, and *Rhizoglyphus microaggregatum*. These species were also classified as generalists at varying depths (0-10, 10-20, 20-30, and 30-40 cm) by Shukla and Anuradha (2013) in two medicinal plant species (*Withania somnifera* and *Ocimum sanctum*) in India. In coffee cultivation, *Acaulospora* and *Glomus* were found to be dominant at the depth of 0-30 cm, reinforcing the generalist nature of these genera as observed by Muleta et al. (2008).

Species such as *Scutellospora* sp3, *Scutellospora* sp, *Scutellospora scutata*, *Scutellospora calospora*, *Glomus* sp2, *Dentiscutata reticulata*, *Cetraspora pellucida*, *Acaulospora rehmanii*, and morphospecies 2 were exclusively identified in soil layers below 20 cm. This highlights the importance of evaluating greater soil depths, as restricting sampling to 0-20 cm might overlook these species. For instance, *Scutellospora calospora* exhibited increased distribution with greater soil depth (0-70 cm) in a study of AMF structure across different soil depths in agroecosystems managed both extensively and intensively (corn, grape, and pasture) (Oehl et al., 2005). Similarly, this study identified species like *Racocetra persica* and *Acaulospora tuberculata* at deeper depths (Figure 7a).

The presence of AMF spores at greater depths can be attributed to the fact that some species occupy preferred niches (Cardoso et al., 2003; Oehl et al., 2005; Prates et al., 2021).

Glomalin Concentrations and Mycorrhizal Root Colonization

Glomalin is a mixture of humic substances and heat-stable glycoproteins, primarily derived from arbuscular mycorrhizal fungi (AMF). It can constitute a significant portion of the soil protein content (GRSP), which is crucial for ecosystem

dynamics due to its role as a carbon reservoir and in soil aggregation, representing approximately 30% of the total soil carbon content (Nichols, 2004).

Higher concentrations of total soil protein related to glomalin (T-GRSP) (Figure 3b) in the 0-20 cm layer and easily extractable soil protein related to glomalin (EE-GRSP) (Figure 3a) at all depths in the B. do Lobo plantation possibly contributed to its greater productivity. Glomalin is associated with increased soil capacity to retain nutrients and water and acts as a binding agent helping to form and stabilize soil aggregates, thereby enhancing plant nutrition and, consequently, yield (Nichols, 2004; Gałazka and Gawryjolek, 2015). Additionally, the higher mycorrhizal colonization in B. do Lobo helps explain the greater accumulation of GRSP in the 0-20 cm layer (Figure 4). GRSP concentrations tend to decrease with the density of AMF hyphae (Gao et al., 2019; Steinberg and Rillig, 2003). Furthermore, GRSP can be used as a tool to quantify AMF colonization (Rosier et al., 2008).

Regarding the presence of GRSP at different depths (Figure 3a and b), no significant differences were identified between the plantations. However, Wu et al. (2012) observed that GRSP concentration decreases with increasing depth (0-40 cm) in the rhizosphere of a *Citrus unshiu* orchard. On the other hand, Cogo et al. (2020) found a progressive increase in EE-GRSP with depth when evaluating high doses of gypsum on the mycorrhizal community and coffee productivity at different depths (0-20, 20-40, and 40-60 cm), with a negative impact on glomalin levels and productivity due to higher gypsum doses.

Conclusions

The density of spores and species diversity at various soil depths did not show a direct correlation with higher coffee productivity. However, glomalins related to soil (GRSPs) in the 0-20 cm layer, EE-GRSP across all depths, and root mycorrhizal colonization displayed a positive correlation with coffee productivity. Six AMF species (*Cetraspora pellucida*, *Dentiscutata reticulata*, *Glomus* sp2, *Scutellospora calospora*, *Scutellospora* sp., and an unidentified morphospecies) were exclusively found at depths of 0-40 cm, indicating a specific richness in deeper soil layers for coffee cultivation. Additionally, the AMF community was influenced by clay content, soil organic matter (SOM), effective cation exchange capacity, and spore density.

References

- Alberdi, A., Gilbert, P.T.M. (2019). hilldiv: an R package for the integral analysis of diversity based on Hill numbers. bioRxiv.
<https://doi.org/https://www.biorxiv.org/content/10.1101/545665v1>
- Alvarez, V. H.; Fonseca, DM Da (1999). Definição de doses de fósforo para determinação da capacidade máxima de adsorção de fosfatos e para ensaios em casa de vegetação. *Revista Brasileira de Ciência do solo*, v. 14, n. 1, p. 49-55.
- Alvarez, V. V. H. et al. (1999). Interpretação dos resultados das análises de solos. Recomendações para o uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais-5a aproximação. Viçosa, MG: Comissão de fertilidade do solo do estado de Minas Gerais, p. 25-32.
- Anderson, M.J. (2001). A new method for non-parametric multivariate analysis of variance. *Austral Ecol* 26, 32–46. <https://doi.org/10.1046/j.1442-9993.2001.01070.x>
- Anderson, RC, Liberta, AE & Dickman, LA (1984). Interaction of vascular plants and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi across a soil moisture-nutrient gradient. *Oecologia*, v. 64, p. 111-117. <https://doi.org/10.1007/BF00377552>
- Angnes, Graciele et al. (2021). Energy efficiency of variable rate fertilizer application in coffee production in Brazil. *AgriEngineering*, v. 3, n. 4, p. 815-826.
<https://doi.org/10.3390/agriengineering3040051>
- Arias, R.M., Heredia-Abarca, G., Sosa, V.J. et al.(2012) Diversity and abundance of arbuscular mycorrhizal fungi spores under different coffee production systems and in a tropical montane cloud forest patch in Veracruz, Mexico. *Agroforest Syst* v.85, p. 179–193.
<https://doi.org/10.1007/s10457-011-9414-3>
- Bates, D., Mächler, M., Bolker, B., Walker, S. (2015). Fitting Linear Mixed-Effects Models Using lme4. *J Stat Softw* 67. <https://doi.org/10.18637/jss.v067.i01>
- Benjamini, Y., Hochberg, Y. (1995). Controlling the False Discovery Rate: A Practical and Powerful Approach to Multiple Testing. *Journal of the Royal Statistical Society: Series B (Methodological)* 57, 289–300.<https://doi.org/10.1111/j.2517-6161.1995.tb02031.x>
- Bever, James D. et al.(1996) Host-dependent sporulation and species diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in a mown grassland. *Journal of ecology*, p. 71 82.
<https://doi.org/10.2307/2261701>
- Bethlenfalvay, G.J., Linderman, R.G., (1992). Mycorrhizae in sustainable agriculture: proceedings of a symposium sponsored by Divisions S-3 and S-4 of the Soil Science Society of America, Division A-8 of the American Society of Agronomy, and Division C-2 of the Crop Science Society of America in Denv. American Society of Agronomy.
- Blaszkowski, Janusz. "Glomeromycota." 2024. Accessed May 26, 2024.
http://www.zor.zut.edu.pl/Glomeromycota_2/Home.html.
- Borcard, D., Gillet, F., Legendre, P. (2018). Numerical Ecology with R, 2nd ed, Use R! Springer International Publishing, Cham. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-71404-2>

- Bouyoucos, George John. (1951) A recalibration of the hydrometer method for making mechanical analysis of soils 1. *Agronomy journal*, v. 43, n. 9, p. 434-438.
- Bradford DMM. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem*. 72:248–254
- Brundrett, Mark et al. (1996) Working with mycorrhizas in forestry and agriculture. Canberra: Australian Centre for International Agricultural Research.
- B. Van Raij, et al. (2001) Análise química para avaliação da fertilidade de solos tropicais Instituto Agrônomo de Campinas, Campinas, p. 284
- Cameron, E.S., Schmidt, P.J., Tremblay, B.J.-M., Emelko, M.B. (2021). Enhancing diversity analysis by repeatedly rarefying next-generation sequencing data describing microbial communities. *Sci Rep* 11, 22302. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-01636-1>
- Cardoso, Irene M. et al. (2003). Distribution of mycorrhizal fungal spores in soils under agroforestry and monocultural coffee systems in Brazil. *Agroforestry systems*, v. 58, n. 1, p. 33-43. <https://doi.org/10.1023/A:1025479017393>
- Cogo, F.D. et al. (2017) Arbuscular mycorrhiza in *Coffea arabica* L.: review and meta-analyses. 2017. URI: <http://hdl.handle.net/123456789/9133>
- Cogo, F.D., Saggin Júnior, O.J., Guimarães, P.T.G., Siqueira, J.O., Carneiro, M.A.C. (2020). High rates of agricultural gypsum affect the arbuscular mycorrhiza fungal community and coffee yield. *Bragantia* v. 79, p. 612-622. <https://doi.org/10.1590/1678-4499.20200014>
- Conab - Companhia Nacional de Abastecimento. (2021). Monitoring the Brazilian coffee crop. Brasília: Conab, v. 8. Available at: <https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/cafe>. Acessado em: 30 de outubro de 2022
- Cooxupé, cotações do café- novembro (2021) Disponível em: <https://portalweb.cooxupe.com.br:9080/portal/precohistoricocafe.jsp>. Acesso em 02 novembro de 2023.
- Costa, H.A.O., Stürmer, S.L., Ragonezi, C., Graziotti, P.H., Graziotti, D.C.F.S., Silva, E. de B., (2016). Species richness and root colonization of arbuscular mycorrhizal fungi in *Syngonanthus elegans*, an endemic and threatened species from the Cerrado domain in Brazil. *Ciência e Agrotecnologia* 40, 326–336.
- Costa, Bruna De Ribeiro. Brazilian specialty coffee scenario (2020). In: *Coffee Consumption and Industry Strategies in Brazil*. Woodhead Publishing. p. 51-64.
- da Silva Aragão, O.O., de Oliveira-Longatti, S.M., de Castro Caputo, P.S., Rufini, M., Carvalho, G.R., de Carvalho, T.S., de Souza Moreira, F.M., (2020). Microbiological indicators of soil quality are related to greater coffee yield in the Brazilian Cerrado.
- Davison, J., Moora, M., Semchenko, M., Adenan, S. B., Ahmed, T., Akhmetzhanova, A. A., ... & Öpik, M. (2021). Temperature and pH define the realised niche space of arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytologist*, 231(2), 763-776. DOI: <https://doi.org/10.1111/nph.17240>
- de Oliveira, I.P., Oliveira, L.C., de Mo, C.S.F.T., (2012). Cultura de café: histórico, classificação botânica e fases de crescimento. *Rev. Eletrônica Fac. Montes Belos* 5.

- Dormann, C.F. et al. (2013). Collinearity: a review of methods to deal with it and a simulation study evaluating their performance. *Ecography*, v. 36, n. 1, p. 27–46. DOI: [10.1111/j.1600-0587.2012.07348.x](https://doi.org/10.1111/j.1600-0587.2012.07348.x).
- Fernandes, R.A., Ferreira, D.A., Saggin-Junior, O.J., Stürmer, S.L., Paulino, H.B., Siqueira, J.O., Carneiro, M.A.C. (2016). Occurrence and species richness of mycorrhizal fungi in soil under different land use. *Can. J. Soil Sci.* 96, 271–280.
- Galazka, Anna; Gawryjolek, Karolina (2015). Glomalin-soil glicoprotein produced by arbuscular mycorrhizal fungus. *Postepy Mikrobiologii*, v. 54, n. 4, p. 331-343.
- Gao, Wei-Qin et al. (2019) Functions and application of glomalin-related soil proteins: a review. *Sains Malaysiana*, v. 48, n. 1, p. 111-119.
- Giovannetti, Mil; Mosse, B. (1980). An evaluation of techniques for measuring vesicular arbuscular mycorrhizal infection in roots. *New phytologist*, p. 489-500.
- Green, N. E., Graham, S. O., & Schenck, N. C. (1976). The Influence of pH on the Germination of Vesicular-Arbuscular Mycorrhizal Spores. *Mycologia*, 68(4), 929–934. DOI: <https://doi.org/10.1080/00275514.1976.12019969>
- Haddad, Fernando et al. (2009). Biological control of coffee rust by antagonistic bacteria under field conditions in Brazil. *Biological Control*, v. 49, n. 2, p. 114-119.
- Hill, M.O. (1973). Diversity and Evenness: A Unifying Notation and Its Conequences. *Ecology*, v. 54, p. 427–432. DOI: [10.2307/1934352](https://doi.org/10.2307/1934352)
- INVAM. "Species Descriptions." Accessed May 26, 2024. <https://invam.ku.edu/species-descriptions>.
- Jamiołkowska, Agnieszka et al. Impact of abiotic factors on development of the community of arbuscular mycorrhizal fungi in the soil: a Review. *International Agrophysics*, v. 32, n. 1, p. 133-140. DOI: 10.1515/intag-2016-0090
- Jost, L. (2006) Entropy and diversity. *Oikos*, v. 113, p. 363–375. DOI: [10.1111/j.2006.0030-1299.14714.x](https://doi.org/10.1111/j.2006.0030-1299.14714.x).
- Koske, R. E.; Gemma, J. N. (1989). A modified procedure for staining roots to detect VA mycorrhizas. *Mycological research*, v. 92, n. 4, p. 486.
- Kiers, T., Sheldrake, M. (2021). A powerful and underappreciated ally in the climate crisis? Fungi. *The Guardian*. Disponível em https://www.theguardian.com/commentisfree/2021/nov/30/fungi-climate-crisis-ally?CMP=Share_iOSApp_Other. Acesso em : 04 de fevereiro 2022.
- Latini, Anderson Oliveira et al. (2020). Reconciling coffee productivity and natural vegetation conservation in an agroecosystem landscape in Brazil. *Journal for Nature Conservation*, v. 57, p. 125902. <https://doi.org/10.1016/j.jnc.2020.125902>
- Lenth, R. V., Buerkner, P., Herve, M., Love, J., Riebl, H., Singmann, H. (2021). Estimated Marginal Means, aka Least-Squares Means. *American Statistician*.

- MAP: Ministério da Agricultura e Pecuária -Governo do Brasil. (2023). Brasil é o maior produtor mundial e o segundo maior consumidor de café. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/noticias/brasil-e-o-maior-produtor-mundial-e-o-segundo-maior-consumidor-de-cafe>. Acessado em: 18 de dezembro de 2022.
- McMurdie, P. J., Holmes, S. (2013). Phyloseq: An R Package for Reproducible Interactive Analysis and Graphics of Microbiome Census Data. *PLoS One*, 8. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0061217>
- Moreira, F. D. S., ; Siqueira, J. O. (2006). Microbiologia e bioquímica do solo. Editora. UFLA-2. Ed. Atual e ampli-Lavras 729p.
- Muleta, D., Assefa, F., Nemomissa, S. et al. (2008). Distribution of arbuscular mycorrhizal fungi spores in soils of smallholder agroforestry and monocultural coffee systems in southwestern Ethiopia. *Biol Fertil Soils* 44, 653–659. <https://doi.org/10.1007/s00374-007-0261-3>
- Muleta, Diriba et al. (2007). Composition of coffee shade tree species and density of indigenous arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) spores in Bonga natural coffee forest, southwestern Ethiopia. *Forest ecology and management*, v. 241, n. 1-3, p. 145-154. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2007.01.021>
- Nichols, Kristine Ann (2003). Characterization of glomalin, a glycoprotein produced by arbuscular mycorrhizal fungi. University of Maryland, College Park.
- Neves, Pedro Moj; Hirose, Edson. (2005). *Beauveria bassiana* strains selection for biological control of the coffee berry borer, *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Scolytidae). *Neotropical Entomology*, v. 34, n. 1, p. 77-82.
- Oehl, Fritz et al. (2003) Impact of land use intensity on the species diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in agroecosystems of Central Europe. *Applied and environmental microbiology*, v. 69, n. 5, p. 2816-2824. DOI: <https://doi.org/10.1128/AEM.69.5.2816-2824.2003>
- Oehl F, Sieverding E, Ineichen K, Ris E, Boller T, Wiemken A.(2005). Community in extensively soil and intensively different depths managed agroecosystems. *New Phytol*.165: 273–283. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2004.01235.x>
- Oksanen, J., Blanchet, F. G., Friendly, M., Kindt, R., Legendre, P., McGlinn, D., Minchin, P. R., O'Hara, R. B., Simpson, G. L., Solymos, P., Stevens, M. H. H., Szoecs, E., & Wagner, H. (2022). *Vegan: Community Ecology Package* (2.6.4; p. 298). <http://www2.uaem.mx/r-mirror/web/packages/vegan/vignettes/diversity-vegan.pdf>
- Pagano, M.C., Scotti, M.R., Cabello, M.N. (2009). Effect of the inoculation and distribution of mycorrhizae in *Plathymenia reticulata* Benth under monoculture and mixed plantation in Brazil. *New For*. 38, 197–214.
- Porter, W. M., Robson, A. D., & Abbott, L. K. (1987). Factors Controlling the Distribution of Vesicular-Arbuscular Mycorrhizal Fungi in Relation to Soil pH. *Journal of Applied Ecology*, 24(2), 663–672. DOI: <https://doi.org/10.2307/2403901>
- Pouyu-Rojas, E., Siqueira, J.O., Santos, J.G.D. (2006). Compatibilidade simbiótica de fungos micorrízicos arbusculares com espécies arbóreas tropicais. *Rev. Bras. Ciência do Solo* 30, 413–424.

Prates Júnior, P., Moreira, B.C., da Silva, M. de C.S., Veloso, T.G.R., Stürmer, S.L., Fernandes, R.B.A., Mendonça, E. de S., Kasuya, M.C.M.(2019). Agroecological coffee management increases arbuscular mycorrhizal fungi diversity. PLoS One 14, e0209093. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0209093>

Prates, P., Moreira, S.L.S., Jordão, T.C., Ngolo, A.O., Moreira, B.C., Santos, R.H.S., Fernandes, R.B.A., Kasuya, M.C.M.(2021). Structure of AMF Community in an Agroforestry System of Coffee and Macauba Palm. Floresta e Ambient. Doi: 28. <https://doi.org/10.1590/2179-8087-FLORAM-2021-0013>

R Core Team (2020). R: A Language and Environment for Statistical Computing.

Read, D.J. (1992). The mycorrhizal mycelium. Mycorrhizal Funct. Chapman Hall, New York 102–133.

Rillig, Matthias C.; Steinberg, Peter D. (2002). Glomalin production by an arbuscular mycorrhizal fungus: a mechanism of habitat modification?. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 34, n. 9, p. 1371-1374.

Rosier, Carl L. et al. (2008). Intraradical protein and glomalin as a tool for quantifying arbuscular mycorrhizal root colonization. **Pedobiologia**, v. 52, n. 1, p. 41-50.

Ryan, M.H., Graham, J.H. (2002). Is there a role for arbuscular mycorrhizal fungi in production agriculture?. Plant and Soil 244, 263–271. <https://doi.org/10.1023/A:1020207631893>

Santos, Vagner Piedade; Ribeiro, Priscilla Cristina Cabral; Rodrigues, Luciano Brito (2023). Sustainability assessment of coffee production in Brazil. Environmental Science and Pollution Research, v. 30, n. 4, p. 11099-11118. <https://doi.org/10.1007/s11356-022-22922-z>

Shukla, A.; Vyas, D.; Anuradha, Jha. (2013). Soil depth: an overriding factor for distribution of arbuscular mycorrhizal fungi. Journal of soil science and plant nutrition, v. 13, n. 1, p. 23-33. <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-95162013005000003>

Siqueira, J.O., Colozzi-Filho, A., Saggin-Júnior, O.J., Guimarães, P.T.G., Oliveira, E. (1993). Crescimento de mudas e produção do cafeeiro sob influência de fungos micorrízicos e superfosfato. Rev. Bras. Cienc. do Solo v. 17 p. 53-60.

Siqueira, J.O., Saggin-Júnior, O.J., Flores-Aylas, W.W., Guimarães, P.T.G. (1998). Arbuscular mycorrhizal inoculation and superphosphate application influence plant development and yield of coffee in Brazil. Mycorrhiza 7, 293–300.

Silva-Flores, P., Bueno, CG, Neira, J. et al. Fatores que afetam a densidade de esporos de fungos micorrízicos arbusculares no ecossistema chileno do tipo mediterrâneo. J Soil Sci Plant Nutr 19 , 42–50 (2019). DOI: <https://doi.org/10.1007/s42729-018-0004-6>

Silva, Lucas F.; Cortez, José G. (1998). A qualidade do café no Brasil: histórico e perspectivas.

Smith, S.E., Read, D.J. (2010). Mycorrhizal symbiosis. Academic press.

Smith SE, Read DJ (2008) Mycorrhizal symbiosis. Elsevier Ltd, London 787 p.

Sosa-Hernández, Moisés A. et al. (2018). Evidence for subsoil specialization in arbuscular mycorrhizal fungi. **Frontiers in Ecology and Evolution**, v. 6, p. 67. <https://doi.org/10.3389/fevo.2018.00067>

Stolf, Rubismar et al. (2014). Stolf impact penetrometer-computer data program in EXCEL-VBA. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, v. 38, p. 774-782.

Teixeira, A.F. dos S., Kemmelmeier, K., Marascalchi, M.N., Stürmer, S.L., Carneiro, M.A.C., Moreira, F.M. de S. (2017). Arbuscular mycorrhizal fungal communities in an iron mining area and its surroundings: Inoculum potential, density, and diversity of spores related to soil properties. *Ciência e Agrotecnologia* 41, 511–525.

Teixeira, P. C., Donagemma, G. K., Fontana, A., & Teixeira, W. G. (2017). Manual de métodos de análise de solo.

Wickham, H. (2016). *ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis*, Use R! Springer International Publishing, Cham. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-24277-4>

Wright, Sara F., Upadhyaya, Abha.(1996). Extraction of an abundant and unusual protein from soil and comparison with hyphal protein of arbuscular mycorrhizal fungi. *Soil science*, v. 161, n. 9, p. 575-586.

WU, Qiang-Sheng et al. (2012). Spatial distribution of glomalin-related soil protein and its relationships with root mycorrhization, soil aggregates, carbohydrates, activity of protease and β -glucosidase in the rhizosphere of *Citrus unshiu*. *Soil Biology and Biochemistry*, v. 45, p. 181-183. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2011.10.002>

Material Suplementar – Artigo I

Table S1. Composition, average per repetition of the abundance of spores, sporocarps, and auxiliary cells (S&AC), relative abundance (RA) of the morphospecies of AMF spores found in the study sites.

AMF spore morphospecies	Area Depths	Galpão						Buraco do lobo					
		0-20		20-40		40-60		0-20		20-40		40-60	
		E&SA	RA%	SA	RA%	SA	RA%	SA	RA%	SA	RA%	SA	RA%
1 <i>Acaulospora scrobiculata</i>		2,80	0,92	8,20	2,01	3,60	0,85	23,40	12,10	43,20	20,57	45,20	19,93
2 <i>Acaulospora tuberculata</i> *		0,20	0,04	5,00	1,83	5,60	1,75						
3 <i>Acaulospora colombiana</i>		0,20	0,04	0,20	0,04	0,20	0,04	0,40	0,14			0,20	0,14
4 <i>Acaulospora rehmi</i> *						1,20	0,24						
5 <i>Acaulospora endographis</i>		1,60	0,28	7,40	1,48	6,20	1,19	1,20	0,66	0,60	0,67	1,80	2,12
6 <i>Acaulospora denticulata</i> **								0,80	0,29	0,40	0,12	0,20	0,18
7 <i>Ambispora leptoticha</i>		7,00	2,05	24,00	4,50	10,00	1,80	0,40	0,22	8,80	3,02	6,20	4,27
				0,20	//////////0,0	1,60	0,28						
8 <i>Cetraspora pelúcida</i> *					8								
9 <i>Dentiscutata reticulata</i> *						0,20	0,04						
1		202,00	48,98	154,00	39,46	165,80	37,38	57,00	45,09	34,80	31,35	30,20	35,05
0 <i>Sieverdingia tortuosa</i>													
1		7,00	2,23	3,00	0,96	3,60	0,85	1,80	2,10	2,20	2,04	1,00	0,45
1 <i>Gigaspora sp</i>													
1		4,00	2,07	4,60	1,07	2,00	0,69	4,00	4,32	3,80	4,79	1,60	1,70
2 <i>Gigaspora sp2</i>													
1		3,20	0,49	0,40	0,17	0,40	0,10			0,20	0,06		
3 <i>Glomus clavisporum</i>													
1		2,20	0,44	0,60	0,21	1,40	0,31	3,40	1,26				
4 <i>Glomus glomerulatum</i>													
1		151,40	27,58	119,00	24,99	115,60	30,99	22,00	17,53	37,80	17,14	7,60	8,29
5 <i>Glomus macrocarpum</i>													
1		5,60	1,11	5,80	1,33	4,20	0,90	0,20	0,07	1,40	0,43	0,20	0,18
6 <i>Rhizoglomus microaggregatum</i>													

1		0,60	0,38		0,20	0,04							
7	<i>Glomus multicaule</i>												
1		0,60	0,07	0,20	0,09								
8	<i>Glomus sp.1*</i>												
1							1,60	0,58					
9	<i>Glomus sp2**</i>												
2		0,60	0,38			0,20	0,05	0,20	0,07	2,40	0,73	1,00	0,92
0	<i>Racocetra persica</i>												
2		0,20	0,13			0,20	0,04						
1	<i>Racocetra fulgida*</i>												
2		2,60	1,17	7,60	2,17	9,60	2,03	1,60	1,35	5,60	3,27	3,00	2,75
2	<i>Rhizophagus fasciculatus</i>												
2													
3	<i>Rhizophagus intraradices</i>	33,40	5,71	77,80	17,26	93,60	18,26	15,60	13,13	19,40	15,13	22,20	22,18
2													
4	<i>Scutellospora calospora*</i>					0,40	0,08						
2													
5	<i>Scutellospora scutata*</i>			0,20	0,08								
2													
6	<i>Scutellospora sp*</i>					0,40	0,08						
2													
7	<i>Scutellospora sp2*</i>	0,20	0,13	0,20	0,08								
2													
8	<i>Scutellospora sp3*</i>					0,20	0,04						
	Células auxiliares de <i>Gigaspora sp</i>	2,60	0,50	2,20	0,77	4,80	0,97			0,20	0,19	0,20	0,08
	Células auxiliares de <i>R. persica</i>	0,80	0,50										
	Células auxiliares de <i>Scutellospora sp</i>	0,20	0,13										
3													
2	morfoespécie não identificada 1	0,60	0,16	1,80	0,48	2,20	0,47	0,20	0,07	0,20	0,06	0,20	0,18
3													
3	morfoespécie não identificada 2*					2,60	0,49						
	Esporocarpo <i>D. tortuosa</i>	1,60	0,41	1,80	0,68			0,40	0,14			0,20	1,43

Esporocarpo <i>G. macrocarpum</i>	6,00	2,12	0,20	0,09	0,20	0,04	0,60	0,66		0,20	0,08
Esporocarpo <i>Glomus sp</i>	0,40	0,05									
Esporocarpo <i>R. intraradices</i>	16,80	1,96	0,40	0,17			0,60	0,22	0,60	0,45	

* Species observed only in Galpão. ** species observed exclusively in B.do Lobo.

Table S1. Summary results of LMM-based ANOVA for arbuscular mycorrhizal fungi attributes comparing the effects of different soil depths in two coffee plantations.

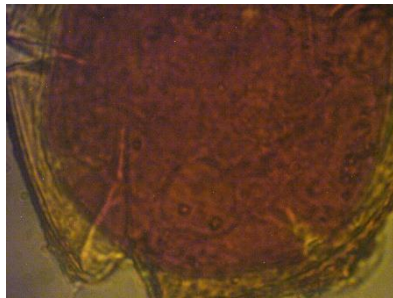
Variable	Source	SS	MS	df	<i>F</i> -value	<i>p</i> -value	Sig. code	R_m^2	R_c^2
EE-GRSP	Depth	0.05	0.03	2.00	0.31	0.73383		0.606	0.612
	Area	3.13	3.13	1.00	38.69	0.00000	***		
	Block	0.39	0.10	4.00	1.20	0.34237			
	Depth:Area	0.08	0.04	2.00	0.51	0.60598			
T-GRSP	Depth	1.21	0.60	2.00	0.29	0.75039		0.417	0.430
	Area	30.26	30.26	1.00	14.59	0.00107	**		
	Block	12.00	3.00	4.00	1.45	0.25556			
	Depth:Area	0.31	0.16	2.00	0.08	0.92773			
Spores	Depth	0.06	0.03	2.00	0.06	1.00000		0.590	0.591
	Area	14.30	14.30	1.00	29.78	0.00002	***		
	Block	5.58	1.40	4.00	2.91	0.04781	*		
	Depth:Area	0.12	0.06	2.00	0.13	0.88265			

Table S2. Summary results of PerMANOVA analysis comparing the effects of different soil depths on arbuscular mycorrhizal fungi community composition in two coffee plantations.

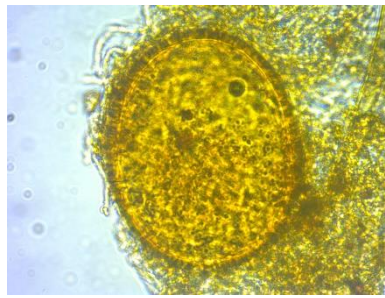
Source	Df	SS	MS	<i>F</i> -model	R^2	Adj. <i>p</i>	Sig. code
Depth	2	0.17	0.04	0.44	0.03	0.9815	
Area	1	1.59	0.29	8.16	0.24	0.0003	***
Depth:Area	2	0.12	0.03	0.31	0.02	0.9815	
Residuals	24	4.69	0.09		0.71		
Total	29	6.58			1.00		

Table S4. Results of the principal component analysis for environmental factors

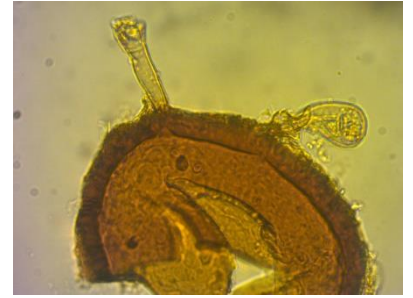
Measurements	PC1	PC2
Eigenvalue	7.99	6.05
Proportion Explained	30.73	23.28
Cumulative Proportion	30.73	54.01
Variable loadings		
pH	0.96	0.05
N	−0.26	−0.81
P	−0.08	−0.67
K ⁺	0.24	−0.48
Na ⁺	0.45	−0.30
Ca ²⁺	0.76	−0.34
Mg ²⁺	0.62	−0.38
Al ³⁺	−0.91	−0.05
H+Al	−0.87	−0.47
SB	0.85	−0.46
CEC _e	0.80	−0.50
CEC _p	−0.40	−0.86
V%	1.00	0.02
m%	−0.89	0.20
SOM	−0.17	−0.90
PRem	0.02	−0.54
Zn	−0.27	−0.78
Fe	−0.30	−0.80
Mn	0.41	−0.44
Cu	0.12	−0.38
B	0.51	−0.07
S	−0.10	0.51
Clay	−0.56	−0.16
Silt	0.40	0.23
Sand	0.39	0.04
PR	0.24	0.42
TGRSP	−0.53	−0.85
EEGRSP	−0.69	−0.72



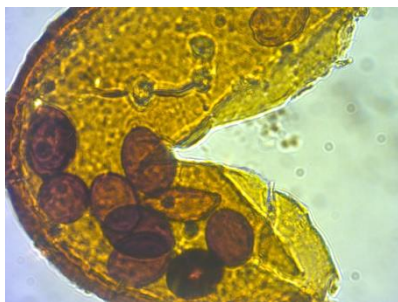
Acaulospora endographis



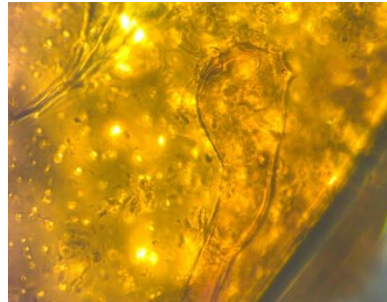
Sieverdingia tortuosa



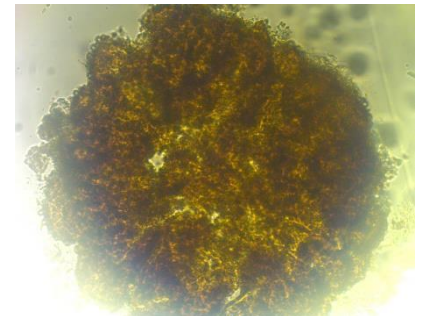
Glomus glomerulatum



Rhizoglomus microaggregatum



Gigaspora sp



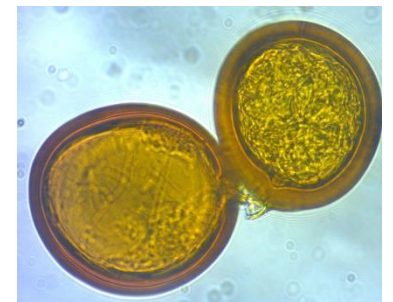
Glomus claviforme



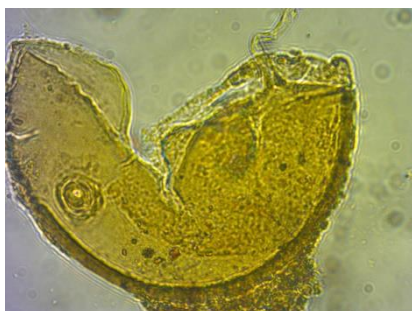
Glomus macrocarpum



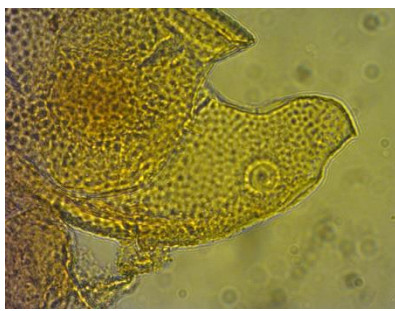
Rhizophagus intraradices



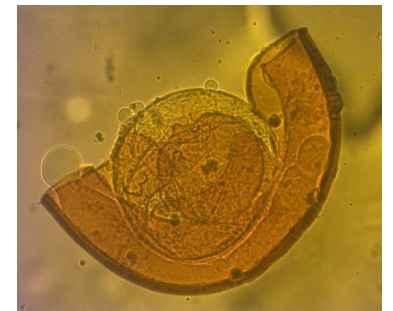
Rhizophagus fasciculatus



Acaulospora colombiana



Acaulospora scrobiculata



Racocetra persica

Fig. S1. Microscope images of some of the generalist mycorrhizal fungi species identified in both plots.

ARTIGO II – Diversidade de fungos micorrízicos arbusculares em serrapilheira e solo de talhões de café e mata adjacente no domínio Mata Atlântica
(Artigo formatado conforme as regras do periódico Mycorrhiza)

Diversidade de fungos micorrízicos arbusculares em serrapilheira e solo de talhões de café e mata adjacente no domínio Mata Atlântica

Autores: Ana Paula Valadares da Silva, Éder Rodrigues Batista, Ana Lucia Nunez Villalobos, Cândido Barreto de Novais, Orivaldo José Saggin Júnior, Teotonio Soares de Carvalho; Fatima Maria de Souza Moreira.

Afiliações: anapaulavaladaresdasilva@gmail.com; eder.pgagri@gmail.com;
ana.villalobos@estudante.ufla.br; candidobnn@yahoo.com.br;
orivaldo.saggin@embrapa.br; teotonio.carvalho@ufla.br; fmoreira@ufla.br.

Contato do autor de correspondência (fmoreira@ufla.br)

Resumo

Os Fungos Micorrízicos Arbusculares (FMA) desempenham um papel fundamental nos ecossistemas terrestres, contribuindo para o crescimento das plantas e sendo influenciados por fatores ambientais locais. No Brasil, a Mata Atlântica está sofrendo redução devido à urbanização e à agricultura, o que afeta a biodiversidade, incluindo os FMA. A fragmentação do habitat pode reduzir a diversidade desses fungos, especialmente em culturas como o café, onde são essenciais. Este estudo visa compreender como a conversão de áreas de Mata Atlântica em plantações de café afeta a densidade e diversidade de FMA no solo e na serrapilheira. Os objetivos incluem avaliar a abundância e diversidade de FMA em talhões de café e fragmentos de Mata Atlântica, considerando sazonalidade e atributos físico-químicos do solo. Coletas de solo e serrapilheira foram realizadas em transectos em quatro talhões de café e quatro fragmentos de mata em diferentes sazonalidades (seca e úmida) no município de Santo Antônio do Amparo, Minas Gerais. Foram analisados parâmetros como fertilidade do solo, densidade de esporos, identificação morfológica, riqueza de espécies e número de Hill. A conversão da mata para plantações de café teve um impacto significativo na comunidade de FMA, no solo e na serrapilheira, resultando na diminuição da densidade de esporos e diversidade de espécies. A sazonalidade, especialmente na época seca, favoreceu o aumento de esporos nos talhões de café, tanto no solo quanto na serrapilheira, mas não houve impacto significativo no solo e na serrapilheira da mata. A avaliação da diversidade de espécies na serrapilheira permitiu acessar espécies que seriam negligenciadas ao considerar apenas a composição de espécies no solo. Os teores mais elevados de fósforo, boro e argila foram os principais responsáveis pela composição da comunidade de FMA no café.

1. Introdução

Os Fungos Micorrízicos Arbusculares (FMA), do filo Glomeromycota, desempenham papéis essenciais nos ecossistemas terrestres, contribuindo significativamente para o crescimento das plantas por meio dos processos ecossistêmicos (Read, 1992; Stürmer e Kemmelmeier, 2021). A ocorrência e a diversidade de FMA não se restringe aos hospedeiros vegetais específicos, mas é influenciada por diversas condições ambientais locais, como diversidade de plantas, monocultura, pH do solo, uso da terra e fertilidade (Davison et al., 2015; Mello et al., 2012; Prates Júnior et al., 2019; Schalamuk et al., 2006; Stürmer e Kemmelmeier, 2021).

Embora os FMA apresentem distribuição cosmopolita, algumas espécies são identificadas predominantemente em determinados biomas (Stürmer e Kemmelmeier, 2021). A compreensão desses padrões de distribuição dos FMA nos diferentes biomas pode oferecer insights cruciais sobre sua participação na produtividade do ecossistema (Stürmer e Siqueira, 2008). Adicionalmente, as comunidades desses microrganismos presentes nos solos de diversas regiões geográficas, biomas e ecossistemas permanecem inexploradas (Tedersoo et al., 2014; Egan et al., 2014). Essa escassez de informações é ainda maior para as comunidades presentes na serrapilheira, camada geralmente desprezada nas amostragens de solo, o que pode revelar espécies ainda desconhecidas de FMA (Jobim et al., 2019; Kemmelmeier et al., 2022).

De acordo com Davison et al. (2015), em relação à disseminação global dos táxons FMA, destaca-se que a perda gradual de habitat e a fragmentação das paisagens podem criar barreiras de dispersão, induzidas pela atividade humana, especialmente em sistemas agrícolas. Essas barreiras impedem a chegada de fungos Glomeromycotas, essenciais para o equilíbrio do ecossistema e para a prestação de serviços ambientais, e diminuem a diversidade das comunidades de FMAs. Dessa forma, a análise da riqueza de espécies em solos nativos e cultivados torna-se essencial, contribuindo para o desenvolvimento de estratégias de conservação da biodiversidade e compreensão de como a abundância e diversidade de FMA são afetadas pela mudança de uso da terra (Siqueira, 1996; Menge et al., 2023; Prates et al., 2019). Para a cultura do café, a relação com esses fungos é crucial, dada a natureza micotrófica elevada dessa cultura. Portanto, as alterações promovidas com o uso da terra e os manejos do solo e da cultura podem ter efeito direto sobre o seu desenvolvimento e produtividade (Prates et al., 2021; Prates et al., 2019; Siqueira et al., 1993).

No contexto brasileiro, o bioma Neotropical da Mata Atlântica, destaca-se como um dos principais hotspots de biodiversidade global. No entanto, a cobertura florestal desse bioma no país está reduzida a cerca de 12% de sua extensão original (Ribeiro et al., 2011). A urbanização, industrialização e expansão agrícola têm sido os principais responsáveis pela fragmentação e redução desse bioma, sendo atualmente uma das regiões mais populosas do Brasil, abrigando aproximadamente 125 milhões de pessoas (Rezende et al., 2018; Zachos and Habel, 2011). É nesse ambiente, rico em biodiversidade, mas altamente modificado pelo homem, que uma parte importante da produção de café no Brasil está inserida. O café é uma das principais commodities do país, sendo o país o maior exportador desse grão (CONAB, 2023), e o estado de Minas Gerais, por sua vez, é responsável por aproximadamente 50% da produção nacional, sendo o maior produtor de café do país. A produção de café no estado encontra-se inserida em dois biomas, o da Mata Atlântica e no Cerrado, sendo que o estado possui a maior área remanescente (2,8 milhões de hectares) de floresta natural do bioma Mata Atlântica (INPE, 2023). Portanto, em Minas Gerais, os cafezais, embora tenham ocupado áreas de mata nativa, hoje dividem e compõem esse bioma. Nesse sentido, embora o bioma Mata Atlântica seja o mais estudado em relação aos fungos micorrízicos no Brasil (Stürmer e Kimmelmeier, 2021), estudos direcionados a alterações da comunidade de FMA em áreas de café e mata nativa circundantes são relevantes para avaliar os impactos dessa mudança de uso da terra, a dinâmica desses sistemas e a sua resiliência.

Portanto, a hipótese deste estudo é que a conversão de áreas de vegetação nativa da Mata Atlântica em plantações de café resulta na redução da densidade e diversidade de FMA no solo e na serrapilheira. Os objetivos desta pesquisa incluem a avaliação da abundância e riqueza de espécies de FMA no solo e na serrapilheira, tanto em talhões de cultivo de café com alta produtividade quanto em fragmentos de Mata Atlântica adjacentes. Além disso, a influência da sazonalidade e de atributos físicos e químicos do solo sobre a comunidade de FMAs também foram avaliados.

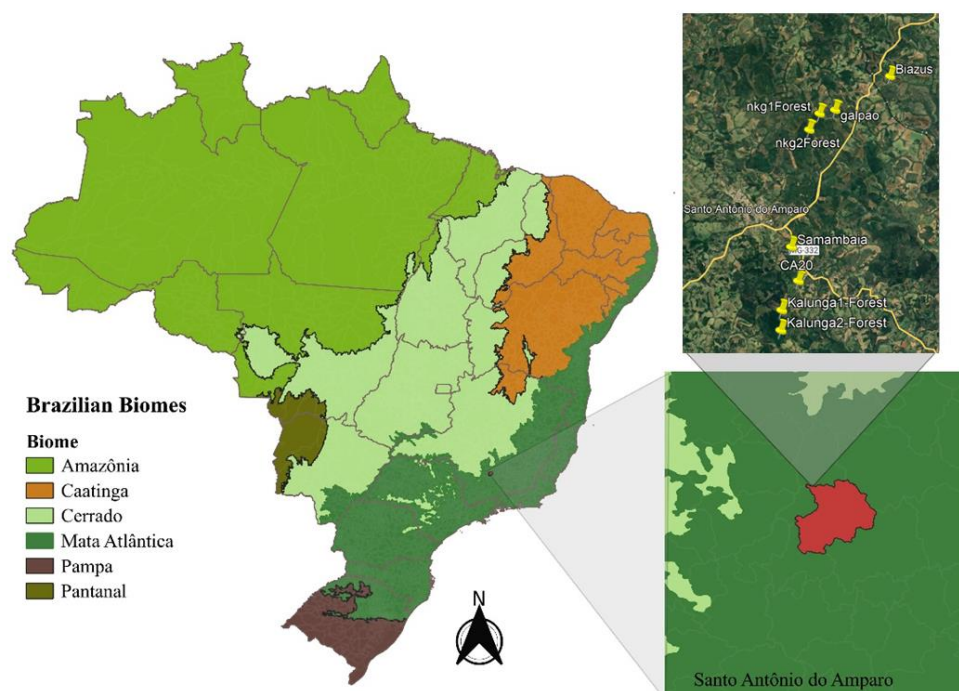
2. Material e Métodos

2.1 Caracterização e amostragem das áreas do estudo

As amostras de solo e serrapilheira foram coletadas na região de Campos das Vertentes (Mata Atlântica) em duas épocas diferentes do ano (seca e úmida), abrangendo

oito locais, sendo quatro talhões de cafezais com manejo convencional (Biazus II, CA20, Galpão e Samambaia-5) e quatro fragmentos de Mata Atlântica nativa (NKG I, NKG II, Kalunga I e II) no município de Santo Antônio do Amparo (cafeeiros: 20°52'06.44" S 44° 49'48.01"O; 20° 59'33.17"S 44° 53'14.08"O; 20°53'27.95"S 44°52'2.06"O; e 20°58'23.17"S 44° 53'29.84"O; e floresta: 20° 54'08.72"S 44°53'01.73"O; 20°53'33.00"S 44°52'38.00"O; 21°00'39.01"S 44° 53'39.84"O; e 21° 01'13.82"S 44° 53'51.29" (floresta), Minas Gerais, região Sudeste do Brasil (Fig. 1a). Para comparar o cafezal e a Mata Atlântica nativa, os quatro talhões de cafezais e as quatro áreas de mata foram utilizadas como repetições, resultando em quatro repetições para cada tratamento. Em cada repetição foram realizados um transecto com cinco pontos para amostragem.

O clima da região é classificado como Cwa, segundo a classificação de Köppen, com inverno seco e verão chuvoso, e temperatura média anual de 20°C. As condições climáticas prevalentes no período de amostragem do solo são descritas na Fig. 1b.



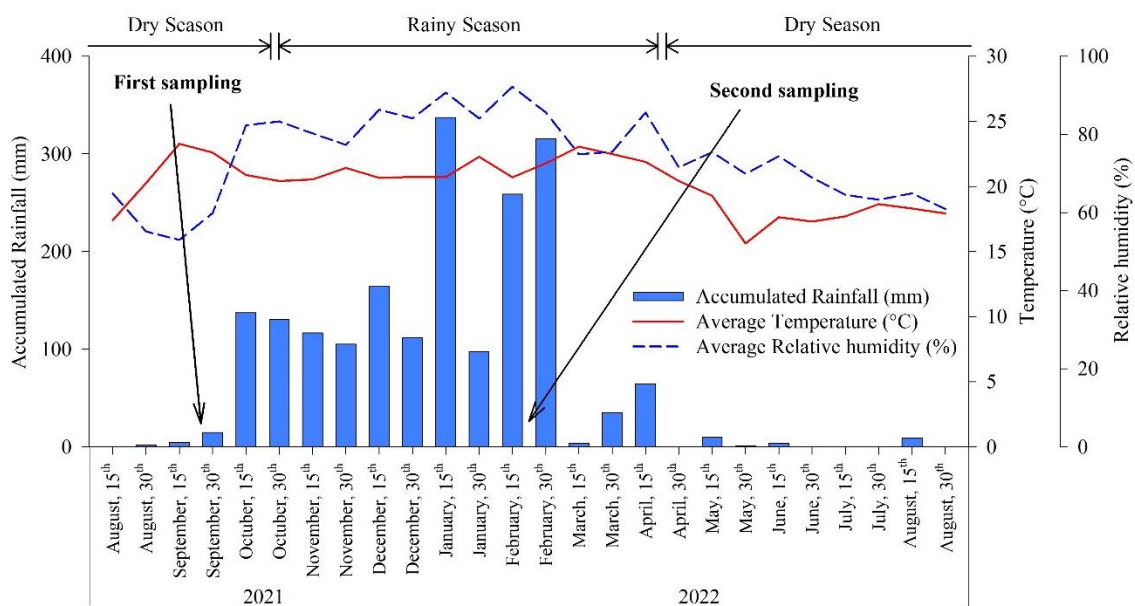


Fig. 1. (a) Mapa dos biomas do Brasil conforme base cartográfica do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), 2023, com destaque para o município de Santo Antônio do Amparo em Minas Gerais (MG), e imagem de satélite mostrando dois locais dos oito estudados, sendo um fragmento de floresta nativa de Mata Atlântica e o outro talhão de plantação de café. (b) Precipitação, temperatura média e umidade elativa no período de 1 ano na região de estudo, com destaque para as épocas de coletas.

A seleção dos locais amostrados foi realizada por meio de uma análise para identificação dos tipos de solo presentes na região. Foram escolhidos locais que apresentavam o mesmo tipo de solo, classificando assim todas as áreas amostradas como Latossolo.

A amostragem foi conduzida ao longo de um transecto em cada local composto por cinco pontos. Esses pontos foram espaçados a cada 50 metros, e em cada um deles, foram coletadas cinco amostras de solo com o auxílio de um trado. As amostras foram retiradas a uma profundidade de 0-10 centímetros, após a remoção da serrapilheira, e, posteriormente, foram homogeneizadas. No mesmo ponto, amostras compostas de serrapilheira foram retiradas manualmente para garantir a ausência de solo. Ao final, cada local foi representado por cinco amostras compostas de solo e cinco amostras compostas de serrapilheira, totalizando 80 amostras no estudo em cada amostragem. A primeira amostragem foi realizada durante a estação seca, em setembro de 2021, e a segunda foi efetuada durante a estação chuvosa, em fevereiro de 2022 (Fig. 1b).

2.2 Análises Físicas e Químicas

Para determinação dos atributos química e físicos do solo, as amostras foram secas e passadas em peneira de 2 mm para obter terra fina seca ao ar (TFSA). Nas amostras foram realizadas as seguintes análises: teores disponíveis de fósforo (P), sódio (Na), potássio (K), ferro (Fe), zinco (Zn), manganês (Mn) e cobre (Cu), extraídos com Mehlich-1 (Mehlich, 1953); teores trocáveis de cálcio (Ca), magnésio (Mg) e alumínio (Al), extraídos com KCL 1 mol L⁻¹ (McLean et al., 1958); acidez potencial (H+Al) pelo método de SMP; capacidade de troca de cátions a pH 7,0 (T) determinado de forma indireta, pela soma das bases (Shoemaker et al., 1961); matéria orgânica do solo (MOS) através da oxidação com Na₂Cr₂O₇ 2 mol/L + H₂SO₄ 5mol/L (Walkley and Black, 1934) e enxofre (S) em extrator de fosfato monocálcio em ácido acético (Hoeft et al., 1973). O pH foi avaliado em água (1:2,5). O boro (B) foi extraído em água quente (Raij et al., 2001). Os resultados da caracterização química são apresentados na **Tabela 1**. A determinação da textura do solo foi realizada pelo método Bouyoucos (Bouyoucos, 1951).

2.3 Análises Microbiológicas

2.3.1 Extração e identificação de esporos de FMA no solo e serrapilheira

A extração de esporos em cada amostra foi realizada a partir de 50 mL de solo ou serrapilheira pelo método de peneiramento úmido, conforme descrito por Gerdemann and Nicolson (1963) e centrifugação em gradiente de densidade, utilizando água e solução de sacarose a 50% (Jenkins, 1964).

Os esporos foram separados por peneiras de 53 e 45 µm e o número total de esporos foi contado por meio de um microscópio estereoscópico com aumento de 40 vezes. A identificação foi realizada por morfotipo, levando em consideração características como cor, tamanho e tipo de formação dos esporos. As lâminas foram montadas com duas lamínulas utilizando uma solução de polivinil-lacto-glicerol (PVLG) em uma e de PVLG + Melzer (1:1, v:v) na outra para preservação permanente e auxílio na identificação por reação diferencial de cor, de acordo com a composição das paredes dos esporos.

A identificação morfológica foi conduzida utilizando um microscópio, observando características da parede dos esporos, como espessura, ornamentações e reação de cor ao Melzer. Essas observações foram comparadas com descrições de culturas de referência de AMF da International Culture Collection of Arbuscular and Vesicular-

Arbuscular Mycorrhizal Fungil (EUA) (INVAM, 2024), no website de Janusz Blaszkowski (2024) e nas descrições originais de cada espécie. Por fim, a identificação das espécies de FMA foram extrapoladas para a quantidade de esporos.

2.4 Análise estatística

Todas as análises foram realizadas na linguagem R (v.4.1.2) (R Core Team, 2020). As análises de diversidade alfa foram realizadas utilizando os pacotes phyloseq (McMurdie e Holmes, 2013), hilldiv (Alberdi e Gilbert, 2019) e vegan (Oksanen et al., 2022). As curvas de rarefação foram calculadas para padronizar a profundidade de sequenciamento ao menor número de leituras entre as amostras. A diversidade alfa foi então calculada como números de Hill para espécies totais ($q = 0$, semelhante à riqueza), espécies típicas ($q = 1$, semelhante à diversidade de Shannon) e espécies dominantes ($q = 2$, semelhante à diversidade de Simpson) (Hill, 1973; Jost, 2006). Avaliamos as diferenças na diversidade alfa de fungos micorrízicos arbusculares (FMA) entre os usos da terra e estações utilizando modelos lineares de efeitos mistos (LMMs), com área como efeito aleatório e uso da terra, estação e sua interação como efeitos fixos, com o pacote lme4 (Bates et al., 2015). A significância dos parâmetros do modelo foi testada usando ANOVA fatorial bidirecional seguida de testes de Tukey com o pacote emmeans (Lenth et al., 2021). Os dados foram transformados quando necessário. Os dados foram transformados em raiz quadrada ou log quando necessário.

Para explorar as relações entre variáveis físico-químicas e biológicas nos diferentes usos da terra e estações, a análise de componentes principais (PCA) foi realizada. A análise de variância multivariada permutacional (PerMANOVA) baseada na matriz de dissimilaridade de Bray-Curtis foi utilizada para determinar os efeitos do uso da terra, estação e sua interação na composição das espécies de AMF (Anderson, 2001). Utilizando a mesma métrica de dissimilaridade, também realizamos uma análise de cluster hierárquico (HCA, método de cluster “complete”) aplicada às abundâncias das espécies de FMA para elucidar as possíveis semelhanças entre as amostras. Aplicamos a análise de redundância baseada em distâncias (db-RDA) com seleção progressiva de variáveis explicativas para investigar os principais fatores ambientais que influenciam a composição das espécies de AMF (Borcard et al., 2018). Primeiro, realizamos testes de Mantel entre os dados de composição das espécies e todas as variáveis ambientais para filtrar variáveis colineares. As variáveis significativamente correlacionadas com a

composição da comunidade de AMF foram avaliadas quanto à colinearidade usando a função `cor()` do R (Spearman's $|\rho| > 0.75$, Dormann et al., 2013). A variável com a maior estatística de Mantel em um par colinear específico foi incluída no modelo final. Finalmente, os preditores ambientais foram selecionados com base em testes de Monte Carlo com 9999 permutações usando a função `vegan::ordiR2step()`. Variáveis biológicas (números de Hill e de esporos) foram ajustadas e exibidas na ordenação db-RDA usando a função `vegan::envfit()`. Todos os valores de p foram ajustados para testes múltiplos usando a abordagem de Benjamini-Hochberg, e utilizamos um limiar de significância de $\text{padj} < 0.05$ (Benjamini e Hochberg, 1995). As figuras foram geradas com o pacote `ggplot2` (Wickham, 2016).

A análise de espécies indicadoras (ISA) foi utilizada para identificar espécies significativamente associadas a um determinado habitat (Dufrene and Legendre 1997). O escore IndVal considerando a frequência relativa de ocorrência (fidelidade) e a abundância relativa média (especificidade), foi utilizado para estimar um valor de associação entre uma determinada espécie e um determinado habitat (De Cáceres et al. 2012). Os escores IndVal e a significância das associações foram determinados com 10.000 permutações usando o pacote *indicspecies* v1.7.14 (Cáceres and Legendre 2009). Os indicadores com $p < 0,05$ após a correção de Benjamini- Hochberg foram considerados significativos (Benjamini and Hochberg 1995).

3. Resultados

3.1 Atributos químicos e físicos do solo

A fertilidade das áreas de fragmento de mata nativa e plantações de café convencional, durante as épocas seca e úmida, está detalhada na Tabela 1. Pode-se observar que os solos com floresta nativa apresentaram maior acidez em comparação com os dos cafezais, em ambas as épocas de coleta. Os talhões de cafezais, em média, apresentaram teor de fósforo disponível (P) cerca de oito vezes maior que as áreas de mata na época seca. Essa diferença foi ainda maior na época de chuva, sendo 80 vezes maior nos talhões de cafezal.

O aumento nos teores disponíveis de P está relacionado ao manejo realizado nos talhões de cafezal, que recebem adubação fosfatada no período chuvoso, logo após a florada principal do cafezal, o que normalmente ocorre nos meses de outubro a novembro.

O mesmo comportamento se repetiu para o potássio (K) (Tabela 1), porém em menor proporção, sendo cerca de duas vezes maior que na mata na época seca e três vezes maior na época de chuva. Em relação à concentração de alumínio (Al), o comportamento foi inverso, maior nas áreas de mata em comparação ao cafezal, sendo doze vezes maior na seca e seis vezes na época chuvosa.

A capacidade de troca de cátions potencial (CEC_p), índice de saturação de alumínio (m), acidez potencial ($H+Al$), ferro (Fe) e manganês (Mn) foram maiores nas áreas de mata em ambas as épocas de coleta. Em contrapartida, o índice de saturação de bases (V) e os teores de zinco (Zn) e boro (B) foram maiores nos talhões de cafezal nas duas épocas. Em relação à análise física, as áreas florestais apresentaram textura média, enquanto os talhões de cafezais tinham textura argilosa. Embora os teores de areia não tenham diferenciado café da mata, os teores de argila foram mais elevados nos talhões de cafezal, ao passo que a porcentagem de silte foi menor (Tabela 1).

Tabela 3. Resultados dos testes *post-hoc* de Tukey para parâmetros físico-químicos do solo em diferentes usos da terra nas estações seca e chuvosa no estado de Minas Gerais.

	Dry		Rainy	
	Coffee plantation	Native forest	Coffee plantation	Native forest
pH (H_2O)	$5.43 \pm 0.21Ba$	$4.67 \pm 0.19Ab$	$5.82 \pm 0.22Aa$	$4.41 \pm 0.19Ab$
SOM	$3.00 \pm 0.32Aa$	$4.20 \pm 0.45Ba$	$3.04 \pm 0.33Ab$	$5.06 \pm 0.54Aa$
P	$36.10 \pm 8.89Aa$	$4.54 \pm 1.33Ab$	$50.34 \pm 12.3Aa$	$0.62 \pm 0.39Bb$
S	$68.95 \pm 21.35Aa$	$10.76 \pm 3.33Ab$	$37.59 \pm 11.64Ba$	$5.17 \pm 1.60Bb$
K^+	$229.96 \pm 21.51Aa$	$114.97 \pm 15.21Ab$	$194.43 \pm 19.78Aa$	$74.39 \pm 12.23Bb$
Na^+	$0.00 \pm 0Bb$	$8.52 \pm 1.01Aa$	$9.81 \pm 1.08Aa$	$3.17 \pm 0.61Bb$
Ca^{2+}	$3.00 \pm 0.70Aa$	$1.95 \pm 0.56Aa$	$3.72 \pm 0.78Aa$	$2.04 \pm 0.57Aa$
Mg^{2+}	$1.06 \pm 0.27Ba$	$0.97 \pm 0.25Aa$	$1.86 \pm 0.35Aa$	$1.20 \pm 0.28Aa$
Al^{3+}	$0.04 \pm 0.04Ab$	$0.48 \pm 0.13Aa$	$0.11 \pm 0.06Ab$	$0.62 \pm 0.14Aa$
$H+Al$	$3.57 \pm 0.69Ab$	$7.54 \pm 1Aa$	$3.29 \pm 0.66Ab$	$9.50 \pm 1.13Aa$
BS	$4.67 \pm 1.02Aa$	$3.24 \pm 0.85Aa$	$6.11 \pm 1.17Aa$	$3.45 \pm 0.88Aa$
CEC_e	$4.57 \pm 0.79Ba$	$3.86 \pm 0.67Aa$	$6.12 \pm 1.06Aa$	$4.23 \pm 0.73Aa$
CEC_p	$8.36 \pm 0.61Ab$	$11.68 \pm 0.85Ba$	$9.45 \pm 0.69Ab$	$13.91 \pm 1.02Aa$
V%	$55.05 \pm 8.95Aa$	$29.52 \pm 6.55Ab$	$64.10 \pm 9.65Aa$	$25.43 \pm 6.08Ab$
m%	$1.04 \pm 0.71Ab$	$10.23 \pm 3.94Aa$	$1.78 \pm 0.97Ab$	$12.69 \pm 4.80Aa$
Zn	$5.89 \pm 1.05Aa$	$1.55 \pm 0.27Ab$	$3.83 \pm 0.68Ba$	$1.10 \pm 0.20Ab$
Fe	$22.86 \pm 2.43Ab$	$59.56 \pm 6.34Aa$	$26.04 \pm 2.77Ab$	$50.38 \pm 5.36Aa$

Mn	7.03 ± 2.13Ab	20.38 ± 6.17Ba	6.27 ± 1.90Ab	33.66 ± 10.19Aa
Cu	3.44 ± 0.42Aa	1.71 ± 0.42Ab	3.11 ± 0.42Aa	2.08 ± 0.42Aa
B	0.59 ± 0.06Aa	0.16 ± 0.03Ab	0.35 ± 0.05Ba	0.10 ± 0.03Bb
Clay	53.85 ± 3.89Aa	29.00 ± 3.89Ab	54.05 ± 3.89Aa	29.05 ± 3.89Ab
Silt	13.46 ± 1.38Ab	29.59 ± 2.97Aa	11.36 ± 1.17Ab	29.51 ± 2.96Aa
Sand	32.25 ± 3.92Aa	39.85 ± 3.92Aa	34.10 ± 3.92Aa	39.85 ± 3.92Aa

SOM – matéria orgânica do solo (expressa em g kg⁻¹); P disponível, S, Zn, Fe, Mn, Cu e B (expressos em mg kg⁻¹); K⁺ disponível, Na⁺, Ca²⁺, Mg²⁺, Al³⁺, H⁺/Al – acidez potencial, BS – soma de bases, CECe – capacidade de troca de cátions efetiva, e CECp – capacidade de troca de cátions potencial (expressos em cmolc dm⁻³); V% – saturação por bases, m% – saturação por alumínio, Argila, Silte e Areia (expressos em %). Diferentes letras minúsculas indicam diferenças significativas entre os usos do solo dentro da mesma estação; diferentes letras maiúsculas indicam diferenças significativas entre as estações para um uso específico do solo.

3.2 Densidade, componentes da diversidade e abundância relativa de FMA

3.2.1 Solo

Com base no número de Hill, o atual uso da terra com a produção de café apresentou menor riqueza de espécies ($q = 0$) (Figura 2a) de FMA nas duas épocas avaliadas, em comparação à área de mata. No entanto, não restringiu a diversidade ($q = 1$, $q = 2$) (Figura 2b, c) desses fungos. O número de esporos também diferiu, sendo que os talhões de cultivo convencional de café apresentaram quantidade inferior de esporos em comparação com as observadas na floresta nativa nas duas épocas.

Em relação às épocas de coleta dentro da mesma área, a riqueza de espécies de FMA ($q = 0$) foi menor na época de seca na mata nativa, porém não apresentou diferenças nos talhões de café (Figura 2a). Esse mesmo comportamento foi observado no exponencial da diversidade Shannon ($q = 1$) (Figura 2b). Por outro lado, o número de esporos não variou significativamente entre a época seca e úmida na área de mata nativa, enquanto na área de cultivo de café, a época de seca resultou em um aumento no número de esporos (Figura 2d).

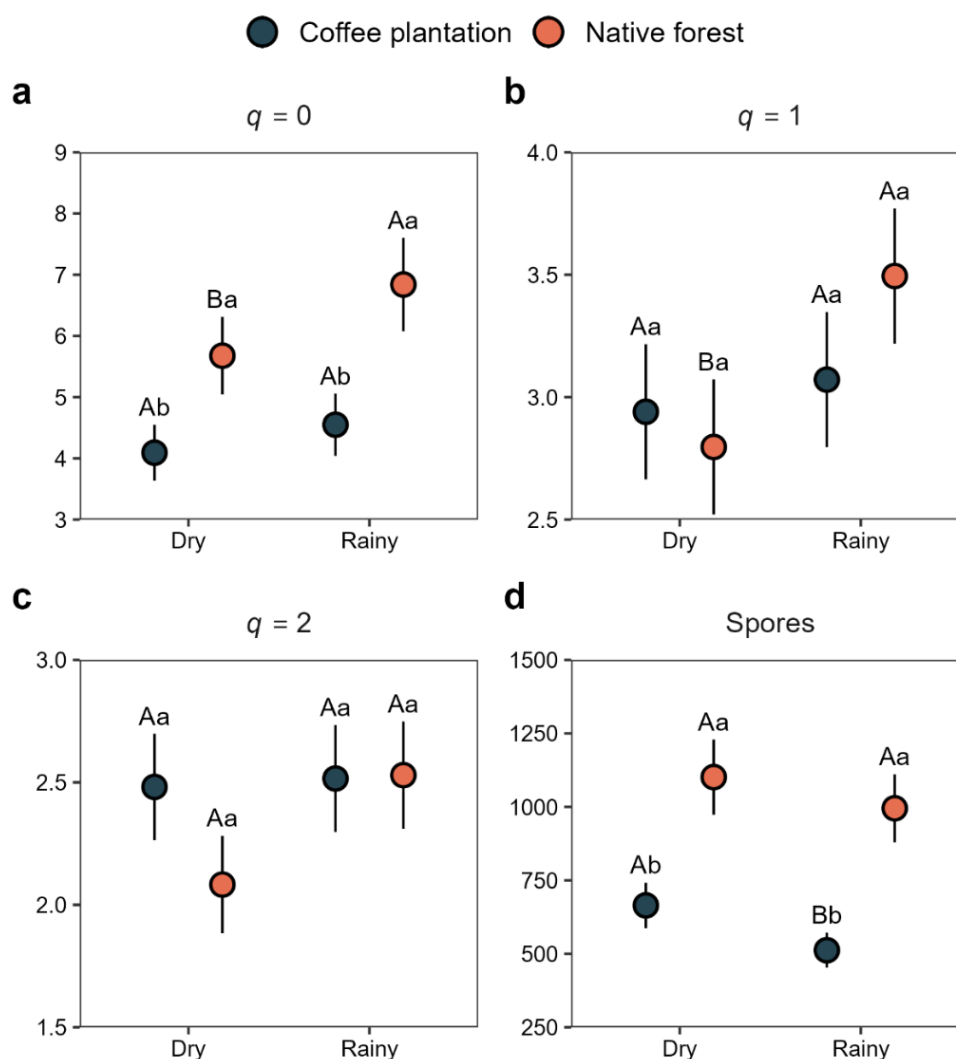


Fig. 2. A diversidade alfa de fungos micorrízicos arbusculares como números de Hill (qD) para (a) total ($q = 0$, equivalente à riqueza de espécies), (b) típica ($q = 1$, equivalente à exponencial da diversidade de Shannon), (c) dominante ($q = 2$, equivalente à diversidade de Simpson) espécies e (d) número de esporos em diferentes usos do solo ao longo das estações seca e chuvosa no estado de Minas Gerais. Diferentes letras minúsculas indicam diferenças significativas entre os usos do solo dentro da mesma estação; diferentes letras maiúsculas indicam diferenças significativas entre as estações para um uso específico do solo.

A Análise de Componentes Principais (PCA) revelou a presença de dois grupos distintos, segregando os atributos do solo, assim como a diversidade e riqueza de FMA do solo de cultivo convencional de café e mata nativa (Figura 3, Tabela S10). Adicionalmente, a PCA indicou uma correlação do talhão de cultivo de café com um pH do solo mais elevado, bem como maiores teores disponíveis de P, Zn, K, B, magnésio (Mg), enxofre (S), cálcio (Ca) e porcentagem de argila. Por outro lado, o solo da mata nativa mostrou correlação com a riqueza de espécies de FMA ($q = 0$), o exponencial da diversidade Shannon ($q = 1$), o número de esporos (Spores), a matéria orgânica do solo (SOM), teores disponíveis de Fe, Mn e Al, além de uma maior porcentagem de areia

(Figura 3). Os dois eixos explicativos juntos representaram 57,53% da variação presente nas amostras.

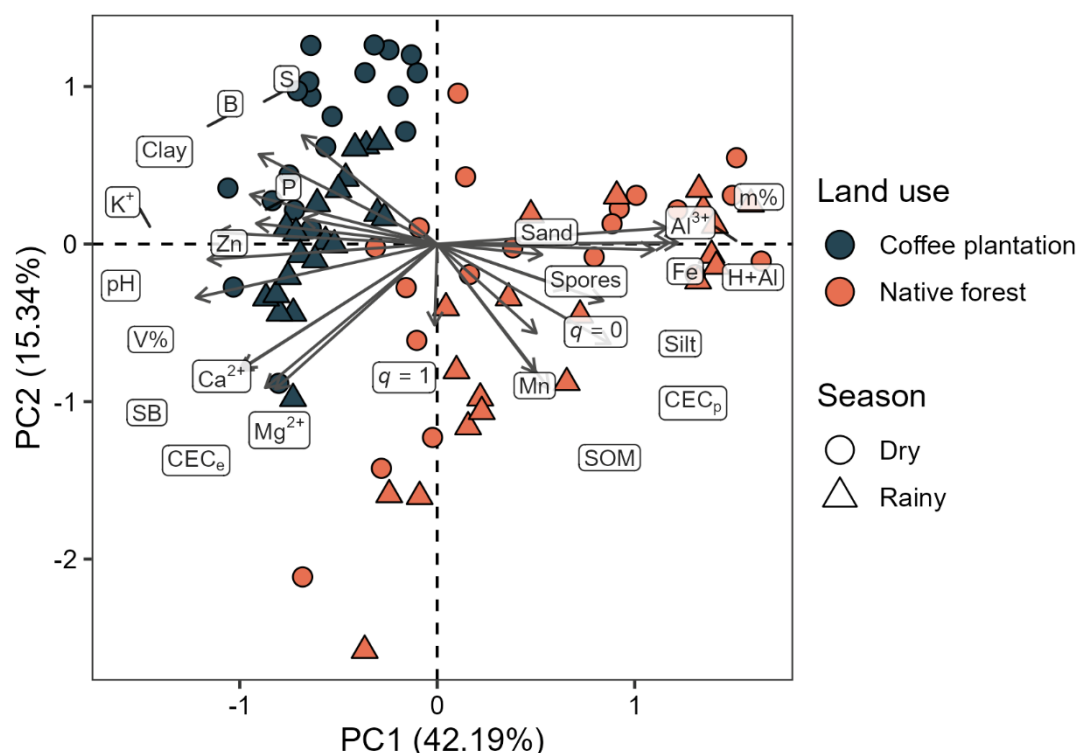


Fig.3. Análise de Componentes Principais (PCA) para as relações entre variáveis físico-químicas e biológicas em diferentes usos do solo ao longo das estações seca e chuvosa no estado de Minas Gerais. Apenas variáveis significativas ($p < 0,05$) na função `envfit()` são mostradas. $q = 0$, espécies totais, equivalentes à riqueza de espécies; $q = 1$, espécies típicas, equivalentes à exponencial da diversidade de Shannon; $q = 2$, espécies dominantes, equivalentes à diversidade de Simpson; BS, soma de bases; CEC_e , capacidade de troca de cátions efetiva; CEC_p , capacidade de troca de cátions potencial; SOM, matéria orgânica do solo; V%, saturação por bases; m%, saturação por alumínio; H+Al, acidez potencial.

A comunidade de FMAs encontrada em todas as amostras de solo consistia em 27 espécies (Figura 4, S4), com o número de esporos por espécie variando entre 10 (*Acaulospora rehmi*) e 15.560 (*Glomus macrocarpum*) na área de mata, e entre 7 (*Acaulospora denticulata*) e 5.804 (*Sieverdingia tortuosa*) no talhão de cafezal (Tabela S5). A maioria dessas espécies está classificada na ordem Glomerales (63%). Em relação a família de Glomeromycota as áreas apresentam Glomeraceae (Gêneros *Glomus* e *Rhizophagus*), Diversisporaceae (Gênero *Sieverdingia*), Gigasporaceae (Gêneros *Dentiscutata*, *Gigaspora*, *Racocetra* e *Scutellospora*) e Acaulosporaceae (Gênero *Acaulospora*) (Figura 4).

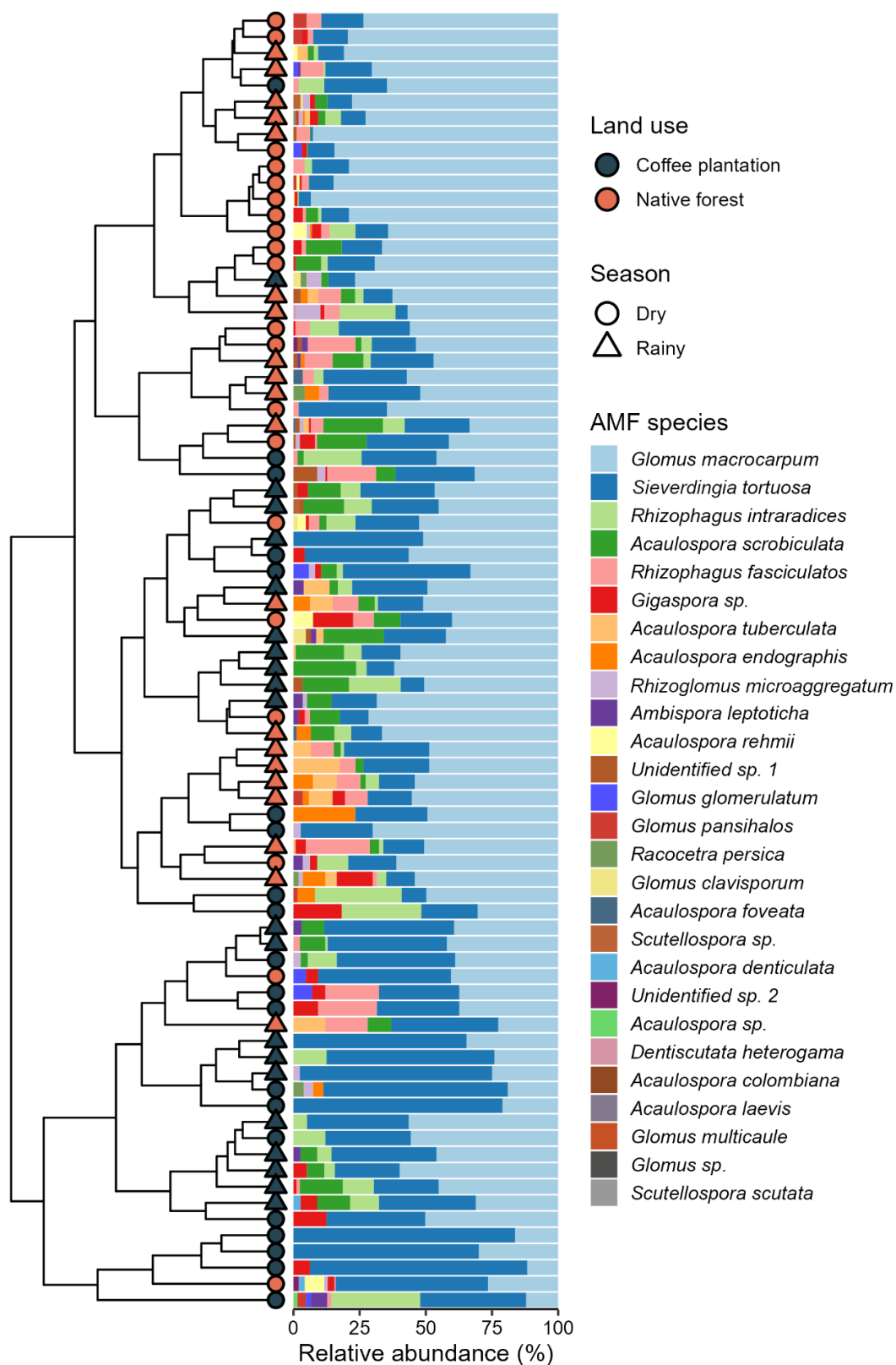


Fig. 4. Abundâncias relativas de espécies de fungos micorrízicos arbusculares de diferentes usos do solo ao longo das estações seca e chuvosa no estado de Minas Gerais. O dendrograma lateral foi utilizado para representar o agrupamento de amostras com base na métrica de dissimilaridade de Bray-Curtis aplicada à abundância de espécies com o método de agrupamento "complete".

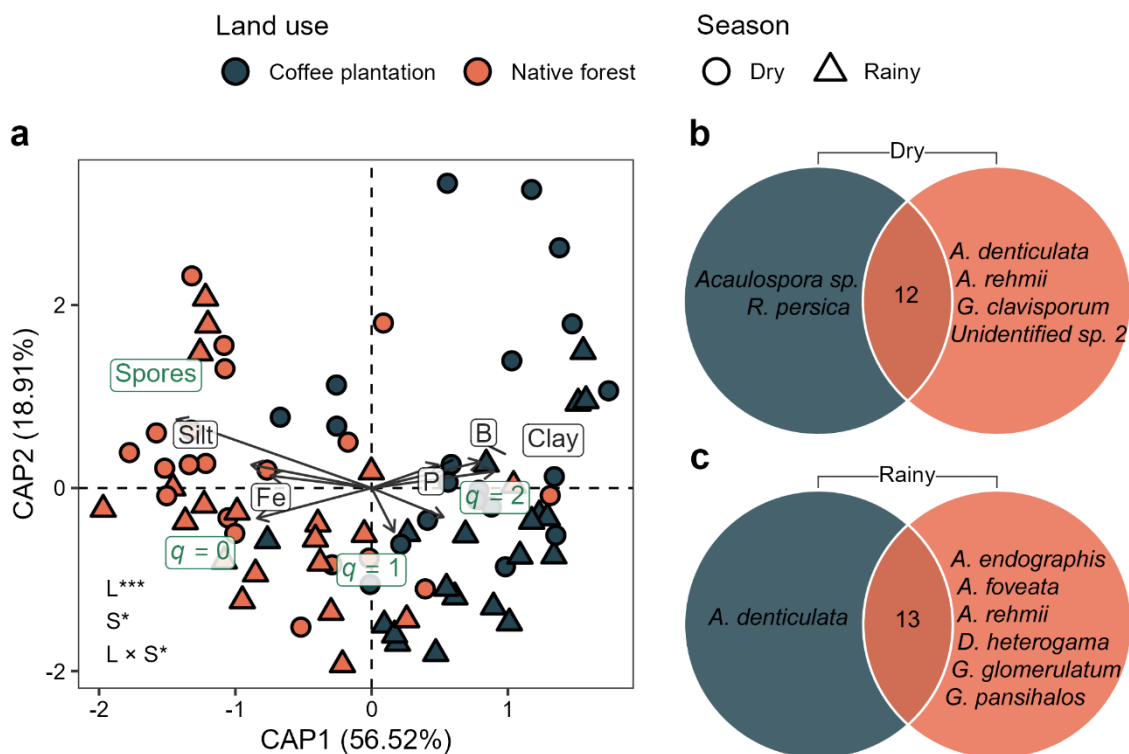


Fig.5. Composição da comunidade de fungos micorrízicos arbusculares. Análise de redundância baseada em distância (db-RDA) com seleção progressiva de variáveis preditoras seguida por testes de permutação de Monte Carlo (a) e diagramas de Venn para espécies únicas e compartilhadas de fungos micorrízicos arbusculares das estações seca (b) e chuvosa (c) em diferentes usos do solo e estações no estado de Minas Gerais. Setas sólidas indicam os preditores ambientais (em preto) e biológicos (em verde) significativamente associados à variação na composição de espécies de fungos micorrízicos arbusculares. L, uso do solo; S, estação. $q = 0$, espécies totais, equivalentes à riqueza de espécies; $q = 1$, espécies típicas, equivalentes à exponencial da diversidade de Shannon; $q = 2$, espécies dominantes, equivalentes à diversidade de Simpson. Asteriscos indicam a significância dos fatores que agrupam amostras semelhantes como: * $p < 0,05$; *** $p \leq 0,001$.

No solo da mata nativa, foram identificadas 18 espécies de FMA durante o período seco e 20 espécies na época chuvosa (Figura 5b,c). Já no solo da plantação de café, foram observadas 14 espécies em ambas as épocas. Adicionalmente, os talhões compartilharam 12 e 13 espécies no período seco e chuvoso, respectivamente (Tabela S5 e Figura 5b,c).

As espécies com maior abundância relativa nas áreas analisadas foram o *Glomus macrocarpum* e a *Sieversdingia tortuosa*. O *Glomus macrocarpum* foi mais prevalente nos talhões de cafezal em relação às áreas florestais, enquanto a *Sieversdingia tortuosa* predominou nas áreas de mata nativa (Figura 4).

A variação na composição das espécies foi mais significativamente influenciada pelo uso da terra ($R^2 = 0.23$) do que pela época do ano ($R^2 = 0.03$) ($p < 0,05$, Figura 5a, Tabela S6). A composição de espécies na mata nativa foi influenciada pelo número de esporos (Spores), riqueza de espécies ($q = 0$), maior porcentagem de silte e teores de Fe

disponível (Figura 5a). Nos talhões de cafeicultura, os teores mais elevados de fósforo (P), boro (B) e uma maior porcentagem de argila foram responsáveis pela variação na comunidade de FMA, apresentando vetores do primeiro e segundo eixo na db-RDA (Fósforo = 0,49; 0,26, Boro = 0,80; 0,29 e argila = 0,90; 0,18), respectivamente (Figura 5 e Tabela S7, S9).

3.2.2 Serrapilheira

A serrapilheira originária da mata nativa apresentou uma maior riqueza de espécies ($q = 0$) em ambas as estações, em comparação com o café convencional. Importante notar que a mudança de estação teve impacto específico apenas na riqueza de espécies nos talhões de cafezal (Figura 6a). Em relação aos índices de diversidade de espécies típicas e dominantes ($q = 1$ e $q = 2$), somente a serrapilheira nos talhões de café durante a época seca apresentou diferenças em comparação com os de mata nativa (Figura 6b).

Quanto à densidade de esporos, a estação chuvosa diferiu significativamente da seca nos talhões de cafezal, enquanto nos talhões de mata nativa, o número de esporos não foi afetado pelas estações. Adicionalmente, a densidade de esporos na serrapilheira das áreas de mata diferiu dos talhões de café apenas na estação chuvosa (Figura 6d). A serrapilheira presente sobre o solo dos talhões de café não revelou espécies diferentes das observadas na serrapilheira em mata nativa (Figura 7 b, c) e apresentou entre 11 e 15 espécies iguais (Tabela S11). Entretanto, o uso da terra influenciou na composição das espécies, assim como a sazonalidade (Figura 7a). O dendrograma demonstrou agrupamentos distintos entre os diferentes usos da terra e apresentou pouca diferença em relação às épocas (Figura S2).

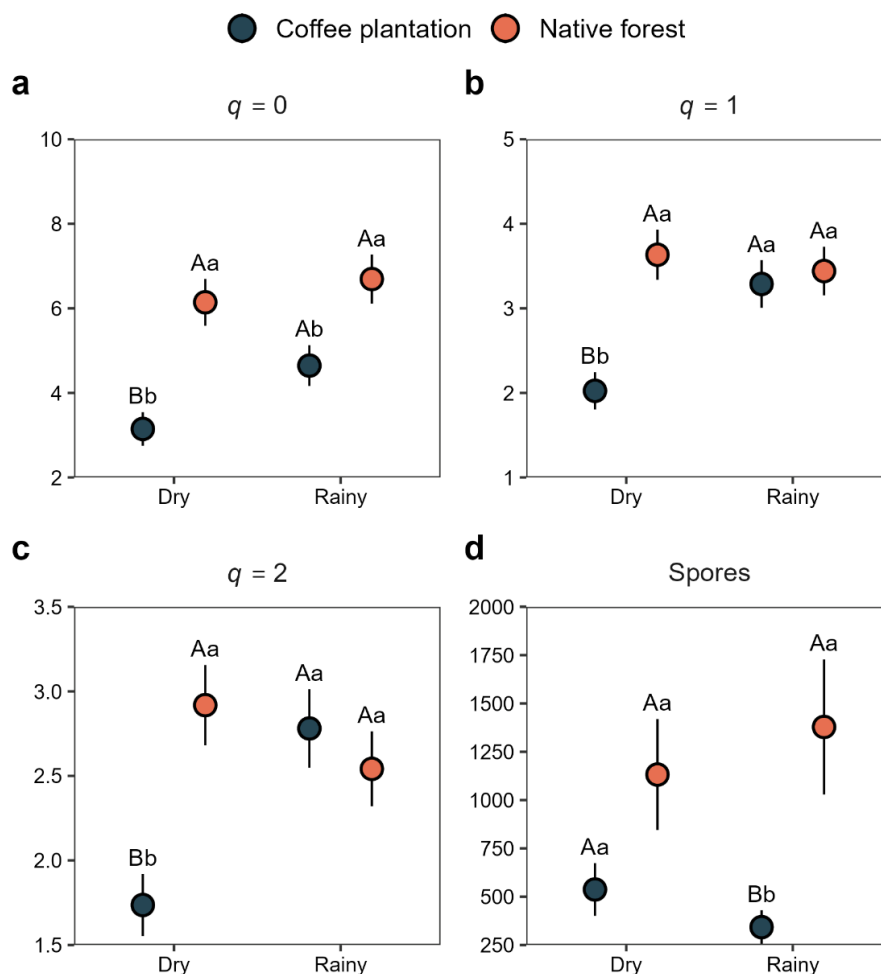


Fig. 6. A diversidade alfa de fungos micorrízicos arbusculares como números de Hill (qD) para (a) total ($q = 0$, equivalente à riqueza de espécies), (b) típica ($q = 1$, equivalente à exponencial da diversidade de Shannon), (c) dominante ($q = 2$, equivalente à diversidade de Simpson) espécies e (d) número de esporos das comunidades de serrapilheira em diferentes usos do solo ao longo das estações seca e chuvosa no estado de Minas Gerais. Diferentes letras minúsculas indicam diferenças significativas entre os usos do solo dentro da mesma estação; diferentes letras maiúsculas indicam diferenças significativas entre as estações para um uso específico do solo.

Ao avaliar as espécies indicadoras em relação ao uso da terra durante nas diferentes épocas, cinco espécies mostraram associação significativa pelo índice IndVal (Figura 8a). *Sieverdingia tortuosa*, única representante da família Diversisporaceae neste estudo, foi a espécie indicadora na cultura do café em ambas as épocas de coleta, sendo também a mais abundante (Figura 8b). Na área da mata, as espécies indicadoras foram *Glomus macrocarpum* na época de seca e *Acaulospora endographis*, *Acaulospora tuberculata* e *Rhizophagus fasciculatus* na época de chuva. A *Acaulospora endographis* foi a única das espécies indicadoras que ocorreu exclusivamente na área de mata, enquanto as demais espécies foram observadas em ambas as áreas (Tabela S11).

A respeito da composição da comunidade de FMA na serrapilheira e no solo de cada área, independentemente da época, foram identificadas nos talhões de café três espécies exclusivas da serrapilheira (*Acaulospora foveata*, *Acaulospora rehmsii* e *Unidentified sp. 2*) (Figura 9a), enquanto o solo apresentou uma maior diversidade, com 5 espécies exclusivas (Figura 9a). Na mata nativa, a situação foi diferente: a serrapilheira mostrou uma maior diversidade, com 5 espécies exclusivas (*Acaulospora colombiana*, *Acaulospora laevis*, *Glomus multicaule*, *Glomus sp* e *Scutellospora scutata*), enquanto no solo foram encontradas apenas 2 espécies (Figura 9b).

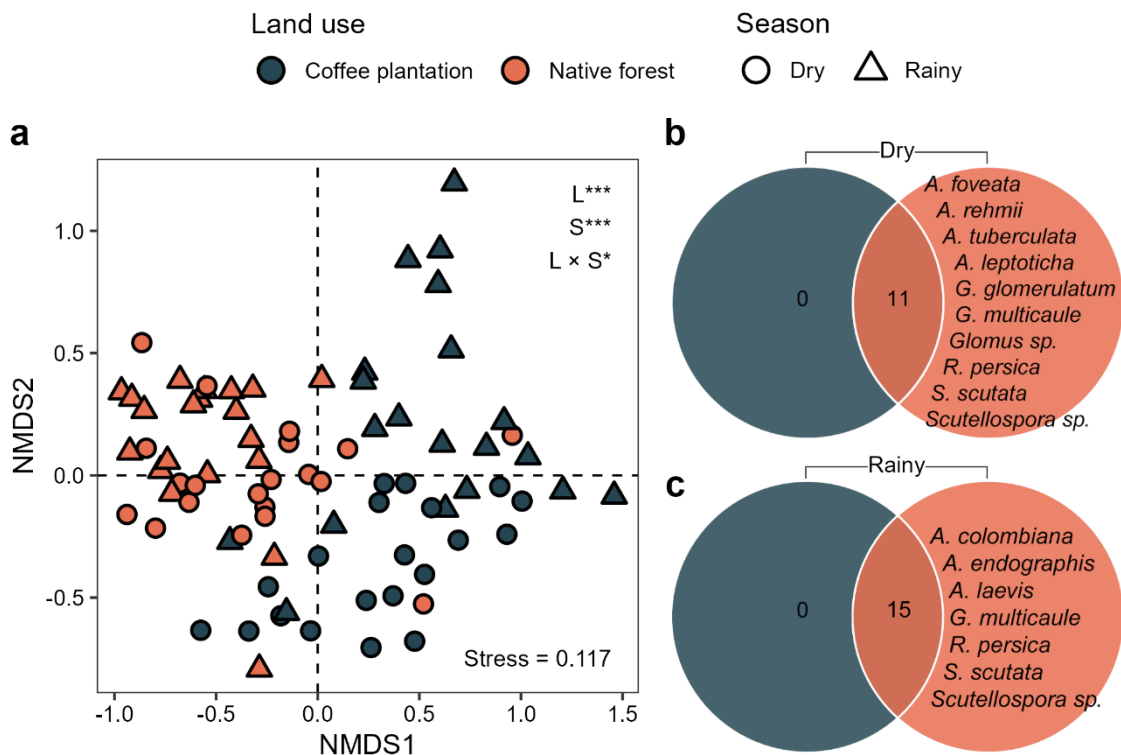


Fig. 7. Gráfico de escalonamento multidimensional não métrico (NMDS) para as diferenças na composição de fungos micorrízicos arbusculares (AMF) (a) e diagramas de Venn para espécies de AMF exclusivas e compartilhadas das estações seca (b) e chuvosa (c) em comunidades de serrapilheira em diferentes usos do solo e estações no estado de Minas Gerais. L, uso do solo; S, estação. Asteriscos indicam a significância dos fatores que agrupam amostras semelhantes como: * $p < 0,05$; *** $p \leq 0,001$.

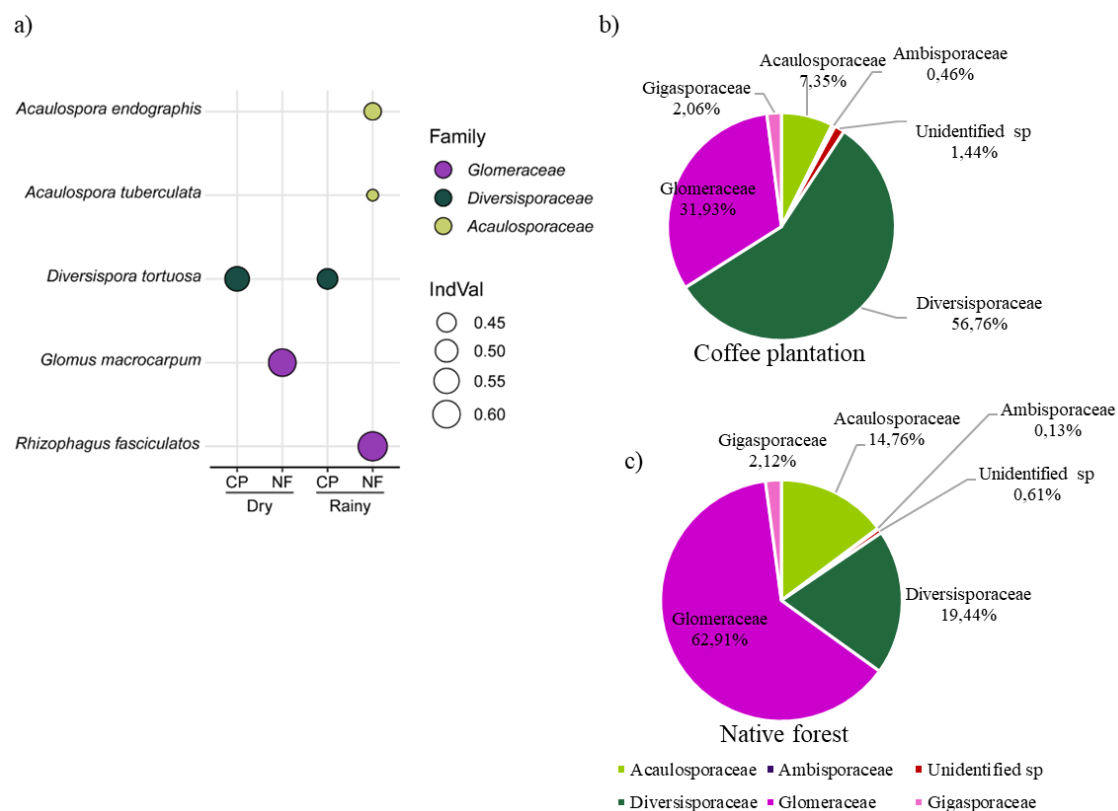


Fig. 8. Análise de espécies indicadoras (IndVal) CP = coffee plantation, NF = native forest (a) e abundância total por família de FMA (seca e úmida) na serrapilheira de café (b) e floresta nativa (c).

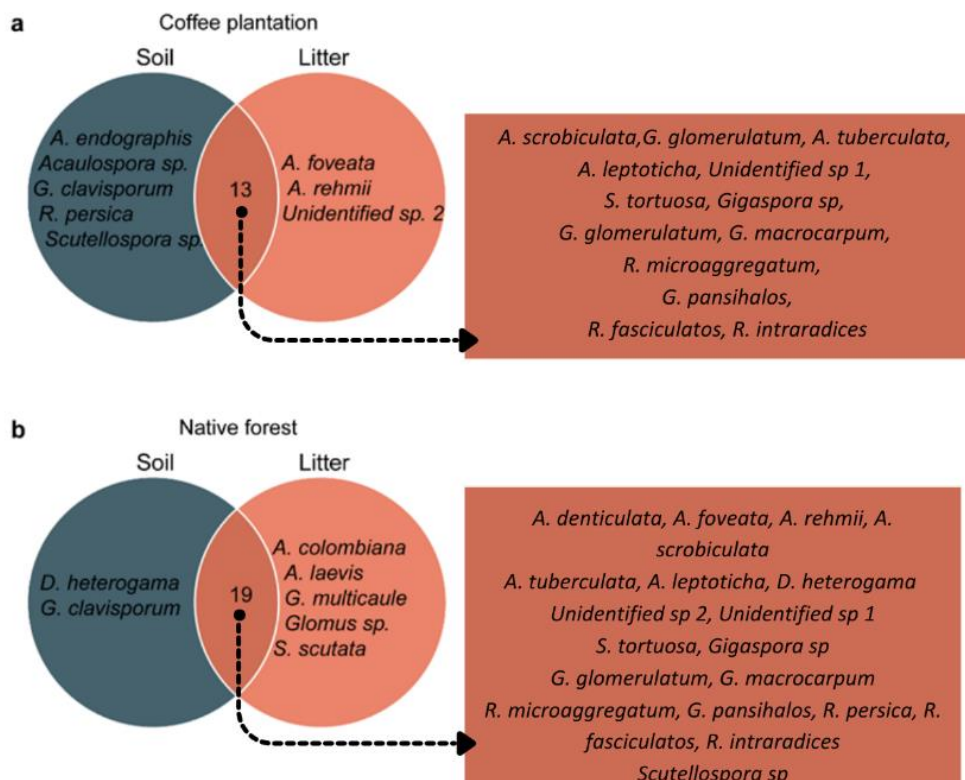


Fig. 9. Diagramas de Venn para espécies únicas e compartilhadas de FMA na plantação de café (a) e Floresta Nativa (b) entre as comunidades da serrapilheira e solo em diferentes usos da terra no estado de Minas Gerais.

4. Discussão

Neste estudo, analisamos a comunidade de FMAs por meio de métodos morfológicos em um sistema de manejo convencional de cultivo de café, comparando-a com uma floresta nativa adjacente para identificar o impacto do uso da terra nas comunidades desses fungos. Foram realizadas amostragens em dois períodos diferentes, correspondentes à época seca e chuvosa. As comunidades de FMA presentes tanto no solo como na serrapilheira foram avaliadas nos dois tipos de cobertura vegetal do solo, em ambas as estações. Devido ao número limitado de levantamentos de FMAs realizados até o momento na serrapilheira, particularmente em talhões de café, há poucos parâmetros de comparação com a comunidade presente na serrapilheira. Um estudo realizado na Colômbia (Díaz-Ariza et al., 2021) avaliou a serrapilheira de cafeeiro, não identificando as espécies de FMAs, limitando-se a avaliar a colonização das raízes, o micélio externo e a quantidade de esporos. Portanto, este trabalho é inovador ao avaliar a diversidade na comunidade de FMA na serrapilheira da cultura do cafeeiro.

No geral, o processo de uso agrícola do solo sob cafezal teve um impacto negativo na comunidade de FMA em relação à floresta nativa, especialmente sobre a riqueza de espécies, tanto no solo, quanto na serrapilheira (Figuras 2a e 6a). Esses resultados podem ter refletido a maior densidade de esporos encontrados na mata nativa (Figura 2d). Isso confirma a hipótese de que a substituição de áreas de vegetação nativa da Mata Atlântica por cultivos convencionais de café reduz a abundância e diversidade de FMA. Além disso, a avaliação da serrapilheira permitiu identificar uma diversidade de FMA que poderia ser negligenciada (Figura 9). Isso ressalta a importância dos fragmentos de mata para a preservação de uma comunidade diversificada de FMA no bioma da Mata Atlântica, destacando também a necessidade de ampliar a avaliação da diversidade dos FMA do solo para a serrapilheira, principalmente em áreas de mata.

Os FMA colonizam a serrapilheira desde o início da decomposição das folhas até os estágios de serrapilheira altamente fragmentada (Aristizábal et al., 2004; Bunn et al., 2019; Voříšková and Baldrian, 2013). A presença de FMA na serrapilheira em cafezais sombreados sob manejo convencional já foi observada na América do Sul, especificamente no bioma Páramo (Ecossistemas neotropicais de campo em alto de montanhas dos Andes) (Díaz-Ariza et al., 2021). O número de esporos observado na serrapilheira de café no nosso estudo (Figura 6d), foi semelhante ao observado em serrapilheira de café convencional sombreado, apresentando cerca de 530 esporos (Díaz-Ariza et al., 2021).

Ainda não existem evidências de que os FMA tenham capacidade saprofítica, mas sua presença na serrapilheira é capaz de induzir e acelerar a taxa de decomposição (Gui et al., 2017). A suposição para justificar a presença desses fungos na serrapilheira é sua associação com as raízes das plantas no solo, que se estendem até a serrapilheira (Bunn et al., 2019). Dessa forma, a presença de FMA na serrapilheira do café deve estar relacionada ao sistema radicular do café, que pode apresentar cerca de 80% de suas raízes nos primeiros 30 cm de profundidade, as chamadas raízes superficiais ou radicelas. Estas podem ainda se estender por um raio de 2 a 2,5 metros a partir da base da planta (De Oliveira et al., 2012). Essas raízes também são caracterizadas por serem mais finas e responsáveis por iniciar a absorção de água e nutrientes (Figura S3). Portanto, o mais provável é que tanto FMAs em simbiose assim como as raízes buscam na serrapilheira absorver nutrientes rapidamente após sua mineralização.

As famílias Glomeraceae, Diversisporaceae e Acaulosporaceae foram as mais abundantes na serrapilheira da mata nativa (Figura 8c). A dominância de Glomeraceae e

Acaulosporaceae na serrapilheira também foi evidenciada por Kemmelmeier et al. (2022) ao avaliar a ocorrência de FMA em serrapilheira, tapete radicular e solo em floresta subtropical dentro do bioma de Mata Atlântica no Sul do Brasil. Os autores associaram a predominância da Acaulosporaceae ao pH muito ácido da serrapilheira, uma vez que a probabilidade de ocorrência desta família aumenta em ambientes ácidos (Veresoglou et al., 2013), sendo esta família a segunda com maior representatividade dentro dos biomas brasileiros e a terceira mais representativa na região Neotropical (Stürmer e Kemmelmeier, 2021). Embora em nosso estudo não tenhamos avaliado o pH na serrapilheira, o solo da mata apresentou pH ácido (4,67 – 5,43) (Tabela 1). Por outro lado, a Glomeraceae se destaca por apresentar um nicho amplo de variação de pH, sendo a mais comum nos biomas brasileiros (Maia et al., 2020). Também deve ser destacado que esta família apresenta um maior número de espécies identificadas na região Neotropical, na qual a Mata Atlântica está inserida (Stürmer e Kemmelmeier, 2021), assim como dentro do bioma de Mata Atlântica, com 45 espécies representativas (Jobim et al., 2018).

A recuperação dos FMA na serrapilheira de três áreas da Mata Atlântica brasileira, utilizando uma abordagem de câmara úmida para avaliar as folhas em decomposição, revelou que o gênero *Glomus* foi o mais abundante, com 195 esporos identificados dos 202 recuperados, demonstrando o domínio deste gênero na serrapilheira (Lima et al., 2023). Além disso, observou-se que a ocorrência de FMA difere em relação às quatro espécies de árvores analisadas (*Hymenaea courbaril* – jatobá, *Ziziphus joazeiro* – Juazeiro, *Paubrasilia echinata* – Pau-Brasil e *Mimosa caesalpiniiifolia* – Sabiá), sendo que uma espécie de Diversiporaceae foi observada apenas no *Ziziphus joazeiro* (Juazeiro). Isso nos leva a inferir que, em nosso estudo, a dominância na serrapilheira do café da espécie *Sieverdingia tortuosa*, também de Diversiporaceae, pode ter sido causada pela sua preferência por folhas e compostos liberados na decomposição da serrapilheira de café. Adicionalmente, no presente estudo, duas espécies da família Glomeraceae e duas da Acaulosporaceae foram consideradas indicadoras na serrapilheira da mata nativa (Figura 8a), pertencendo aos gêneros *Acaulospora* e *Glomus*, respectivamente, que também foram consideradas indicadoras da serrapilheira da Mata Atlântica em Floresta Subtropical (Kemmelmeier et al., 2022).

A densidade de esporos no solo em relação à sazonalidade aumentou apenas nos talhões de cafezal durante a época seca, ao contrário da mata nativa, que foi similar nas duas épocas (Figura 3). Arias et al. (2012), ao estudar a diversidade e abundância de esporos sob diferentes sistemas de produção de café em uma mancha de floresta tropical

no México, também observaram um aumento do número de esporos na época seca em talhões de cafezais. A ausência de diferença na mata entre a estação seca e chuvosa pode estar relacionada à maior estabilidade deste ecossistema, uma vez que se trata de uma mata fechada com árvores altas, diminuindo a perda de umidade e variação extrema de temperatura. No café cultivado a pleno sol, os FMA estão sujeitos a um maior estresse hídrico e térmico que favorece a esporulação. Segundo Redhead (1975), a disponibilidade reduzida de água durante a estação seca, a maior incidência solar em dias sem chuva e a maior exposição ao frio, pode induzir o cafeeiro ao estresse, refletindo em estímulo à esporulação dos FMA, como estratégia de sobrevivência do fungo para lidar com o estresse, ressecamento e morte de raízes finas. Adicionalmente, o manejo convencional de cafezais no bioma da Mata Atlântica pode criar condições estressantes para a comunidade microbiana do solo reduzindo os valores de indicadores bioquímicos de qualidade do solo (da Silva Aragão et al., 2023).

A agricultura altamente tecnificada e com elevado uso de insumos (fertilizantes e defensivos) é uma característica marcante da cafeicultura brasileira, predominantemente praticada em áreas a sol pleno. As práticas de manejo incluem a aplicação de defensivos agrícolas e fertilizantes, como o NPK. O fósforo disponível (Mehlich I) nos solos dos talhões de café estava na faixa de 36 a 50 mg/dm³, considerado muito elevado em solos tropicais. Tradicionalmente, esses solos possuem baixos teores disponíveis de fósforo, como pode ser observado na mata nativa (Tabela 1). Siqueira et al. (1998) mostraram que a aplicação de doses elevadas de fósforo contribui para a redução do número de esporos em áreas de café. O que foi corroborado pelos nossos resultados demonstrando que o menor número de esporos ocorreu nos cafezais com elevados teores de P e outros nutrientes, os quais também podem contribuir para a inibição da colonização de FMAs (Sieverding, 1991). Essa justificativa também é apoiada pela ausência de correlação entre os maiores teores disponíveis de P, Zn, K, B, Mg, S e Ca com o número de esporos e a riqueza de espécies de FMA (Figura 3). Além disso, em relação à SOM, aos teores de Al e H+Al, e ao índice de saturação de alumínio (m), o presente trabalho está em conformidade com o observado por Prates et al. (2019) em uma talhões de café com fragmento de mata inserido no bioma da Mata Atlântica, onde esses atributos contribuíram para distinguir essas áreas e a comunidade de FMA em uma análise de PCA. Da mesma forma que observado no presente estudo, a riqueza de FMA e a disponibilidade de fósforo no solo demonstram uma correlação negativa, conforme evidenciado em outros estudos (Treseder, 2004; Van Geel et al., 2017). Essa tendência é observada também em

plantações convencionais na Costa Rica e Etiópia (Aldrich-Wolfe et al., 2020; De Beenhouwer et al., 2015).

5. Conclusão

A análise da comunidade de FMA em diferentes ambientes de uso da terra revelou insights significativos sobre o impacto da cafeicultura e da necessidade de preservação da Mata Atlântica. Observamos que a cafeicultura influencia negativamente a densidade de esporos e a diversidade de espécies de FMA, tanto no solo quanto na serrapilheira, em comparação com áreas de preservação da Mata Atlântica. Além disso, a diversidade de espécies exclusivas da Mata Atlântica foi maior do que aquelas encontradas nos talhões de cafeicultura, em ambos os ambientes. Não foram encontradas espécies exclusivas na serrapilheira de cafezais, destacando a importância de preservar ecossistemas naturais para a conservação da biodiversidade.

Observamos também que a sazonalidade afeta a esporulação dos FMAs nos cafezais, com a época seca e fria do ano favorecendo uma maior esporulação, enquanto na Mata Atlântica não identificamos efeito sazonal na esporulação dos FMAs. Isso ressalta a importância de considerar variações sazonais ao avaliar a dinâmica das comunidades de FMA em área de cultivo.

Além disso, nossa avaliação da diversidade de espécies de FMA na serrapilheira revelou-se crucial em levantamentos taxonômicos, permitindo o acesso a espécies exclusivas que poderiam ser negligenciadas na composição da comunidade. Esses resultados ressaltam a necessidade de incluir a serrapilheira nos estudos de biodiversidade para uma compreensão mais abrangente da comunidade de FMA em diferentes ambientes, principalmente em áreas florestais. Por fim, identificamos que os teores mais elevados de fósforo, boro e argila diferenciaram as comunidades de FMA entre os talhões de café e a Mata Atlântica.

6. Referências

ALDRICH-WOLFE, Laura et al. Taxonomic shifts in arbuscular mycorrhizal fungal communities with shade and soil nitrogen across conventionally managed and organic coffee agroecosystems. **Mycorrhiza**, v. 30, p. 513-527, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00572-020-00967-7>

ALBERDI, A.; GILBERT, P. T. M. hilldiv: an R package for the integral analysis of diversity based on Hill numbers. *bioRxiv*, 2019. Disponível em: <https://www.biorxiv.org/content/10.1101/545665v1>. Acesso em: 25 de janeiro 2024.

ANDERSON, M. J. A new method for non-parametric multivariate analysis of variance. *Austral Ecology*, v. 26, p. 32–46, 2001. DOI: <https://doi.org/10.1046/j.1442-9993.2001.01070.x>.

ARISTIZÁBAL, Catalina; RIVERA, Emma Lucía; JANOS, David P. Arbuscular mycorrhizal fungi colonize decomposing leaves of *Myrica parvifolia*, *M. pubescens* and *Paepalanthus* sp. **Mycorrhiza**, v. 14, p. 221-228, 2004. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00572-003-0259-0>

BATES, D.; MÄCHLER, M.; BOLKER, B.; WALKER, S. Fitting Linear Mixed-Effects Models Using lme4. *Journal of Statistical Software*, v. 67, 2015. DOI: <https://doi.org/10.18637/jss.v067.i01>.

BENJAMINI, Y.; HOCHBERG, Y. Controlling the False Discovery Rate: A Practical and Powerful Approach to Multiple Testing. *Journal of the Royal Statistical Society: Series B (Methodological)*, v. 57, p. 289–300, 1995. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.2517-6161.1995.tb02031.x>.

BLASZKOWSKI, Janusz. "Glomeromycota." 2024. http://www.zor.zut.edu.pl/Glomeromycota_2/Home.html. Accessed May 26, 2024.

BORCARD, D.; GILLET, F.; LEGENDRE, P. *Numerical Ecology with R*, 2nd ed. Springer International Publishing, Cham, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1007/978-3-319-71404-2>.

BOUYOUCOS, George John. A recalibration of the hydrometer method for making mechanical analysis of soils 1. **Agronomy journal**, v. 43, n. 9, p. 434-438, 1951. DOI: <https://doi.org/10.2134/agronj1951.00021962004300090005x>

BUNN, Rebecca A. et al. Revisiting the ‘direct mineral cycling’ hypothesis: arbuscular mycorrhizal fungi colonize leaf litter, but why?. **The ISME journal**, v. 13, n. 8, p. 1891-1898, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41396-019-0403-2>

CÁCERES M DE, LEGENDRE P. Associations between species and groups of sites: indices and statistical inference. *Ecology* 90:3566–3574, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1890/08-1823.1>

CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento. (2023). Monitoring the Brazilian coffee crop. Brasília: Conab, v. 8. Available at: <https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/cafe> Acessado em: 30 de outubro de 2023.

DA SILVA ARAGÃO, Osnar Obede et al. Physical, Chemical, and Microbiological Attributes as Discriminators of Coffee-Growing and Forest Sites in Different Soils in the Brazilian Atlantic Forest Biome. **Journal of Soil Science and Plant Nutrition**, v. 23, n. 4, p. 6767-6776, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1007/s42729-023-01532-9>

DAVISON, J. et al. Global assessment of arbuscular mycorrhizal fungus diversity reveals very low endemism. *Science*, v. 349, n. 6251, p. 970-973, 2015. DOI: 10.1126/science.aab1161

DE BEENHOUWER, Matthias et al. Changing soil characteristics alter the arbuscular mycorrhizal fungi communities of Arabica coffee (*Coffea arabica*) in Ethiopia across a management intensity gradient. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 91, p. 133-139, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2015.08.037>

DE CÁCERES M.; LEGENDRE P.; WISER SK.; BROTONS L. Using species combinations in indicator value analyses. *Methods Ecol Evol* 3:973–982, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.2041-210X.2012.00246.x>

DE OLIVEIRA, Itamar Pereira; OLIVEIRA, Luana Carvalho; DE MO, Camila Stéffane Fernandes Teixeira. Cultura de café: histórico, classificação botânica e fases de crescimento. *Revista Eletrônica Faculdade Montes Belos*, v. 5, n. 4, 2012.

DÍAZ-ARIZA, Lucía Ana; RIVERA, Emma Lucía; SÁNCHEZ, Natalia. Occurrence of arbuscular mycorrhizal fungi in leaf litter and roots of shaded coffee plantations under organic and conventional management. **Revista Brasileira de Ciencia do Solo**, v. 45, p. e0200110, 2021. DOI: <https://doi.org/10.36783/18069657rbcs20200110>

DORMANN, C. F. et al. Collinearity: a review of methods to deal with it and a simulation study evaluating their performance. *Ecography*, v. 36, p. 27–46, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1600-0587.2012.07348.x>.

DUFRENE M.; LEGENDRE P. Species Assemblages and Indicator Species: The Need for a Flexible Asymmetrical Approach. *Ecol Monogr* 67:345, 1997. DOI: <https://doi.org/10.2307/2963459>

EGAN, Cameron; LI, De-Wei; KLIRONOMOS, John. Detection of arbuscular mycorrhizal fungal spores in the air across different biomes and ecoregions. **Fungal Ecology**, v. 12, p. 26-31, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.funeco.2014.06.004>

GERDEMANN, J. W.; NICOLSON, T. Hs. Spores of mycorrhizal Endogone species extracted from soil by wet sieving and decanting. **Transactions of the British Mycological society**, v. 46, n. 2, p. 235-244, 1963.

GUI, Heng et al. Arbuscular mycorrhiza enhance the rate of litter decomposition while inhibiting soil microbial community development. **Scientific reports**, v. 7, n. 1, p. 42184, 2017. Doi: 10.1038/srep42184.

HILL, M. O. Diversity and Evenness: A Unifying Notation and Its Consequences. *Ecology*, v. 54, p. 427–432, 1973. DOI: <https://doi.org/10.2307/1934352>.

HOEFT, R. G.; WALSH, L. M.; KEENEY, D. R. Evaluation of various extractants for available soil sulfur. **Soil Science Society of America Journal**, v. 37, n. 3, p. 401-404, 1973. DOI: <https://doi.org/10.2136/sssaj1973.03615995003700030027x>

INPE, Pesquisas Espaciais/INPE (2023) Instituto Nacional de Atlas dos Remanescentes Florestais da Mata Atlântica período 2021–2022. Fundação SOS Mata Atlântica.

Disponível em: https://cms.sosma.org.br/wp-content/uploads/2023/05/SOSMAAtlas-da-Mata-Atlantica_2021-2022-1.pdf. Acessado em: 25 de janeiro 2024.

INVAM. "Species Descriptions." <https://invam.ku.edu/species-descriptions>. Accessed May 26, 2024.

JENKINS, W. R. B. et al. A rapid centrifugal-flotation technique for separating nematodes from soil. **Plant disease reporter**, v. 48, n. 9, 1964.

JOBIM, Khadija et al. New sporocarpic taxa in the phylum Glomeromycota: *Sclerocarpum amazonicum* gen. et sp. nov. in the family Glomeraceae (Glomerales) and *Diversispora sporocarpia* sp. nov. in the Diversisporaceae (Diversisporales). **Mycological Progress**, v. 18, p. 369-384, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11557-018-01462-2>

JOBIM, Khadija; VISTA, Xochitl Margarito; GOTO, Bruno Tomio. Updates on the knowledge of Arbuscular Mycorrhizal Fungi (Glomeromycotina) in the Atlantic Forest biome—an example of very high species richness in the Brazilian landscape. **Mycotaxon**, v. 133, n. 1, p. 209-209, 2018. DOI: <https://doi.org/10.5248/133.209><https://doi.org/10.5248/133.209>

JOHNSON, Nancy Collins. Can fertilization of soil select less mutualistic mycorrhizae?. **Ecological applications**, v. 3, n. 4, p. 749-757, 1993. DOI: <https://doi.org/10.2307/1942106>

JOST, L. Entropy and diversity. *Oikos*, v. 113, p. 363–375, 2006. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.2006.0030-1299.14714.x>.

KEMMELMEIER, K., DOS SANTOS, D.A., GRITZ, G.S. et al. Composition and seasonal variation of the arbuscular mycorrhizal fungi spore community in litter, root mat, and soil from a subtropical rain forest. **Mycorrhiza** 32, 409–423, 2022. <https://doi.org/10.1007/s00572-022-01084-3>

LENTH, R. v. et al. Estimated Marginal Means, aka Least-Squares Means. American Statistician, 2021.

LIMA, J. L. R. de et al. Recovering arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) from decomposing litter: an unusual approach. *New Zealand Journal of Botany*, p. 1-17, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1080/0028825X.2023.2232332>

MAIA, L.C. et al. Species diversity of Glomeromycota in Brazilian biomes. *Sydowia*, v. 72, p. 181-205, 2020. DOI 10.12905/0380.sydowia72-2020-0181.

MCLEAN, E. O. et al. Aluminum in soils: I. Extraction methods and magnitudes in clays and Ohio soils. *Soil Science Society of America Journal*, v. 22, n. 5, p. 382-387, 1958. DOI: <https://doi.org/10.2136/sssaj1958.03615995002200050005x>

MCMURDIE, P. J.; HOLMES, S. PHYLOSEQ: An R Package for Reproducible Interactive Analysis and Graphics of Microbiome Census Data. *PLoS One*, v. 8, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0061217>.

MENGE, E. M. et al. Evaluating the impact of land-use change on Arbuscular Mycorrhizal Fungi (AMF) diversity and function. *International Journal of Science and*

Research Archive, v. 10, n. 2, p. 546-556, 2023. DOI: <https://doi.org/10.30574/ijrsra.2023.10.2.1012>

MEHLICH, AJNCSTD. Determination of P, Ca, mg, K, Na, and NH₄. **North Carolina Soil Test Division (Mimeo 1953)**, v. 2, p. 23-89, 1953.

MELLO, Catarina Maria Aragão de et al. Diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in an area of Caatinga, PE, Brazil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 26, p. 938-943, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0102-33062012000400023>

OKSANEN, J. et al. Vegan: Community Ecology Package, 2022.

PRATES JÚNIOR, Paulo et al. Agroecological coffee management increases arbuscular mycorrhizal fungi diversity. **PLoS One**, v. 14, n. 1, p. e0209093, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0209093>

PRATES, Paulo et al. Structure of AMF Community in an Agroforestry System of Coffee and Macauba Palm. *Floresta e Ambiente*, v. 28, 2021. <https://doi.org/10.1590/1519-6984.02414>

R CORE TEAM. R: A Language and Environment for Statistical Computing, 2020.

RAIJ, B. V. et al. Análise de solo para avaliação da fertilidade de solos tropicais. Campinas: IAC. 285 p 2001.

READ, D. J. The Mycorrhizal Mycelium DJ Read. Mycorrhizal functioning: an integrative plant-fungal process, p. 102, 1992.

REZENDE, Camila Linhares et al. From hotspot to hopespot: An opportunity for the Brazilian Atlantic Forest. **Perspectives in ecology and conservation**, v. 16, n. 4, p. 208-214, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.pecon.2018.10.002>

REDHEAD, J. F. Endotrophic mycorrhizas in Nigeria: some aspects of the ecology of the endotrophic mycorrhizal association of *Khaya grandifoliola* C. DC. In: **Endomycorrhizas; Proceedings of a Symposium**. 1975.

RIBEIRO, Milton Cezar et al. The Brazilian Atlantic Forest: a shrinking biodiversity hotspot. **Biodiversity hotspots: distribution and protection of conservation priority areas**, p. 405-434, 2011. DOI: https://doi.org/10.1007/978-3-642-20992-5_21

SCHALAMUK, S. et al. Fungal spore diversity of arbuscular mycorrhizal fungi associated with spring wheat: effects of tillage. **Mycologia**, v. 98, n. 1, p. 16-22, 2006. DOI: <https://doi.org/10.1080/15572536.2006.11832708>

SHOEMAKER, H. E.; MCLEAN, E. O.; PRATT, P. F. Buffer methods for determining lime requirement of soils with appreciable amounts of extractable aluminum. **Soil Science Society of America Journal**, v. 25, n. 4, p. 274-277, 1961. DOI: <https://doi.org/10.2136/sssaj1961.03615995002500040014x>

SIEVERDING, Ewald. **Vesicular-arbuscular mycorrhiza management: in tropical agrosystems**. GTZ, 1991.

- SIQUEIRA, José O. et al. Arbuscular mycorrhizal inoculation and superphosphate application influence plant development and yield of coffee in Brazil. **Mycorrhiza**, v. 7, n. 6, p. 293-300, 1998. DOI: <https://doi.org/10.1007/s005720050195>
- SIQUEIRA, J. O. et al. Crescimento de mudas e produção do cafeeiro sob influência de fungos micorrízicos e superfosfato. *Revista Brasileira de Ciencia do Solo (Brasil)* v. 17 (1) p. 53-60, 1993.
- STÜRMER, S. L.; SIQUEIRA, J. O. Diversidade de fungos micorrízicos arbusculares em ecossistemas brasileiros. **Biodiversidade do solo em ecossistemas brasileiros**, p. 537-583, 2008.
- STÜRMER, Sidney Luiz; KEMMELMEIER, Karl. The Glomeromycota in the neotropics. *Frontiers in microbiology*, v. 11, p. 553679, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.553679>
- TEDERSOO, Leho et al. Global diversity and geography of soil fungi. *science*, v. 346, n. 6213, p. 1256688, 2014. DOI: 10.1126/science.1256688
- TRESEDER, K. K. Uma meta-análise das respostas micorrízicas ao nitrogênio, fósforo e CO₂ atmosférico em estudos de campo. **Novo fitólogo** , v. 164, n. 2, pág. 347-355, 2004. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2004.01159.x>
- VAN GEEL, Maarten et al. High soil phosphorus levels overrule the potential benefits of organic farming on arbuscular mycorrhizal diversity in northern vineyards. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, v. 248, p. 144-152, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.agee.2017.07.017>
- VERESOGLOU, SD, CARUSO, T. ; RILLIG, MC Modelling the environmental and soil factors that shape the niches of two common arbuscular mycorrhizal fungal families. **Plant Soil** 368, 507–518, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11104-012-1531-x>
- VOŘÍŠKOVÁ, Jana; BALDRIAN, Petr. Fungal community on decomposing leaf litter undergoes rapid successional changes. **The ISME journal**, v. 7, n. 3, p. 477-486, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1038/ismej.2012.116>
- WALKLEY, Aldous; BLACK, I. Armstrong. An examination of the Degtjareff method for determining soil organic matter, and a proposed modification of the chromic acid titration method. **Soil science**, v. 37, n. 1, p. 29-38, 1934.
- WICKHAM, H. *ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis, Use R!* Springer International Publishing, Cham, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1007/978-3-319-24277-4>.
- ZACHOS, Frank E.; HABEL, Jan Christian (Ed.). **Biodiversity hotspots: distribution and protection of conservation priority areas**. Springer Science & Business Media, 2011.

Material Suplementar – Artigo II

Tabela S5. Abundância média com desvio padrão e número total de esporos para cada espécie de fungos micorrízicos arbusculares no solo em floresta e plantações de café no bioma da Mata Atlântica, em diferentes sazonalidades.

Área	NKG I	NKG II	KALUNGA I	KALUNGA II	Número total de esporos de cada espécie
Tratamento	Solo	Solo	Solo	Solo	
Época	seca	seca	seca	Seca	
Local (transecto)	Floresta	Floresta	Floresta	Floresta	
Espécies \	$\bar{x}$	$\bar{x}$	$\bar{x}$	$\bar{x}$	
1 <i>Acaulospora denticulata</i>	5 ±9				23
2 <i>Acaulospora endographis</i> *				5 ±9	24
3 <i>Acaulospora rehmsii</i>	26 ±27		4 ±8	22 ±29	257
4 <i>Acaulospora scrobiculata</i> *	25 ±33	102 ±55	6 ±12	8 ±15	705
5 <i>Ambispora leptoticha</i> *	9 ±11		6 ±12		73
6 Unidentified sp.2	5 ±9		6 ±12		52
7 Unidentified sp 1*		2 ±3	12 ±23		67
8 <i>Sieverdingia tortuosa</i> *	219 ±236	173 ±92	204 ±92	309 ±163	4523
9 <i>Gigaspora sp</i> *	42 ±26	35 ±17	12 ±10	18 ±18	537
10 <i>Glomus clavisporum</i>				4 ±8	19
11 <i>Glomus glomerulatum</i> *		7 ±14	3 ±6		51
12 <i>Glomus macrocarpum</i> *	563 ±348	812 ±286	769 ±354	969 ±323	15560
13 <i>Rhizoglomus microaggregatum</i> *	10 ±12	2 ±3		5 ±9	82
14 <i>Glomus pansihalos</i> *			19 ±18		97
15 <i>Rhizophagus fasciculatus</i> *	17 ±17	11 ±12	83 ±121	58 ±14	845
16 <i>Rhizophagus intraradices</i> *	19 ±32	9 ±12	12 ±23	71 ±50	557
Época	úmida	úmida	úmida	úmida	Total
Espécies \	$\bar{x}$	$\bar{x}$	$\bar{x}$	$\bar{x}$	
1 <i>Acaulospora endographis</i>	42 ±39		20 ±24	18 ±15	400
2 <i>Acaulospora foveata</i>		17 ±26		7 ±8	118
3 <i>Acaulospora rehmsii</i>				2 ±4	10
4 <i>Acaulospora scrobiculata</i> **	4 ±7	20 ±20	27 ±11	118 ±92	839
5 <i>Acaulospora tuberculata</i> **	22 ±23	2 ±4	79 ±45	23 ±19	631
6 <i>Ambispora leptoticha</i> **		4 ±8		5 ±10	45
7 <i>Dentiscutata heterogama</i>	2 ±5				12
8 Unidentified sp. 1**		3 ±6		11 ±10	69
9 <i>Sieverdingia tortuosa</i> **	177 ±167	201 ±164	174 ±66	235 ±176	3938
10 <i>Gigaspora sp</i> **	39 ±31	13 ±17		4 ±7	278
11 <i>Glomus clavisporum</i> **		4 ±7			18
12 <i>Glomus glomerulatum</i>		4 ±8			19
13 <i>Glomus macrocarpum</i> **	700 ±195	801 ±185	324 ±124	652 ±193	12382
14 <i>Rhizoglomus microaggregatum</i> **	26 ±35	4 ±7		9 ±11	191

15	<i>Glomus pansihalos</i>	8 ±9				38
16	<i>Racocetra persica</i> **	21 ±25				103
17	<i>Rhizophagus fasciculatos</i> **	36 ±26	90 ±66	63 ±9	58 ±58	1234
18	<i>Rhizophagus intraradices</i> **	67 ±80	15 ±13	11 ±13	52 ±29	725
19	<i>Scutellospora sp</i> **		7 ±14			35
	Área	Biazus	CA20	Galpão	Samambaia	Número
	Tratamento	Solo	Solo	Solo	Solo	total de
	Época	seca	seca	seca	seca	esporos
	Local	Café	Café	Café	Café	de cada
	Espécies \	$\bar{x}$	$\bar{x}$	$\bar{x}$	$\bar{x}$	espécie
1	<i>Acaulospora sp</i>	6 ±12				31
2	<i>Acaulospora endographis</i> *		9 ±18		25 ±43	171
3	<i>Acaulospora scrobiculata</i> *	45 ±62	7 ±14		2 ±5	272
4	<i>Ambispora leptoticha</i> *	25 ±49				123
5	Unidentified sp 1*	19 ±38				95
6	<i>Sieverdingia tortuosa</i> *	393 ±196	237 ±140	185 ±52	345 ±172	5804
7	<i>Gigaspora sp</i> *	37 ±59	12 ±16	18 ±15	6 ±13	364
8	<i>Glomus glomerulatum</i> *	6 ±12	7 ±14	10 ±19		115
9	<i>Glomus macrocarpum</i> *	448 ±199	262 ±72	234 ±133	162 ±106	5530
10	<i>Rhizoglomus microaggregatum</i> *	6 ±13	4 ±7	4 ±9	6 ±7	99
11	<i>Glomus pansihalos</i> *	12 ±25	3 ±6			76
12	<i>Racocetra persica</i>				3 ±6	16
13	<i>Rhizophagus Fasciculatos</i> *	72 ±92	21 ±41	24 ±48		584
14	<i>Rhizophagus intraradices</i> *	271 ±246	63 ±87		10 ±19	1720
	Época	úmida	úmida	úmida	úmida	Total
	Espécies \	$\bar{x}$	$\bar{x}$	$\bar{x}$	$\bar{x}$	
1	<i>Acaulospora denticulata</i>	1 ±3				7
2	<i>Acaulospora scrobiculata</i> **	64 ±38	71 ±26	60 ±50		969
3	<i>Acaulospora tuberculata</i> **		2 ±4	11 ±17		67
4	<i>Ambispora leptoticha</i> **		3 ±5	14 ±8		83
5	Unidentified sp. 1**	3 ±6	7 ±9	3 ±5		66
6	<i>Sieverdingia tortuosa</i> **	131 ±59	138 ±59	136 ±39	236 ±57	3203
7	<i>Gigaspora sp</i> **	8 ±10	10 ±17			93
8	<i>Glomus clavisporum</i> **			10 ±12		50
9	<i>Glomus macrocarpum</i> **	230 ±84	294 ±79	359 ±160	166 ±71	5247
10	<i>Rhizoglomus microaggregatum</i> **			12 ±18	1 ±3	65
11	<i>Racocetra persica</i> **			5 ±9		23
12	<i>Rhizophagus Fasciculatos</i> **	2 ±4	1 ±2			14
13	<i>Rhizophagus intraradices</i> **	30 ±19	67 ±44	4 ±9	16 ±22	590
14	<i>Scutellospora sp</i> **	3 ±6				16

(*) Espécies em comum na área de floresta e café durante a época seca;

(**) Espécies em comum entre floresta e café durante a época úmida.

Tabela S4. Resultados resumidos da análise PerMANOVA baseada em comparações pareadas para o efeito do uso da terra e da estação na composição das espécies de fungos micorrízicos arbusculares das comunidades do solo no estado de Minas Gerais.

Source	df	SS	F	R^2	Adj. p
L	1	2.06	24.78	0.23	0.0003
S	1	0.35	4.26	0.04	0.0105
L $\times$ S	1	0.23	2.78	0.03	0.0386
Residuals	76	6.33		0.70	
Total	79	8.98		1.00	

L, uso da terra; S, estação; df, grau de liberdade; SS, soma dos quadrados; F, estatística F; R^2 , variância explicada; Adj. p , valores de p ajustados com base no procedimento de Benjamini-Hochberg.

Tabela S5. Resultados resumidos da seleção progressiva de variáveis ambientais obtidas na análise de db-RDA com testes de Monte Carlo para a composição de fungos micorrízicos arbusculares.

Variable	Adj. R^2	df	AIC	F	Adj. P
Clay	5.8	1	269.8	5.85	0.0005
Silt	7.0	1	269.76	1.99	0.0010
B	7.7	1	270.08	1.62	0.0073
Fe	8.2	1	270.55	1.45	0.0170
P	8.8	1	270.98	1.46	0.0170
All variables	9.4				

Adj. R^2 , variância explicada ajustada; df, grau de liberdade; AIC, Critério de Informação de Akaike; F, estatística F; Adj. p, valores de p ajustados com base no procedimento de Benjamini-Hochberg.

Tabela S6. Resultados resumidos da análise PerMANOVA baseada em comparações pareadas para o efeito do uso da terra e da estação na composição das espécies de fungos micorrízicos arbusculares das comunidades de serapilheira no estado de Minas Gerais.

Source	df	SS	F	R^2	Adj. p
L	1	3.57	31.77	0.27	0.0002
S	1	0.92	8.20	0.07	0.0002
L $\times$ S	1	0.34	2.98	0.03	0.0281
Residuals	76	8.54		0.64	
Total	79	13.37		1.00	

L, uso da terra; S, estação; df, graus de liberdade; SS, soma dos quadrados; F, estatística F; R^2 , variância explicada; Adj. p, valores de p ajustados com base no procedimento de Benjamini-Hochberg.

Tabela S9. Resultados da análise de redundância baseada em distância (db-RDA) para os fatores ambientais de mudanças na composição da comunidade de fungos micorrízicos arbusculares em diferentes usos da terra nas estações seca e chuvosa no estado de Minas Gerais.

Measurements	CAP1	CAP2
Eigenvalue	2,49	0,83
Proportion Explained	56,52	18,91
Cumulative Proportion	56,52	75,44
Variable loadings		
Clay	0,90	0,18
Silt	-0,88	0,25
B	0,80	0,29
Fe	-0,74	0,13
P	0,49	0,26

Tabela S10. Resultados da análise de componentes principais para os fatores ambientais de mudanças na composição da comunidade de fungos micorrízicos arbusculares em diferentes usos da terra nas estações seca e chuvosa no estado de Minas Gerais.

Measurements	PC1	PC2
Eigenvalue	11,39	4,14
Proportion Explained	42,19	15,34
Cumulative Proportion	42,19	57,53
Variables loadings		
H+Al	1,22	0,01
Al ³⁺	1,17	0,01
m%	1,16	0,10
Fe	1,10	-0,04
CEC _p	0,88	-0,63
Silt	0,84	-0,36
Spores	0,66	-0,28
SOM	0,57	-0,92
Sand	0,53	-0,07
$q = 0$	0,50	-0,57
Mn	0,50	-0,82
$q = 1$	-0,01	-0,51
P	-0,68	0,16
S	-0,68	0,69
Mg ²⁺	-0,82	-0,92
CEC _e	-0,87	-0,91
B	-0,90	0,57
Zn	-0,92	0,13
Clay	-0,95	0,31
Ca ²⁺	-0,99	-0,79
BS	-1,00	-0,80
K ⁺	-1,11	0,07
pH	-1,16	-0,10
V%	-1,22	-0,34

BS, soma de bases; CEC_e, capacidade de troca catiônica efetiva; CEC_p, capacidade de troca catiônica potencial; SOM, matéria orgânica do solo; V%, saturação por bases; m%, saturação por alumínio; H+Al, acidez potencial.

Tabela S11. Abundância média com desvio padrão e número total de esporos para cada espécie de fungos micorrízicos arbusculares na serrapilheira em floresta e plantações de café no bioma da Mata Atlântica, em diferentes sazonalidades.

Área		NKG I	NKG II	KALUNGAI	KALUNGAI		BIAZUS	CA20	GALPÃO	SAMAMBAIA	
Tratamento		serrapilheira					serrapilheira				
Época da coleta		Seca				Total	Seca				Total
Local		Floresta					Café				
Família ↘	Espécie↘	$\bar{x}$	$\bar{x}$	$\bar{x}$	$\bar{x}$		$\bar{x}$	$\bar{x}$	$\bar{x}$	$\bar{x}$	
Acaulosporaceae	<i>Acaulospora denticulata</i> *	2±5	10±21			64	12±15				61
Acaulosporaceae	<i>Acaulospora foveata</i>	12±23		1±3	67±63	399					
Acaulosporaceae	<i>Acaulospora rehmi</i>	17±33	27±41	5±11	144±157	964					
Acaulosporaceae	<i>Acaulospora scrobiculata</i> *	48±26	201±114	90±86	51±30	1951	15±29			9±13	119
Acaulosporaceae	<i>Acaulospora tuberculata</i>				4±8	19					
Ambisporaceae	<i>Ambispora leptoticha</i>		3±6			15					
Unidentified sp. 2	<i>sp 2</i> *		5±10		8±15	65	3±7				17
Unidentified sp. 1	<i>sp 1</i> *	5±9		25±50		148	7±15				36
Diversisporaceae	<i>Sieverdingia tortuosa</i> *	386±86	312±157	254±96	272±112	6122	841±295	242±83	503±197	292±120	9391
Gigasporaceae	<i>Gigaspora sp</i> *	65±25	41±32	10±12	12±25	643	70±35		8±15		388
Glomeraceae	<i>Glomus glomerulatum</i>	12±11	8±12		4±8	124					
Glomeraceae	<i>Glomus macrocarpum</i> *	582±270	901±324	375±409	600±318	12288	371±82	50±26	122±78	110±52	3257
Glomeraceae	<i>Rhizoglomus microaggregatum</i> *	2±5			4±8	31	19±16				97
Glomeraceae	<i>Glomus multicaule</i>		1±2	7±10		37					
Glomeraceae	<i>Glomus pansihalos</i> *			135±217		676			5±11		26
Glomeraceae	<i>Glomus sp.</i>	2±5				12					
Gigasporaceae	<i>Racocetra persica</i>		2±4			9					
Glomeraceae	<i>Rhizophagus fasciculatos</i> *	14±28	82±104	29±36	81±49	1025	4±8				20
Glomeraceae	<i>Rhizophagus intraradices</i> *	67±19	28±48	34±61	31±36	796	23±32	17±16	7±15		237
Gigasporaceae	<i>Scutellospora scutata</i>	4±8				21					
Gigasporaceae	<i>Scutellospora sp</i>			5±11		27					

Área		NKG I	NKG II	KALUNGAI	KALUNGAI	Total	BIAZUS	CA20	GALPÃO	SAMAMBAIA	Total
Época da coleta				úmida					úmida		
Família \	Espécie\	$\bar{x}$	$\bar{x}$	$\bar{x}$	$\bar{x}$		$\bar{x}$	$\bar{x}$	$\bar{x}$	$\bar{x}$	
Acaulosporaceae	<i>Acaulospora colombiana</i>		5±10			25					
Acaulosporaceae	<i>Acaulospora endographis</i>			2±4		11					
Acaulosporaceae	<i>Acaulospora laevis</i>		5±10			25					
Acaulosporaceae	<i>Acaulospora foveata</i> **	28±30	49±63	2±4	9±11	439		7±13			33
Acaulosporaceae	<i>Acaulospora rehmi</i> **		40±33		80±81	599	17±21				86
Acaulosporaceae	<i>Acaulospora scrobiculata</i> **	58±48	260±185	60±22	87±96	2324	128±47	35±21	24±28	9±12	1027
Acaulosporaceae	<i>Acaulospora tuberculata</i> **	17±15	44±31	84±93	77±78	1113	64±59	4±7		5±10	361
Ambisporaceae	<i>Ambispora leptoticha</i> **			2±3	9±19	55			13±14	3±5	105
Unidentified sp. 2	<i>sp 2</i> **	6±8	3±6		5±9	70		13±19	18±21		195
Unidentified sp. 1	<i>sp 1</i> **			2±3	8±15	47	16±20				81
Diversisporaceae	<i>Sieverdingia tortuosa</i> **	217±86	226±155	134±35	287±112	4322	388±223	130±67	63±48	125±31	3637
Gigasporaceae	<i>Gigaspora sp</i> **	29±30	18±30	11±21	14±28	354	8±16	9±11			85
Glomeraceae	<i>Glomus glomerulatum</i> **	13±11		2±4	1±3	84	3±5	4±7	2±4		48
Glomeraceae	<i>Glomus macrocarpum</i> **	906±372	885±376	724±227	664±362	15899	255±147	71±38	166±48	32±23	2832
Glomeraceae	<i>Rhizoglomus microaggregatum</i> **	5±6	14±22	4±5	5±9	138			2±4		16
Glomeraceae	<i>Glomus multicaule</i>			2±4		10					
Glomeraceae	<i>Glomus pansihalos</i> **			3±6		16			3±5		20
Gigasporaceae	<i>Racocetra persica</i>	6±7	3±6			43					
Glomeraceae	<i>Rhizophagus fasciculatos</i> **	84±58	121±126	128±88	51±48	1921		8±11			42
Glomeraceae	<i>Rhizophagus intraradices</i> **	69±36	16±22		63±68	742	48±44	22±27	54±45	2±5	734

Gigasporaceae	<i>Scutellospora scutata</i>	2±5			12
Gigasporaceae	<i>Scutellospora sp</i>		1±2	6±11	33

(*) Espécies em comum na área de floresta e café durante a época seca;

(**) Espécies em comum entre floresta e café durante a época úmida

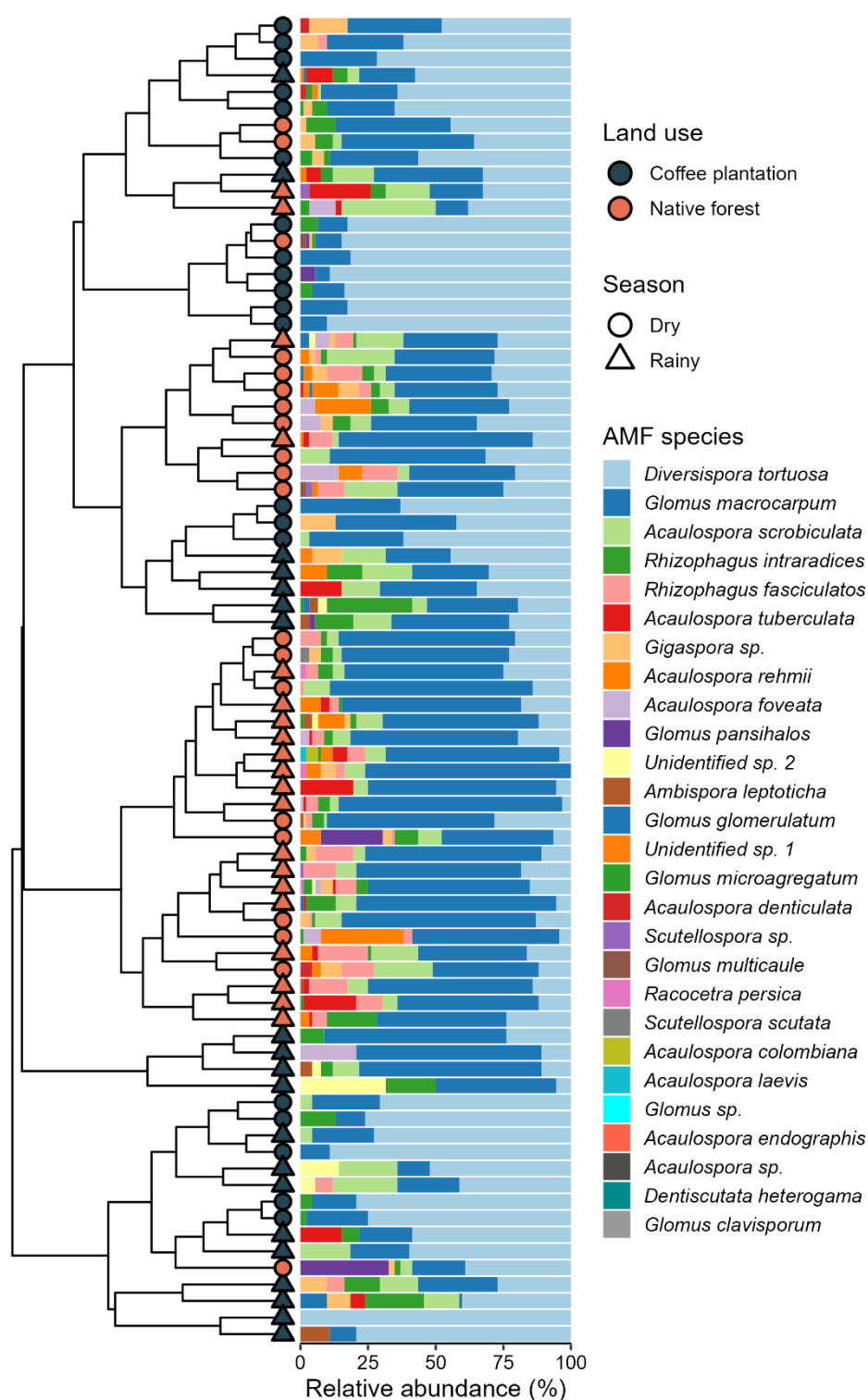


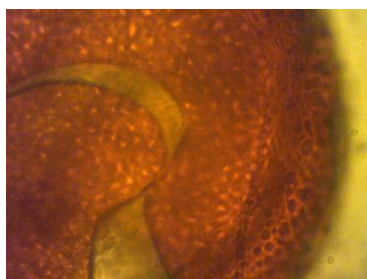
Fig. S2. As abundâncias relativas das espécies de fungos micorrízicos arbusculares em diferentes usos da terra ao longo das estações seca e chuvosa no estado de Minas Gerais foram apresentadas. O dendrograma lateral foi utilizado para representar o agrupamento das amostras com base na métrica de dissimilaridade de Bray-Curtis aplicada à abundância das espécies com o método de cluster "complete".



Fig. S3. Serrapilheira de café na época chuvosa com destaque para raízes superficiais a). Serrapilheira de mata nativa b).



A. endographis



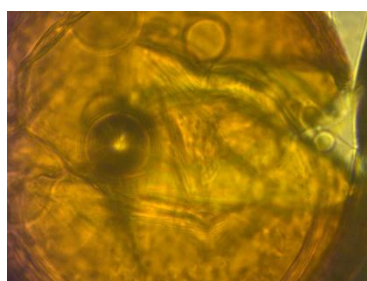
A. foveata



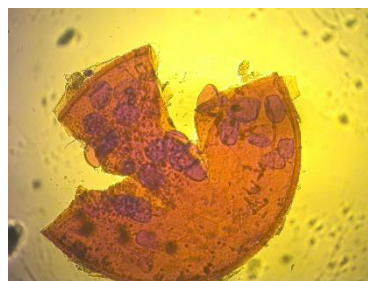
G. glomerulatum



G. macrocarpum



R. persica



Gigaspora sp + R. microaggregatum



R. intraradices



R. fasciculatos

Fig. S4. Imagens de Fungos micorrízicos arbusculares generalistas identificados em microscópio, coletados em solo de fragmentos de mata Atlântica e talhões de café em Minas Gerais – Brasil.