

UNIVERSIDADE ESTADUAL “JULIO MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE ENGENHARIA
CAMPUS ILHA SOLTEIRA

ISLAINE CAREN FONSECA

MICROBIOTA DO SOLO EM SISTEMAS DE PRODUÇÃO DE GRÃOS NO PLANTIO
DIRETO.

Ilha Solteira
2013

ISLAINE CAREN FONSECA

MICROBIOTA DO SOLO EM SISTEMAS DE PRODUÇÃO DE GRÃOS NO PLANTIO
DIRETO.

Dissertação apresentada à
Faculdade de Engenharia do Campus de Ilha
Solteira-UNESP como parte dos requisitos para a
obtenção do título de Mestre em Agronomia.
Especialidade: Sistemas de Produção.

Prof^a Dr^a Heloiza Ferreira Alves do Prado
Orientadora
Pesquisador Dr^o Gessi Ceccon
Co-orientador

Ilha Solteira
2013

FICHA CATALOGRÁFICA

Desenvolvido pelo Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação

F676m Fonseca, Islaine Caren.
Microbiota do solo em sistemas de produção de grãos no plantio direto /
Islaine Caren Fonseca. -- Ilha Solteira: [s.n.], 2013
47 f. : il.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista. Faculdade de
Engenharia de Ilha Solteira. Especialidade: Especialidade Sistema de Produção,
2013

Orientador: Heloiza Ferreira Alves do Prado

Co-orientador: Gessí Ceccon

Inclui bibliografia

1. Fungos. 2. Bactérias. 3. Rotação de culturas. 4. Amilase. 5. Celulase.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: Microbiota do solo em sistemas de produção de grãos no plantio direto

AUTORA: ISLAINE CAREN FONSECA

ORIENTADORA: Profa. Dra. HELOIZA FERREIRA ALVES DO PRADO

CO-ORIENTADOR: Prof. Dr. GESSI CECCON

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de MESTRE EM AGRONOMIA ,
Área: SISTEMAS DE PRODUÇÃO, pela Comissão Examinadora:

Helôiza Ferreira Alves do Prado

Profa. Dra. HELOIZA FERREIRA ALVES DO PRADO

Departamento de Fitotecnia, Tecnologia de Alimentos e Sócio Economia / Faculdade de
Engenharia de Ilha Solteira

Ana Maria Rodrigues Cassiolato

Profa. Dra. ANA MARIA RODRIGUES CASSIOLATO

Departamento de Fitossanidade, Engenharia Rural e Solos / Faculdade de Engenharia de Ilha
Solteira

Rodrigo A. Garcia

Prof. Dr. RODRIGO ARROYO GARCIA

Embrapa Agropecuária Oeste - CPAO

Data da realização: 25 de fevereiro de 2013.

DEDICO

Aos meus pais Agostinho Fonseca Filho e Sueli T. S.
Fonseca, a filha e mulher que sou hoje, a educação, apoio
e exemplos de vida.

AGRADECIMENTOS

A Deus, ser espiritual que me auxilia em todos os momentos bons e ruins.

Aos meus pais Agostinho e Sueli e irmã Isadora, pela base familiar, o carinho, a dedicação, o amor e todo o apoio em todos os momentos de minha vida.

Ao Edson G. P. Junior, meu amigo, companheiro, pelo carinho e por fazer a minha vida mais linda e feliz.

À minha orientadora, Heloiza Ferreira Alves do Prado, pela oportunidade oferecida, confiança depositada e pelos ensinamentos.

Ao Drº Gessi Ceccon, meu co-orientador, amigo e companheiro pelo apoio fiel e duradouro desde a época da graduação e pelo incentivo de chegar até aqui.

À minha amiga Mariana Freire que sempre está presente em minha vida, pela alegria, carinho e exemplo de vida.

Ao apoio da UNESP- Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”, Faculdade de Engenharia Capus de Ilha Solteira para o desenvolvimento das análises e a Embrapa Agropecuária Oeste (CPAO) pelo campo experimental e o trabalho em campo.

A todos do Laboratório de Biotecnologia da Unesp de Ilha Solteira, Letícia, Aline, Carol, Pedro, Lumena, Wanderleia, Erica, Sirlene, pelas ajudas e momentos de alegrias e descontração.

Aos amigos e companheiros de trabalho da Embrapa Agropecuária Oeste, Marno, Leonardo, Juslei, Antonio, Rodrigo e Valdecir desde as coletas ate as analises e artigos.

Ao técnico de laboratório José Hernandes pelo auxilio, ensinamento e dedicação ao meu trabalho.

Á Seção de Pós Graduação em Agronomia, Onilda, Márcia, Rafael e Graciele pela ajuda e informações prestadas.

Ao apoio financeiro da Fundação de Amparo a Pesquisa do estado de São Paulo (FAPESP) e a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).

À Fundação Agrisus, pelo financiamento de projeto 769/11: Produtividade da soja em sucessão de cultivos, que colaborou com a área experimental do seu experimento.

“Impossível é apenas uma palavra grande,
usada por gente fraca,
que prefere viver no mundo como está,
em vez de usar o poder que tem para muda-ló.
Impossível não é um fato. É uma opinião.
Impossível não é uma declaração. É um desafio.
Impossível é hipotético.
Impossível é temporário.”
(Mohamad Ali)

RESUMO

Bactérias e fungos são os organismos mais ativos na decomposição de compostos orgânicos no solo, afetando diretamente a disponibilidade de nutrientes para as plantas e as propriedades químicas e físicas dos solos. O solo ecossistema complexo e dinâmico, com transformações microbianas e reações químicas que podem ser alteradas sempre que nesse ecossistema ocorrer alguma interferência. Dessa forma, o manejo do solo e das culturas pode alterar o substrato, favorecer ou inibir diferentes grupos microbianos. Assim, o trabalho foi realizado com o objetivo de avaliar a microbiota local, fungos e bactérias do solo em sistemas de produção de grãos em Dourados-MS em Latossolo Vermelho Distroférico textura argilosa. Os tratamentos foram constituídos pelos seguintes cultivos de outono-inverno 1) milho solteiro (*Zea mays*), 2) milho consorciado com *Brachiaria ruziziensis*, 3) *Brachiaria ruziziensis* solteira e 4) feijão caupi (*Vigna unguiculata*) e soja no verão nos anos agrícolas de 2011 e 2012. As coletas do solo foram realizadas durante a fase de enchimento de grãos das espécies na entrelinha das culturas. Utilizados procedimentos clássicos para a quantificação microbiana e determinação das atividades amilásicas e celulásicas do solo. A comunidade bacteriana do solo tende a se desenvolver melhor quando as condições climáticas, principalmente umidade, são favoráveis, com destaque para maior número de unidades formadoras de colônias no feijão caupi em 2011 e no verão para a soja em sucessão ao consórcio e os fungos em condições de seca. A diferença observada entre as comunidades microbianas está relacionada à sucessão das culturas e à influência do efeito rizosférico das culturas. A comunidade bacteriana se relaciona à atividade amilolítica com a degradação do amido e a fungica para a celulose. Devido às poucas informações, sobre a microbiota nessa região, o estudo obteve resultados importantes sobre ecologia e conservação do solo.

Palavras-chave: Fungos. Bactérias. Rotação de culturas. Amilase. Celulase.

ABSTRACT

Bacteria and fungi are the most active organisms in the decomposition of organic compounds in the soil, directly affecting the availability of nutrients for plants and chemicals and physical soils properties. The soil complex and dynamic ecosystem with chemical reactions and microbial transformations that can be changed whenever some interference occurs in this ecosystem. Thus, the management of soil and crops can change the substrate, favor or inhibit different microbial groups. This study was to evaluate the microbiota, fungi and soil bacteria in grain production systems in Dourados-MS in a Distroferric Red Latosol. The treatments consisted of the following crops of autumn-winter: 1) corn (*Zea mays*), 2) maize intercropped with *Brachiaria ruziziensis*, 3) *Brachiaria ruziziensis* and 4) cowpea (*Vigna unguiculata*) and soybean in summer in the years 2011 and 2012. The soil samples were taken during the grain filling of species between rows of crops. Classical procedures were used for the determination and quantification of microbial activities and amylase and cellulase in soil. The soil bacterial community tends to develop better under climate conditions, especially moisture, favorable, especially for a larger number of colony forming units in cowpea in 2011 and in the summer for the soybean crop in the intercrop and fungi in drought conditions. The difference between microbial communities is related to the succession of cultures and the influence of crop rhizosphere effect. The bacterial community relates to amylase activity with starch degradation and fungal for cellulose. Due to limited information on the microbiota in this region, the study obtained important results on ecology and soil conservation.

Keywords: Fungi. Bacteria. Crop rotation. Amylase. Cellulase.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1-** Precipitação decendial* e umidade do solo** na safra verão 2010-11 durante o cultivo da soja sobre os tratamentos de outono-inverno em Dourados, MS 24
- Figura 2 -** Precipitação decendial* e umidade do solo** na safra verão 2011-12 durante o cultivo da soja sobre os tratamentos de outono-inverno em Dourados, MS..... 25
- Figura 3 -** Precipitação decendial* e umidade do solo** na safrinha 2011, durante o cultivo das espécies de outono-inverno em Dourados, MS 26
- Figura 4 -** Precipitação decendial* e umidade do solo** na safrinha 2012, durante o cultivo das espécies de outono-inverno em Dourados, MS..... 27

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Esquema dos tratamentos nas respectivas safras agrícolas, Dourados-MS.....	20
Tabela 2 - pH em Ca Cl ₂ e matéria orgânica em g/dm ³ nos agrícolas 2011 e 2012, nas safras de verão da soja e safrinha dos sistemas de rotação em Dourados-MS	28
Tabela 3 - Cálcio (Ca) e fósforo (P) em 2011 e 2012, nas safras de verão da soja e safrinha dos sistemas de sucessão, em Dourados-MS	30
Tabela 4 - População bacteriana, em unidades formadoras de colônias por grama de solo (UFC g solo ⁻¹) nos anos agrícolas de 2011 e 2012, nas safras de verão e safrinha, em Dourados, MS	32
Tabela 5 - População fúngica, em unidades formadoras de colônias por grama de solo (UFC g solo ⁻¹) nos anos agrícolas de 2011 e 2012, nas safras de verão e safrinha, em Dourados, MS.....	33
Tabela 6 - Atividade amilásica por equivalente de glicose ($\mu\text{ g}^{-1}\text{ dwt } 24\text{ h}^{-1}$) em 2011 e 2012 na soja no verão e na safrinha em Dourados-MS.....	36
Tabela 7 - Atividade celulásica, por equivalente de glicose ($\mu\text{ g}^{-1}\text{ dwt } 24\text{ h}^{-1}$) na soja safras 2011 e 2012 no verão e na safrinha em Dourados-MS.....	37

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	11
2	REVISÃO BLIOGRÁFICA.....	13
2.1	Plantio direto	13
2.2	Ecosistema microbiano e qualidade do solo.....	14
2.3	Enzimas do solo.....	16
3	OBJETIVOS.....	19
3.1	Objetivo geral.....	19
3.2	Objetivos específicos	19
4	HIPÓTESES.....	19
5	MATERIAL E MÉTODOS.....	20
5.1	Área Experimental.....	20
5.2	Amostragem	21
5.3	Características agronômicas e químicas do solo.....	21
5.4	Contagem microbiana total.	21
5.5	Determinação de atividade enzimática no solo.....	22
5.6	Análise Estatística.....	23
6	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	24
6.1	Características Agronômicas.....	24
6.1.1	Condições Climáticas.....	24
6.1.2	Química do solo.....	28
6.1.3	Rendimento de grãos.....	31
6.2	Quantificação dos micro-organismos.....	31
6.3	Atividade enzimática do solo.....	35
7	CONCLUSÕES.....	39
	REFERÊNCIAS.....	40

1 INTRODUÇÃO

Os elementos biológicos residentes no solo são compreendidos como uma comunidade complexa e rica em macro e micro-organismos, difícil de ser estudada. Entretanto, à medida que os limites da pesquisa vão sendo reconhecidos, a aplicação de métodos apropriados pode proporcionar uma caracterização adequada da estrutura e das funções da comunidade microbiana do solo (MAZZOLA, 2004).

Os micro-organismos apresentam imensa diversidade genética e desempenham funções únicas e cruciais na manutenção de ecossistemas, como componentes fundamentais de cadeias alimentares e de ciclos biogeoquímicos. A ecologia de micro-organismos do solo, o estudo de sua participação nas interações com plantas, o funcionamento do ecossistema, sua dinâmica e produtividade, se destacam como áreas de interesse científico. O desenvolvimento de metodologias rápidas e eficientes para avaliar e monitorar a comunidade microbiana do solo, em relação a sua composição, diversidade, biomassa e seu impacto sobre a fertilidade e a sustentabilidade, prioridades entre diversos grupos de pesquisa (PEIXOTO et al., 2008).

A busca por desenvolvimento sustentável representa um dos maiores desafios para a humanidade, utilizando-se de sistemas de produção voltados para o aumento da produtividade com preservação dos recursos naturais, como solo e água (LOPES; LOPES, 2011). O plantio direto é um sistema sustentável de exploração agrícola, e tem proporcionado inúmeras vantagens, como: maior teor de matéria orgânica (BEUTLER et al., 2001), carbono no solo (BALESDENT et al., 2000), e nutrientes nas plantas (MOREIRA et al., 2002), melhor infiltração de água no solo (CUBILLA et al., 2002), condições para antecipar a semeadura das culturas, sustentabilidade ambiental, e com isso, maior produtividade das culturas (POSSAMAI et al., 2001).

A presença de micro-organismos no solo contribui para ciclagem de nutrientes e para a manutenção dos ecossistemas. O metabolismo microbiano é um dos principais processos reguladores da transformação de nutrientes no solo. A quantificação do carbono liberado na liberação de CO₂ é uma das formas de avaliação da atividade metabólica da microbiota do solo, fungos e bactérias. No entanto, a atividade dos micro-organismos está estritamente relacionada com fatores ambientais, como temperatura, umidade, pH, matéria orgânica e nutrientes (ATLAS ; BARTHA, 1993). A rizosfera por ser considerado o habitat ideal para os micro-organismos, contribuir com a elevação da matéria orgânica do solo e assim maior quantidade de nutrientes (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006).

Os fungos representam boa parte da biomassa microbiana do solo, responsáveis pela degradação de matéria orgânica, relacionam-se simbioticamente com plantas e podem atuar como agentes de controle biológico (PERSMARK et al., 1996) e as bactérias 25 a 30% dessa biomassa, através da ciclagem de nutrientes e transformações específicas (MADIGAN et al., 2010).

As enzimas do solo também contribuem, pois tem a função de mediadoras do catabolismo biológico do solo relacionadas com a matéria orgânica, com propriedades físicas, atividade e biomassa microbiana (ARAUJO; MONTEIRO, 2007), além de serem indicadores microbianos da qualidade do solo (TAYLOR, et al., 1992).

Nessas condições, é esperada uma variação na microbiota, por ser bastante sensível às mudanças de manejo do solo. O presente estudo foi realizado com o objetivo de conhecer mais a microbiota do solo em condições de Cerrado, em sistema plantio direto, assim como quantificar a química e a microbiota do solo em diferentes sucessões de cultivo.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Plantio direto

O cerrado brasileiro ocupa 204,7 milhões de hectares do território brasileiro na porção central do Brasil. É considerado o segundo maior bioma brasileiro com início na região Sudeste, em Minas Gerais e São Paulo, até os estados do Centro-Oeste, Norte e Nordeste, totalizando 24% do território brasileiro, sob diferentes classes de solos e condições climáticas (COSTA; OLSZEWSKI, 2008). As pastagens e as áreas agrícolas, da porção sul do bioma são as que apresentam maior uso da terra, com 26,5 e 10,5% do Cerrado, respectivamente (SANO et al., 2008).

A busca do desenvolvimento sustentável representa um dos maiores desafios para a humanidade, utilizando-se de sistemas de produção voltados para o aumento da produtividade com preservação dos recursos naturais, como solo e água (LOPES, 2007).

Mesmo em plantio direto, é encontrada grande diversidade microbiana no solo, mas ainda não bem explicados, tendo em vista, inclusive, as variações de clima entre as estações do ano podendo ocorrer uma comunidade microbiana dominante acompanhada de outras pouco abundantes (TIEDJE et al., 2001; TORSVIK; ØVREÅS, 2002).

Campos et al. (1995) relatam que o sistema plantio direto apresenta melhores condições físicas e biológicas do solo com rotação de culturas em relação ao sistema convencional, pois a melhoria das condições ambientais e resulta no desenvolvimento de micro-organismos, de material orgânico e maior umidade do solo.

O milho é uma das culturas de grande importância econômica e social. Em 2012 o Brasil colheu 74 milhões de toneladas de grãos, sendo, 52 % produzido no período de outono-inverno (INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICAS - IBGE, 2013). Com isso o cenário vem crescendo ano a ano, em 2012, o Mato Grosso do Sul aumentou sua estimativa de produção e seu rendimento médio em 10,2%, (IBGE, 2012), destacando a importância do cultivo de milho safrinha.

O feijão caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) é importante espécie nas regiões Norte e Nordeste do Brasil, fixa nitrogênio da atmosfera e foi introduzido na região Centro-Oeste pela rusticidade e ciclo curto (FREIRE FILHO et al., 2005), , pode se constituir em importante espécie para cultivo em regiões de Cerrado.

O consórcio de espécies forrageiras com milho safrinha é uma importante alternativa para manter o rendimento de grãos de milho aumentar o aporte de resíduos, ciclar nutrientes, diminuir a incidência de plantas daninhas e proporcionar maior rendimento das culturas em

sucessão (CECCON et al., 2013) e proporcionar maior retorno econômico na sucessão soja-milho safrinha (CECCON, 2007). A presença da massa verde após a colheita do milho safrinha estimula o agricultor a interagir com a pecuária, justamente no período de menor oferta de pasto durante o período entre a colheita do milho e a semeadura da soja.

Após a pastagem, resta uma quantidade de matéria seca na superfície e de raízes (MACHADO et al., 2007), permitindo aumentar os teores de matéria orgânica do solo (FREITAS et al., 2000; JANTALIA et al., 2006).

Por outro lado, o solo permanece como o mais importante reservatório para a exploração de micro-organismos, onde a maioria é oportunista quanto à utilização desses recursos. Os micro-organismos podem eventualmente suspender suas atividades metabólicas e sobreviver, na forma de esporos, microescleródios e outras estruturas de resistência, em resposta a falta de nutrientes ou às condições ambientais adversas (MICHEREFF et al., 2005)

2.2 Ecossistema microbiano e qualidade do solo

Os componentes de um ecossistema são fatores bióticos, com as plantas, animais e micro-organismos e fatores abióticos, como o clima e solo, todos com interações contínuas. O equilíbrio dinâmico entre as interações é originado e mantido pela diversidade de espécies (MELO et al., 2002; PAUL; CLARK, 1989).

Para a sustentabilidade de agroecossistemas que visam à produção agropecuária e à preservação ambiental é necessário à manutenção da qualidade do solo, ou até mesmo a sua melhoria (DORAN; JONES, 1996).

Definir o termo qualidade do solo tem sido uma tarefa difícil, pois este depende das características do solo e das relações do ecossistema (GOEDERT; OLIVEIRA, 2007). Zilli et al. (2003), afirmam que a qualidade do solo tem conceito amplo, sendo o equilíbrio entre os atributos químicos, físicos e biológicos do solo. Para Doran e Parkin (1994) a qualidade do solo tem como capacidade sustentar a produtividade biológica dentro do ecossistema e assim manter a qualidade ambiental e a saúde das plantas e animais.

Os micro-organismos não vivem isoladamente na natureza, eles interagem com outros organismos e com o meio ambiente. Apesar de seu tamanho diminuto, os micro-organismos representam cerca de metade de toda a biomassa da Terra. Eles apresentam uma grande diversidade metabólica, sendo os principais catalisadores dos ciclos de nutrientes na natureza (MADIGAM et al., 2010). O solo é um hábitat complexo, apresentando numerosos microambientes e nichos. Os micro-organismos encontram-se presentes no solo principalmente aderidos às partículas do solo (FRAGA et al., 2012).

As comunidades microbianas aparentemente podem detectar, de forma muito sensível, pequenas alterações no solo muito antes de estas poderem ser medidas por formas convencionais de análises (POWLSON et al., 1987). No entanto, qualquer observação do processo microbiano pode ser somente interpretada quando relacionada com aspectos físicos e químicos do solo.

O solo é um ecossistema complexo e dinâmico, difícil de ser estudado. As transformações microbianas, por conta das diferentes comunidades que nele ocorrem, assim como as diferenças nas propriedades físicas e químicas, podem ser alteradas sempre que esse ecossistema sofrer algum tipo de interferência (CARDOSO et al., 1992).

A cobertura vegetal atua como um elemento responsável pela reestruturação do solo. É importante conhecer e compreender a composição e a dinâmica dos processos internos do solo quando esse sofrer algum tipo de conduta, como o preparo convencional, plantio direto, recuperação e/ou reflorestamento, entre outras (FERREIRA et al., 2010).

A presença de micro-organismos no solo contribui para ciclagem de nutrientes e conseqüentemente, para a manutenção dos ecossistemas. O metabolismo microbiano é um dos principais processos reguladores da transformação de nutrientes no solo. Entre as formas de avaliação da atividade metabólica da microbiota do solo, destaca-se a quantificação de carbono pela liberação de CO₂, conhecida por respiração do solo. No entanto, a atividade dos micro-organismos está estritamente relacionada com fatores ambientais, como temperatura, umidade, pH, matéria orgânica e nutrientes (ATLAS; BARTHA, 1993).

Assim, a manutenção da produtividade dos ecossistemas depende, em grande parte, do processo de transformação da matéria orgânica e, conseqüentemente, da biomassa microbiana do solo. A qualidade da matéria orgânica merece essencial atenção devido ao importante papel por ela desempenhado. À medida que se proporciona aumentos ou mesmo a manutenção dos teores de matéria orgânica em níveis aceitáveis, ocorre um aumento no número e diversidade de micro-organismos no solo (SMITH; PAUL, 1990).

A presença e atividade de componentes microbianos de superfície e de subsolo podem ser detectadas e medidas por diferentes métodos, através do uso de indicadores, incluindo número de micro-organismos (KASTNER et al., 1994); biomassa microbiana (LOVELL et al., 1995); atividade funcional (MURPHY et al., 1998) e atividades enzimáticas (MAKOI; NDAKIDEMI, 2008) no solo.

A biomassa microbiana é a parte viva e ativa da matéria orgânica, constituída por fungos, bactérias e actinomicetos que desempenham o papel de formação do solo, decomposição de resíduos orgânicos e ciclagem de nutrientes. Ela controla, também, a

decomposição e o acúmulo da matéria orgânica e a transformação dos nutrientes minerais (REIS JUNIOR; MENDES, 2007).

A biomassa microbiana tem sido considerada como um importante indicador das alterações ocorridas no solo, em função do seu manejo. Ela proporciona informações sobre a massa microbiana, na forma de carbono microbiano, permitindo-se acompanhar as perturbações sofridas no equilíbrio ecológico e as variações no total de matéria orgânica, decorrentes do manejo e uso do solo, por reagir com maior rapidez que os parâmetros físicos e químicos (JORDAM et al., 1995; GAMA-RODRIGUES et al., 1997).

Os fungos representam boa parte da biomassa microbiana do solo. Atuam na degradação de matéria orgânica, relacionam-se simbioticamente com plantas e podem atuar como agentes de controle biológico (PERSMARK et al., 1996). Os actinomicetos representam uma pequena parte da biomassa total do solo. Atuam como saprófitas, atuam em temperaturas mais elevadas e degradam substâncias comumente não degradadas por bactérias e fungos, como húmus e fenóis (CARDOSO et al., 1992; MADIGAN et al., 2010).

A comunidade microbiana, o número e tipos de micro-organismos presentes em um solo particular, são muito influenciados pela localização geográfica, temperatura, tipo de solo, pH, conteúdo de matéria orgânica, cultivo, aeração e umidade. Os solos são importantes sítios de decomposição em florestas e solos agrícolas. Uma estimativa do número de micro-organismos em 1 grama de solo fértil é: bactérias verdadeiras de 10^8 a 10^9 , actinomicetos de 10^7 a 10^8 e fungos de 10^5 a 10^6 . Os fungos são mais abundantes nos primeiros 10 cm do solo e limitado nas camadas mais profundas (MELO et al., 2002).

A comunidade bacteriana constitui parte vital de quase todos os ambientes, sendo reponsável por 25 a 30% da biomassa total do solo. Participam ativamente na decomposição da matéria orgânica e ciclagem de nutrientes, através de transformações bioquímicas específicas (SIQUEIRA; FRANCO, 1988; MADIGAN et al., 2010).

2.3 Enzimas do solo

As enzimas do solo são mediadoras do catabolismo biológico do solo por estarem relacionadas com a matéria orgânica, propriedades físicas, atividade e biomassa microbiana (ARAUJO; MONTEIRO, 2007). Responsáveis pela ação biológica dos componentes orgânicos e mineral do solo, com a função de informar o potencial bioquímico do solo e a sua manipulação e ainda transmitir as mudanças nas funções-chave do solo (TAYLOR et al., 2002).

As enzimas do solo atuam nas reações metabólicas intercelulares que são responsáveis pela manutenção e funcionamento dos seres vivos, com ação catalisadora das reações de decomposição dos resíduos orgânicos com as ligninases, celulasas e proteases e na ciclagem de nutrientes as amidases, fosfatases, ureases e sulfatases o que resulta a formação da matéria orgânica e estruturação do solo (MENDES; VIVALDI, 2001).

Assim as enzimas do solo podem ser úteis como indicadores microbianos da qualidade deste, devido ao seu significativo papel na ciclagem biogeoquímica. Podem ser encontradas nas frações vivas (intracelular, células microbianas) ou mortas (extracelular, liberada por plantas, células microbianas) do solo (JHA et al., 1992; MAKOI; NDAKIDEMI, 2008).

As enzimas apresentam diferentes estruturas, sendo proteínas globulares heteropolímeros, constituídas de aminoácidos com um componente não-protéico, o grupo prostético. Elas diminuem a energia de ativação elevando altas velocidades de reação, com alta especificidade, sintetizadas pelas próprias células que atuam, com concentração celular variável em função com as condições fisiológicas e atividade do meio ambiente em que esta inserida (BORZANI et al., 2001).

A atividade enzimática no solo está ligada ao número e ao grupo de micro-organismos que estão presentes no sistema. Água, fontes de carbono, energia, nitrogênio e oxigênio são os elementos essenciais para os micro-organismos. Esses mesmos necessitam, ainda, de outros elementos minerais, como o fósforo, potássio, ferro, sódio, magnésio, enxofre, cálcio e os elementos traços, sendo os micronutrientes, com papel de constituintes das enzimas e coenzimas exigidos em menores quantidades (JENININGS, 1988).

Os carboidratos são a principal fonte de carbono e energia para o metabolismo microbiano sendo que a glicose é a fonte universal de carbono (MADIGAN et al, 2000; ATLAS, 1997).

A produção das enzimas extracelulares amilases e celulasas estão ligadas a regularização da glicose devido o efeito desse açúcar (LAMBERT; MEERS, 1983).

Entre as enzimas que podem ser dosadas no solo tem-se as celulasas, amilases, arilsulfatases (DENG; TABATABAI, 1997), β - glucosidases (DENG; TABATABAI, 1996), desidrogenase (SCHMITZ, 2003), fosfatase ácida, fosfatase alcalina (DENG; TABATABAI, 1997) e urease (DICK et al., 1988; BANDICK; DICK(1999) .

A amilase tem a capacidade de hidrolisar a molécula de amido, o qual é uma mistura de dois polissacarídeos de elevada massa molecular. Sendo a amilose a porção linear com várias unidades de glicose ligadas por ligações α -1,4, podendo representar 25 a 15% da molécula. A amilopectina é a porção ramificada, onde a cada 20 ou 30 unidades de glicose há

uma ramificação com ligação glicosídica do tipo α -1,6. A amilopectia compreende de 75 a 85% da molécula de amido (BON et al., 2008).

A celulase atua na molécula de celulose, polímero linear que pode conter até 15.000 unidades de D-glicose, com ligações β -1,4. A degradação feita por micro-organismos celulolíticos e a produção vem dos tecidos vegetais em decomposição e superfície do solo, principal habitat da microbiota aeróbica celulolítica, composta por diferentes gêneros de fungos e bactérias (BON et al., 2008).

A atividade celulolítica do solo é efetuada por bactérias e fungos saprófitas, tendo como principal característica a degradação da celulose. As enzimas do solo podem ser úteis como indicadores microbianos da qualidade deste, devido ao seu significativo papel na ciclagem biogeoquímica. Podem ser encontradas nas frações vivas de forma intercelular nas células microbianas ou nas frações mortas de forma extracelular liberada por plantas ou células microbianas do solo. (JHA et al., 1992; MAKOI; NDAKIDEMI, 2008).

A celulose por ser o composto mais abundante na biosfera, é responsável por metade da biomassa decomposta pela fixação fotossintética (ERIKSSON et al., 1990). É originária dos resíduos deixados sobre o solo e sua quantidade é determinada pelos fungos e bactérias, devido o uso da celulose convertida em carbono disponível para estes micro-organismos em seu crescimento (RICHMOND, 1991; DENG; TABATABAI, 1994). Isso comprova a relação da atividade enzimática da celulase com os micro-organismos do solo.

3 OBJETIVOS

3.1. Objetivo Geral

O presente estudo foi realizado com o objetivo de conhecer mais a microbiota do solo em diferentes sucessões de cultivo, em plantio direto, em condições de Cerrado, assim como quantificar a química e a microbiota do solo em duas estações de cultivo.

3.2 Objetivos específicos

1. Quantificar a microbiota do solo quanto à presença de bactérias e fungos totais em diferentes sucessões de cultivo;
2. Relacionar os grupos microbianos entre si e com os atributos químicos do solo em duas safras agrícolas (verão e inverno);

4 HIPÓTESES

1. A população microbiana, tanto fungos como bactérias, se mantêm quantitativamente ao longo das safras.
2. As variações climáticas e os atributos químicos do solo estão relacionadas com a diversidade microbiana.
3. As diferentes sucessões de culturas influenciam de forma distinta na microbiota do solo.
4. A microbiota do solo tem influência na atividade enzimática da amilase e celulase.

5 MATERIAL E MÉTODOS

5.1. Área Experimental

O experimento foi realizado na área experimental da Embrapa Agropecuária Oeste em Dourados, MS, nas coordenadas 22° 18' de latitude Sul, 53° 16' longitude Oeste e a 430 m de altitude, em um Latossolo Vermelho distroférico, textura argilosa (MATO GROSSO DO SUL, 1990)

O clima da região, segundo a classificação climática de Köppen, é do tipo Cwa, com inverno seco em que a temperatura média do mês mais frio é inferior a 18 °C e a do mês mais quente ultrapassa 22 °C e o total das chuvas do mês mais seco não ultrapassa 30 mm. O estado do Mato Grosso do Sul tem precipitação média anual entre 1.750 a 2.000 mm, com deficiência hídrica entre os meses de maio a setembro (FIETZ; FISCH, 2008).

A área é cultivada em plantio direto desde 2001, com a sucessão soja milho safrinha. Em 2008 foram estabelecidos os sistemas de cultivo de outono-inverno que são objetos deste trabalho, permanecendo o cultivo de soja na safra de verão.

No outono-inverno de 2011 e 2012 foram cultivados os seguintes tratamentos: 1) milho solteiro (*Zea mays*), 2) milho consorciado com *Brachiaria ruziziensis*, 3) *Brachiaria ruziziensis* solteira e 4) feijão caupi (*Vigna unguiculata*) e soja no verão, que constituem os tratamentos deste trabalho. O delineamento experimental foi em faixas, com quatro tratamentos com seis repetições, totalizando 24 parcelas, com 10 m de largura e 15 m de comprimento.

Tabela 1 - Esquema dos tratamentos nas respectivas safras agrícolas, Dourados-MS.

Tratamentos	----- Safras -----	
	Verão	Outono-Inverno
1	Soja	Milho Solteiro
2	Soja	Consórcio
3	Soja	<i>Brachiaria ruziziensis</i>
4	Soja	Feijão Caupi

Fonte: Elaboração própria autora

As culturas foram implantadas mecanicamente, sendo as de outono-inverno semeadas durante a primeira semana de março e a soja semeada no verão durante a primeira semana de novembro, ambas realizadas de acordo com as recomendações técnicas mais recentes de cada cultura. O milho safrinha solteiro foi semeado em linhas espaçadas de 0,90 m, com população média entre 48 e 50 mil plantas por hectare. O milho consorciado foi idêntico ao milho solteiro, adicionando uma linha intercalares de *B. ruziziensis*, com 200 mil plantas por hectare. A *B. ruziziensis* solteira semeada em linhas espaçadas de 0,45 m, com 400 mil plantas por

hectare. O feijão-caupi em linhas espaçadas de 0,45 m, com 220 mil plantas por hectare. No tratamento B. *ruziziensis* solteira os animais foram colocados para pastejar entre os meses de maio e setembro de cada ano.

5.2 Amostragem

As amostras de solo foram coletadas em pontos aleatórios, em 15/12/2010 e 16/12/2011 durante o cultivo da soja, e 02/06/2011 e 21/06/2012 nos cultivos de outono-inverno a 10 cm de profundidade na fase de enchimento de grãos na entrelinha das culturas. Em cada parcela foram coletadas 10 amostras simples que foram homogeneizadas resultando em uma amostra composta.

As amostras de solo foram acondicionadas em sacos plásticos, resfriadas e na Embrapa Agropecuária Oeste, e em seguida transportadas para o Laboratório de Biotecnologia da UNESP, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Faculdade de Engenharia, Campus de Ilha Solteira, onde foram armazenadas em câmara fria.

5.3 Características agronômicas e química do solo

As condições climáticas foram obtidas na estação climatológica automática da Embrapa Agropecuária Oeste (EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA, 2011), localizada a 300 m do experimento, e monitorada a umidade do solo na camada 0 a 20 cm utilizando medidor eletrônico de umidade do solo (FALKER, 2010), durante todo o período do experimento.

A caracterização física e química do solo foi realizada no laboratório de solos da Embrapa Agropecuária Oeste em Dourados, MS, segundo Silva (1999), como parâmetros para verificar as mudanças ocorridas nos sistemas.

No verão foi quantificado o rendimento de grãos da soja, através da colheita e processamento das plantas contidas em duas linhas de cinco metros.

5.4 Contagem microbiana total

A quantificação da microbiota foi realizada no Laboratório de Biotecnologia da UNESP, Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Engenharia, Campus de Ilha Solteira. Para a quantificação de bactérias e fungos totais, cada amostra foi submetida à técnica de diluição decimal sucessiva, onde 10 g de solo foram suspensos em 90 mL de solução salina (NaCl 0,85%) (diluição 1:10). Desta diluição, 0,1 mL foi adicionado a 9 mL de solução salina (diluição 10^{-2}) e, sucessivamente, até as diluições necessárias a cada ensaio. 0,1 mL da

diluição asseptos foi transferida para o centro de uma placa de Petri contendo o meio ágar padrão contagem, PCA, Plat count Agar (5g L⁻¹ caseína enzimática hidrolizada; 1,0g L⁻¹ de dextrose; 2,5 g L⁻¹ extrato de levedura e 15,0 g L⁻¹ Agar, pH 7,0) em três réplicas para bactérias e agar Sabourourand adicionado de clorafenicol e estreptomicina (300 mg L⁻¹), em três réplicas para fungos. A suspensão foi distribuída na placa com o auxílio de alça de Drigalski. A placa foi incubada a 35 °C, em câmara de crescimento, BOD, até o aparecimento das colônias. Após crescimento, até 48 horas, foi contado o número de colônias estimando por meio unidades formadoras de colônias por grama de solo (UFC/g⁻¹ de solo) (SILVA et al., 2007 a,b).

5.5 Determinação de atividade enzimática no solo

Para a determinação da atividade celulásica e amilásica, foi utilizado o método proposto por (SCHINNER ; VON MERSE,1990), que baseia-se na determinação de açúcares redutores liberados após a incubação das amostras de solo (10 g) sob agitação com tampão acetato (pH 5,5) e solução CMC- 0,7% a 50 °C para celulase e amido 2% a 37 °C para amilase por 24 horas. Após a incubação as amostras foram centrifugadas a 9000 rpm por 10 minutos e 1 ml do centrifugado adicionado em 20 mL de água destilada.

A partir desta solução 1 mL é obtido e adicionado 1 mL dos reagentes A (16g de carbonato de sódio anidro e 0,9 g de cianeto de potássio em 1000 mL de água destilada) e B (0,5 g de ferricianeto de potássio em 1000 mL de água destilada) em tubos de ensaio fechados, misturou bem e deixou em banho fervente a 100°C por exatamente 15 minutos. Resfriou em banho a 20°C por cinco minutos e adicionou o reagente C (1,5 g de sulfato amoniacal férrico (ferro III), 1 g de dodecil sulfato de sódio e 4,2 mL de H₂SO₄ em 1000 mL água destilada a 50° C), misturou e deixou em repouso a 20° C por 60 minutos para o desenvolvimento da coloração.

O controle foi preparado da mesma forma substituindo o solo por água. Após todos os procedimentos colorimétricos da mistura de reação foi determinada a densidade óptica a 690 nm. As unidades enzimáticas foram calculadas com base no equivalente grama da glicose, a partir de um diagrama de calibração da glicose, utilizando a seguinte equação:

$$\frac{C \times v \times f}{sw \times dwt}$$

Onde C é a concentração de glicose medida (µg glicose mL⁻¹ filtrado), v é o volume da suspensão teste (nesse sistema são 30 mL), f é o fator de diluição (20 para solos cultiváveis e

40 para solos florestais), sw é o peso de solos úmidos utilizados (5 ou 10 g) e dwt é o peso de 1 g de solo úmido.

5.6 Análise Estatística

Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 10% de significância. Para os dados da população de fungos e de bactérias realizou-se análise de correlações de Pearson, entre si e com as demais variáveis quantificadas (SAEG, 2007).

6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

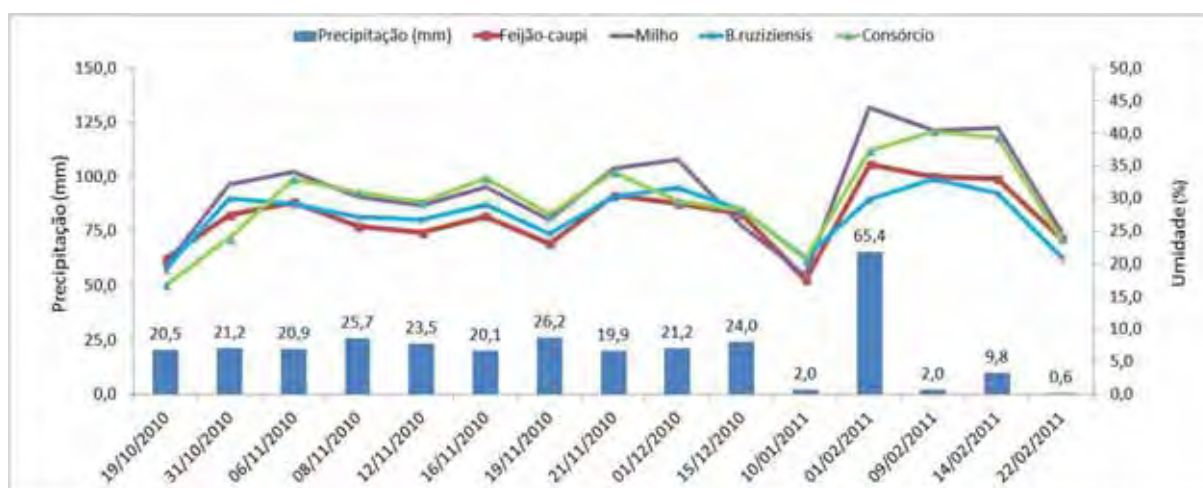
6.1 Características Agronômicas

6.1.1 Condições Climáticas

A chuva, e por consequência a umidade do solo são determinantes para as culturas e micro-organismos, pois criam ambiente favorável à manifestação, sobrevivência e crescimento desses organismos do solo.

Na safra verão 2010-11, durante o cultivo da soja a distribuição de chuvas foi regular até o segundo decêndio de 2010, com um intervalo de dez dias sem chuva, mas com recuperação da umidade do solo em janeiro de 2011. A umidade no solo acompanha distribuição de chuvas, com pequenas diferenças entre os sistemas de cultivo (Figura 1).

Figura 1 - Precipitação decendial* e umidade do solo** na safra verão 2010-11 durante o cultivo da soja sobre os tratamentos de outono-inverno em Dourados, MS.



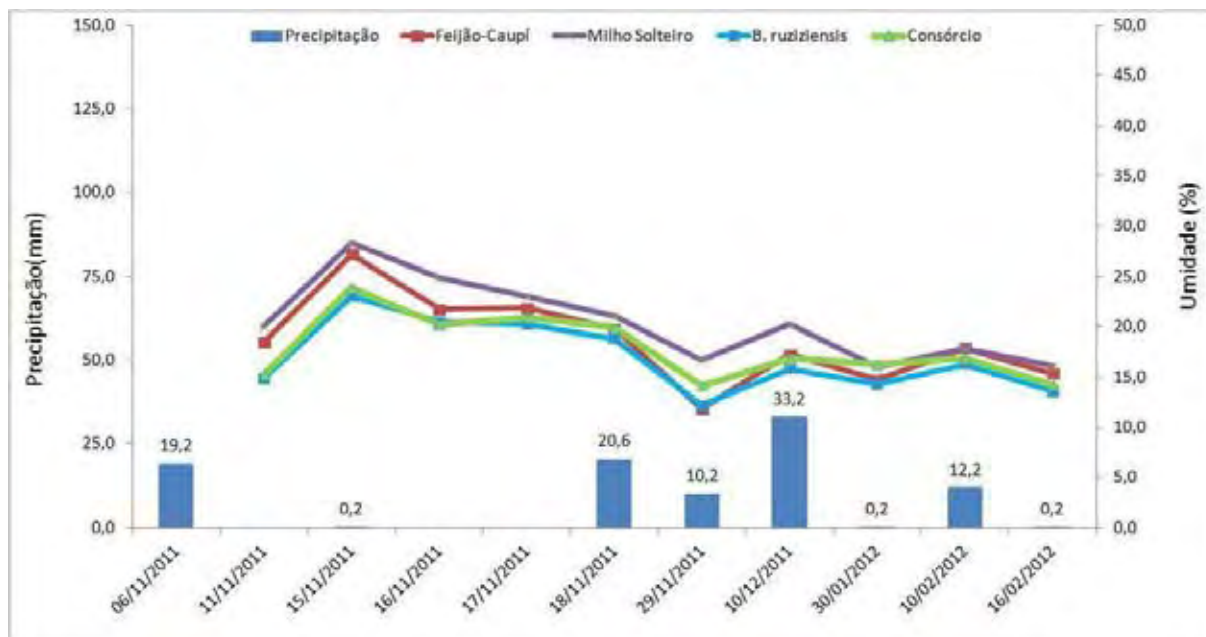
*Chuva registrada na estação meteorológica da Embrapa, a 300 m do experimento;
 **Umidade do solo monitorada na camada 0 – 20 cm sensor de umidade (FALKER, 2010).

Fonte: Estação Climatológica da Embrapa Agropecuária Oeste, Dourados-MS, 2010-11.

Na safra 2011-12 a distribuição de chuvas foi bastante irregular durante o cultivo da soja, com níveis pluviométricos inferiores em relação à safra anterior, principalmente nos meses de novembro e dezembro (Figura 2).

A seca pode reduzir drasticamente o rendimento das lavouras, e é o principal estresse ambiental. Na soja há dois períodos críticos em relação ao déficit hídrico, da semeadura à emergência e no enchimento dos grãos. Na germinação, a água em excesso ou a falta são prejudiciais para o estabelecimento da soja (FARIAS et al., 2001), podendo comprometer a produtividade das culturas e interferir na microbiota do solo.

Figura 2 - Precipitação decendial* e umidade do solo** na safra verão 2011-12 durante o cultivo da soja sobre os tratamentos de outono-inverno em Dourados, MS.



*Chuva registrada na estação meteorológica da Embrapa, a 300 m do experimento;

**Umidade do solo monitorada na camada 0 – 20 cm sensor de umidade (FALKER, 2010)

Fonte: Estação Climatológica da Embrapa Agropecuária Oeste, Dourados-MS, 2011-12.

Constata-se também que a precipitação e a umidade diminuíram no final do mês de fevereiro nas duas safras da soja. Isso expressa à relação direta entre as variáveis climáticas.

Na safrinha de 2011 a variável precipitação dos sistemas de rotação de culturas foi constante com médias em torno de 30 a 35 mm e a umidade do solo entre 19 e 22 % (Figura 3).

Figura 3 - Precipitação decendial* e umidade do solo** na safrinha 2011, durante o cultivo das espécies de outono-inverno em Dourados, MS.



*Chuva registrada na estação meteorológica da Embrapa, a 300 m do experimento;

**Umidade do solo monitorada na camada 0 – 20 cm sensor de umidade (FALKER, 2010)

Fonte: Estação Climatológica da Embrapa Agropecuária Oeste, Dourados-MS, 2011.

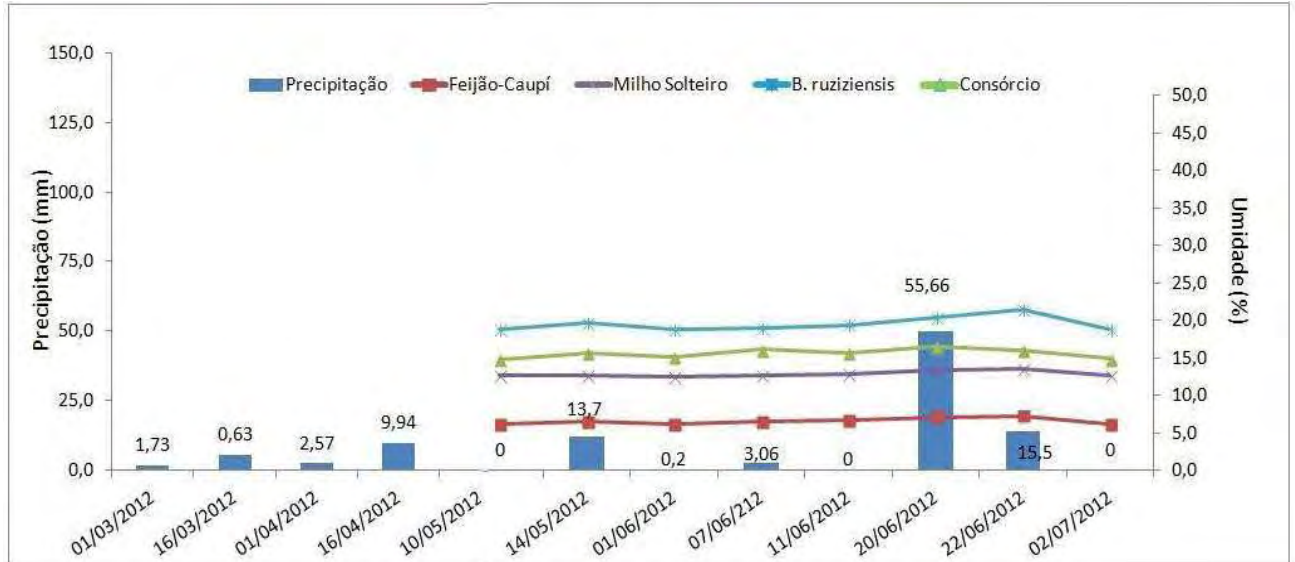
A demanda por níveis pluviométricos pela cultura do milho fica explícito nos gráficos acima (Figura 1 e 2), tanto na safra 2010-11 como na safra 2011-12 para a sucessão milho solteiro e o milho solteiro em 2011 que claramente se desenvolve melhor à medida que os índices pluviométricos se mantêm ou sejam elevados, devido a cultura ser muito exigente em água, com consumo em torno de 600 mm durante seu ciclo (CRUZ et al., 2006). O autor afirma que nos estádios iniciais de crescimento, a quantidade de água não excede 2,5 mm/dia e entre o espigamento e a maturação entre 5 a 7,5 mm diários, típico de Dourados, um clima seco e quente.

O milho safrinha predomina em vários estados brasileiros, o que corresponde a 89% do total de milho semeado (DUARTE et al., 2000). Certas regiões há épocas em que a precipitação é nula e a água disponível no solo não é suficiente para o desenvolvimento do milho, podendo ocorrer os chamados veranicos, que são longos períodos de estiagem que comprometerá a produção da cultura (BRUNINI et al., 2001).

Bons resultados no cultivo do milho safrinha dependem das condições climáticas adequadas na época de semeadura e o crescimento da cultura, pois o clima tem grande variabilidade devido à ocorrência de períodos prolongados de escassez de chuvas e temperaturas baixas Cardoso et al., (2004).

A safrinha de 2012 apresentou altos índices pluviométricos na fase inicial de cultivo para os tratamentos de outono-inverno com diminuição a partir de maio (Figura 4).

Figura 4 - Precipitação decendial* e umidade do solo** na safrinha 2012, durante o cultivo das espécies de outono-inverno em Dourados, MS.



*Chuva registrada na estação meteorológica da Embrapa, a 300 m do experimento;

**Umidade do solo monitorada na camada 0 – 20 cm sensor de umidade (FALKER, 2010)

Fonte: Estação climatológica da Embrapa Agropecuária Oeste, Dourados-MS, 2012.

6.1.2 Química do solo

Em relação à química do solo, o pH não variou significativamente entre os tratamentos de outono-inverno, mas foi maior em 2012, influenciado pelo menor valor no milho safrinha em 2011, que pode ter sido influenciado pela maior disponibilidade de chuvas em 2012.(Tabela 2).

Em comportamento semelhante, a matéria orgânica foi maior em 2012, onde foi maior no milho e menor no consórcio, sem diferirem da B.ruziziensis e do feijão-caupi (Tabela 2).

Tabela 2 - pH em Ca Cl₂ e matéria orgânica em g/dm³ nos agrícolas 2011 e 2012, nas safras de verão da soja e safrinha dos sistemas de rotação em Dourados-MS.

pH Ca Cl ₂					Matéria orgânica (g/dm ³)				
Tratamentos	2011		2012		Tratamentos	2011		2012	
B.ruzizizensis	5,8	a A	6,0	a A	B.ruzizizensis	33,5	a B	38,1	ab A
Consórcio	5,8	a A	6,1	a A	Consórcio	32,6	a B	35,4	b A
Milho	5,6	a B	6,1	a A	Milho	32,8	a B	38,8	a A
Feijão Caupi	5,9	a A	6,1	a A	Feijão Caupi	31,9	a B	36,6	ab A
Média	5,8	B	6,1	A	Média	32,7	B	37,2	A
C.V (%)	3,86				C.V (%)	4,7			

pH Ca Cl ₂					Matéria Orgânica (g/dm ³)				
Tratamentos	Verão		Safrinha		Tratamentos	Verão		Safrinha	
B.ruzizizensis	5,6	a B	6,2	a A	B.ruzizizensis	38,1	a A	33,6	a B
Consórcio	5,6	a A	6,1	a A	Consórcio	39,1	a A	28,9	c B
Milho	5,5	a B	6,2	a A	Milho	39,7	a A	31,8	ab B
Feijão Caupi	5,9	a A	6,1	a A	Feijão Caupi	38,9	a A	29,6	bc B
Média	5,7	B	6,1	A	Média	38,9	A	31,0	B
C.V (%)	3,9				C.V (%)	4,7			

Médias seguidas da mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 10 %.

A matéria orgânica pode indicar a fertilidade dos solos e abundância de micro-organismos, que são a parte viva dessa matéria orgânica, com isso aumentos ou reduções de matéria orgânica no solo podem prejudicar a sobrevivência e atividade dos micro-organismos, expressas nas mudanças positivas ou negativas das propriedades agrícolas principalmente em função do manejo utilizado (MENDES; REIS JUNIOR, 2010 a).

A rizosfera compreende a região de 1 a 3 mm que se encontra ao redor das raízes, que influencia no crescimento microbiano, nas transformações da matéria orgânica e nos ciclos biogeoquímicos dos nutrientes (ANDRADE, 1999), em função do tipo de solo, idade e espécie vegetal. Portanto os exsudatos radiculares liberados na rizosfera exercem influencia sobre bactérias e fungos, como substrato, fonte de alimento para os micro-organismos do solo

(MOREIRA; SIQUEIRA, 2006), forma mais disponíveis do que os restos culturais (LYNCH, 1984).

Com isso, o uso de rotação de culturas, adubação verde aliada ao plantio direto proporcionam que os índices de matéria orgânica se elevem ou mantêm nas camadas superficiais do solo resultando assim em menores perdas e liberação gradual de nutrientes para os micro-organismos (AMADO et al., 1999).

Em estudos de seis anos sobre a dinâmica do carbono e a matéria orgânica do solo sob diferentes sistemas de cultivo, convencional e plantio direto em rotação soja, milho e adubos verdes determinou que ao longo dos anos o plantio direto favoreceu a elevação dos teores de carbono orgânico e humina nas camadas superficiais do solo (SOUZA; MELO, 2003).

Estudos comparativos entre o sistema plantio direto e o convencional, também constataram que longos períodos com plantio direto (seis anos) no período de chuvas na rotação soja/milho indicam melhores condições químicas, físicas e microbiológicas nos primeiros 0- 5 cm do solo (MENDES; REIS JUNIOR, 2010b).

Com isso pode se dizer que em função do histórico de cultivo da área experimental, a profundidade da amostragem e as condições climáticas os teores de matéria orgânica podem apresentar diferenças, fato que reflete na quantidade de micro-organismos do solo.

Isso colabora com o estudo, porque a matéria orgânica associada a boas condições de precipitação e umidade do solo na safra 2011 da soja (Tabela 2 e Figura 1).

Além disso, Moreira e Siqueira (2006) dizem que em ambientes ácidos há o predomínio dos fungos, por serem considerados versáteis e persistentes, atuando com pH em torno de 5,5, degradando principalmente açúcares, amido, proteínas, celulose, resinas, lignina, etc. Já as bactérias, tendem a atuar em solos mais neutros, com pH na faixa de 6,0 a 8,5, sendo a maioria delas heterotróficas, obtendo energia através da matéria orgânica do solo. Assim os resultados obtidos colaboram com associação existente do pH com a microbiota do solo, pois a média do pH das safras em estudo foi de 6,0 e portanto maior número de bactérias na maioria dos tratamentos.

A comunidade bacteriana em relação à matéria orgânica e umidade apresentaram correlação positiva no ano agrícola de 2011, com 36 e 23%, comprovando assim a relação existente entre a matéria orgânica e as bactérias em função das boas condições climáticas do período. A safra de verão da soja, também apresentou correlação positiva para umidade, o que favoreceu a colonização bacteriana, enquanto que na safrinha foi negativa devido as baixas disponibilidades hídricas do período.

Em relação ao cálcio e fósforo, não foi verificado efeito de tratamento nem de anos, apenas entre safras, sendo maiores na safrinha, tanto cálcio, quanto fósforo (Tabela 3).

Tabela 3 - Cálcio (Ca) e fósforo (P) em 2011 e 2012, nas safras de verão da soja e safrinha dos sistemas de sucessão, em Dourados-MS.

Ca (cmolc dm ⁻³)						P (mg dm ⁻³)							
Tratamentos	2011			2012			Tratamentos	2011			2012		
B.ruzizizensis	8,2	a	A	9,1	a	A	B.ruzizizensis	93,9	a	A	128,8	a	A
Consórcio	6,7	a	A	7,2	a	A	Consórcio	93,5	a	A	85,2	a	A
Milho	7,1	a	A	7,8	a	A	Milho	69,1	a	A	81,8	a	A
Feijão Caupi	7,0	a	A	6,9	a	A	Feijão Caupi	84,8	a	A	88,4	a	A
Média	7,2	A		7,7	A		Média	85,3	A		96,0	A	
C.V (%)	15,1						C.V (%)	22,8					

Ca (cmolc dm ⁻³)						P (mg dm ⁻³)							
Tratamentos	Verão			Safrinha			Tratamentos	Verão			Safrinha		
B.ruzizizensis	7,2	a	B	10,1	a	A	B.ruzizizensis	94,1	a	B	128,6	a	A
Consórcio	5,6	a	B	8,3	a	A	Consórcio	56,1	a	B	122,6	a	A
Milho	5,5	a	B	9,3	a	A	Milho	47,7	a	B	103,3	a	A
Feijão Caupi	5,4	a	B	8,5	a	A	Feijão Caupi	58,3	a	B	114,8	a	A
Média	5,91	B		9,04	A		Média	64,0	B		117,3	A	
C.V (%)	15,1						C.V (%)	22,8					

Médias seguidas da mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 10 %.

O fósforo no solo é sintetizado pelos micro-organismos através das transformações bioquímicas, disponibilizando o elemento nutritivo às plantas, o que ocorre também com os outros elementos como, o N e S (PAUL; CLARK, 1989). Essas transformações se fazem pelas enzimas solubilizadoras de fosfatos, a fosfatase alcalina e ácida, pela influência da espécie vegetal, da calagem e adubação do solo. Com isso, Vieira e Nahas (1998), inferiram que o aumento do pH obtido da calagem tende a elevar a população de bactérias, e diminuir os fungos, Ivarson (1977), confirmando assim as afirmações de Higashida e Takao (1986) e Moreira e Siqueira (2006) de que bactérias, tendem a atuar em solos mais neutros, com pH na faixa de 6,0 a 8,5.

Outro ponto que se deve considerar independentemente da safra ou ano agrícola é que o fósforo foi mais expressivo na B.ruziziensis, corroborando com Nahas (2002), de que o efeito do fósforo em estudo com os micro-organismos do solo produtores de fosfatases foi mais pronunciado em solo com braquiária com aumento do número de colônias de fungos (BARROTI; NAHAS, 2000)

Portanto associando o fósforo a comunidade fúngica e ao pH no presente trabalho constata-se que a braquiária por ter apresentado maior número de unidades formadoras de colônias no verão em função do maior teor de fósforo e o pH de 5,6, favoreceu a comunidade fúngica. Diferindo de Cattelan e Vidor (1990) que não encontraram variação no número de fungos em diferentes sistemas de culturas devido ao teor de P.

6.1.3 Rendimento de grãos

O rendimento de grãos da soja não apresentou diferença estatística entre os tratamentos de outono-inverno, tendo maior produtividade em 2010-11 em comparação a 2011-12.

Kluthcouski et al. (2000) afirma que o rendimento de grãos para a maioria das culturas depende de uma série de variáveis como, o tipo de manejo utilizado, as condições climáticas do ano agrícola e a fertilidade do solo. Confirmado com Fageria et al. (1995) de que anos com deficiência hídrica tendem a haver perdas de rendimento das culturas.

Isso comprova, pois no ano agrícola de 2012 e na safra dos sistemas de rotação no outono-inverno, a produtividade dos tratamentos diminuiu devido terem sido safra e ano agrícola com menores índices pluviométricos em comparações as safras anteriores (Figura 2 e 5).

6.2 Quantificação dos micro-organismos

Na quantificação da microbiota do solo verifica-se em 2011 não houve efeito significativo para a comunidade bacteriana em relação aos tratamentos, já em 2012, destaque para o consórcio, com $7,89 \times 10^5$ unidades formadoras de colônias (UFC/ g solo), com interação significativa entre ano e tratamento em 2012, com destaque para o consórcio e o milho solteiro. E a média dos anos agrícolas foi superior em 2011, com $14,45 \times 10^5$ UFC g solo⁻¹ contra $4,37 \times 10^5$ UFC g solo⁻¹ em 2012. Nas safras de verão e safrinha, somente no verão, cultivo da soja, apresentou diferença significativa (Tabela 4).

Tabela 4 - População bacteriana, em unidades formadoras de colônias por grama de solo (UFC g solo⁻¹) nos anos agrícolas de 2011 e 2012, nas safras de verão e safrinha, em Dourados, MS.

Bactérias					
10⁵ UFC g solo⁻¹					
Tratamentos	2011			2012	
B.ruzizizensis	11,76	a	A	1,39	b B
Consórcio	15,71	a	A	7,89	a A
Milho	8,90	a	A	5,06	ab A
Feijão Caupi	21,41	a	A	3,13	ab B
Média	14,45	A		4,37	B
C.V (%)	58,32				

Bactérias					
10⁵ UFC g/solo					
Tratamentos	Verão			Safrinha	
B. ruzizizensis	8,33	b	A	4,82	a B
Consórcio	17,02	a	A	6,59	a B
Milho	11,16	ab	A	2,80	a B
Feijão Caupi	16,46	ab	A	8,09	a B
Média	13,24	A		5,57	B
C.V (%)	58,32				

Médias seguidas da mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 10 %

Para a população fúngica efeito significativo em 2011 na safra verão e em 2012 sem diferença nas safras, mas com interação significativa em 2012 para a safrinha.

Na safra de verão, destaque para o tratamento B.ruziziensis seguido do consórcio, com 11,65 e 6,27 x10⁵ UFC/ g solo, respectivamente. Com interação significativa somente na B.ruziziensis no verão, com 11,65 x10⁵ UFC/ g solo contra 1,08 x10⁵ UFC/ g solo na safrinha (Tabela 5).

Tabela 5 - População fúngica, em unidades formadoras de colônias por grama de solo (UFC g solo⁻¹) nos anos agrícolas de 2011 e 2012, nas safras de verão e safrinha, em Dourados, MS.

Fungos 10 ⁵ UFC g/solo					
Tratamentos	2011			2012	
Verão	8,87	a	A	1,00	a B
Safrinha	0,63	b	A	1,84	a A
Média	4,75	A		1,42	A
C.V (%)	100,84				

Fungos 10 ⁵ UFC g/solo					
Tratamentos	Verão			Safrinha	
B. ruziziensis	11,65	a	A	1,08	a B
Consórcio	6,27	ab	A	1,29	a A
Milho	1,41	ab	A	2,02	a A
Feijão Caupi	0,40	b	A	0,55	a A
Média	4,93	A		1,24	A
C.V (%)	100,84				

Médias seguidas da mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 10 %.

A química do solo esta ligada a matéria orgânica do solo relacionada à produtividade do solo e das culturas, exercendo efeitos diretos e indiretos sobre as características físicas, químicas e biológicas (ZILLI et al., 2003; ARAÚJO; MONTEIRO, 2007), principalmente, nos solos tropicais do Brasil, devido as constantes variações climáticas que modificam o microambiente que causam alterações na microbiota do solo.

A rizosfera tende a estimular diferentemente os micro-organismos do solo, principalmente em função da espécie vegetal. Nas leguminosas a manifestação é mais acentuada, devido a sua baixa relação carbono/ nitrogênio e predomínio da comunidade bacteriana, mas as gramíneas por terem o sistema radicular mais crescente e em constante renovação apresentam maior influência da rizosfera, Cattelan et al., (1997); Lynch (1984).

Por isso, acredita-se que as braquiárias apresentam maior potencial aos solos tropicais e adaptação às condições climáticas devido à presença de matéria seca em grandes quantidades o ano todo se a temperatura e a umidade do solo são favoráveis (KLUTHCOUSKI et al., 2006) devido o efeito rizosférico da planta.

O consórcio com os resultados maiores de população fúngica na safra de verão nesses tratamentos devido à presença da braquiária e a cultura do milho na safrinha, com $6,27 \times 10^5$ UFC g solo⁻¹. Pois, a cultura do milho tende a ser colonizada predominantemente pelos fungos e por produzir mais resíduo no solo, devido aos resíduos deixados no solo (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006).

Já nas regiões temperadas, os efeitos do solo e manejo da cultura na microbiologia do solo indicam que a rotação de culturas pode melhorar a agregação do solo, proporcionando diferença qualitativa entre as comunidades microbianas nos macro e microagregados (MILLER; DICK, 1995; MENDES et al., 1999). Há vários estudos sobre a microbiota em solos brasileiros, mas com informações ainda sem resposta, devido as variações climáticas (GUERRA et al., 1995; BALOTA et al., 1998).

Essas variações da diversidade microbiana entre as estações do ano, muitas vezes estão ligadas ao regime hídrico e ao clima da região, à estrutura e ao manejo do solo, e ao teor e à qualidade dos resíduos vegetais aportados, indicando que em cada estação pode ocorrer diferentes comunidades microbianas umas mais dominantes, e abundantes que outras (TIEDJE et al., 2001; ROGERS ; TATE III, 2001).

Cattelan e Vidor (1990), em estudo sobre flutuação da população microbiana em função das variações ambientais, indicam que o desenvolvimento microbiano foi influenciado pela umidade e temperatura e pelo efeito que essas variações causam na cobertura vegetal. Fato semelhante ao trabalho em estudo devido às variações climáticas dos anos de 2011 para 2012 e das safras de verão e safrinha.

Moreira e Siqueira (2006) diz que diversos autores afirmam que as bactérias tendem a colonizar mais os resíduos da soja, fato este ainda inexplicável, tudo indica que pode ser devido à soja absorver mais cátions básicos, principalmente o cálcio, o que proporciona resíduos mais adequados ao crescimento bacteriano. Com isso, pode-se dizer que em solos corrigidos há predomínio da colonização bacteriana, sem contar pela maior demanda de nitrogênio pelas bactérias.

Em estudo dos sistemas de rotação em plantio direto com associação aos micro-organismos na cultura da soja, Cattelan et al., (1997), observou que a população microbiana tende a aumentar em solos sem acidez, com alto teor de carbono orgânico e sob disponibilidade de água. Concluíram também que o rendimento da soja se relacionada com a população microbiana, mas não de maneira significativa.

Afirmações essas que corroboram com as altas unidades formadoras de colônias de bactérias durante a soja no verão, associado também ao grande número de bactérias na sucessão ao feijão-caupi, o que pode ser atribuído a grande presença de bactérias fixadoras de nitrogênio, tanto na soja como no feijão-caupi. Isto porque, a fixação biológica de nitrogênio realizada pela soja e pelo feijão-caupi, através da nodulação de suas raízes, tem contribuído também para o aumento da ciclagem de nutrientes e da produtividade.

Outro ponto, que pode favorecer para este estudo, é o fato das bactérias apresentarem diâmetro muito pequeno, aproximado de 0,5 μm , favorecendo sua fixação no interior dos agregados enquanto, os fungos, por serem maiores, predominam fora dos agregados do solo, ambos em função do conteúdo de água (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006). Com isso, o solo argiloso de Dourados apresenta mais microagregados, que armazenam água e menos macroagregados. E por as bactérias necessitarem de umidade no solo para se desenvolverem, mais do que a fungos, a comunidade bacteriana encontrou condições essenciais para sobrevivência nas safras em que as condições climáticas foram superiores, em 2011 e no verão.

Em relação aos anos observa-se que em 2011 e na safra de soja no verão houve predominância da comunidade bacteriana, por ter sido uma safra com melhores condições climáticas e por colonizarem, predominantemente a soja. Para a comunidade fúngica foi o contrário, na safrinha no ano agrícola de 2012 apresentou os maiores valores.

A correlação positiva existente entre os tratamentos e a comunidade bacteriana foi nos tratamentos com *B. ruziense*, consórcio e milho safrinha, tendo apresentado correlação positiva de bactérias com umidade, 47%, 73 e 75% para os respectivos tratamentos, indicando assim que as gramíneas precisam da umidade no solo para que as bactérias se desenvolvam, fato que não ocorreu no feijão-caupi, corroborando com Cruz et al. (2006) de que o milho tende a produzir melhor em maiores níveis pluviométricos e da umidade do solo.

6.3 Atividade enzimática do solo

A fim de se relacionar a microbiota e a matéria orgânica do solo foram determinadas as atividades enzimáticas do solo, pois a atividade celulásica esta associada à ciclagem da matéria orgânica, uma vez que, atuam diretamente na parede celular vegetal e a atividade amilásica por estar associada à hidrólise do amido presente nas leguminosas em estudo.

Os níveis de atividade enzimática, apresentado pelo solo em estudo variaram em relação ao ano agrícola e a época de cultivo, verão ou safrinha. A atividade amilásica houve diferença significativa em 2011 para os tratamentos, mas sem diferir em 2012, o feijão caupi foi o que apresentou a maior atividade com $1814,78 \mu\text{g}^{-1} \text{dwt } 24 \text{ h}^{-1}$, em 2011. A interação foi significativa em 2011, em destaque para o feijão caupi e o consórcio. Já em relação às safras de soja no verão e safrinha dos sistemas de rotação não houve diferença significativa entre os tratamentos nas safras, mas com interação significativa na safrinha no milho solteiro e consorciado (Tabela 6).

Tabela 6 - Atividade amilásica por equivalente de glicose ($\mu\text{ g}^{-1}\text{ dwt } 24\text{ h}^{-1}$) em 2011 e 2012 na soja no verão e na safrinha em Dourados-MS.

Amilase					
Tratamentos	2011			2012	
B. ruziensi	1057,27	bc	B	1680,74	a A
Consórcio	1487,81	ab	A	1764,01	a A
Milho	994,31	c	B	1770,10	a A
Feijão Caupi	1814,78	a	A	1512,18	a A
Média	1338,54	B		1681,76	A
C.V (%)	17,1				

Amilase					
Tratamentos	Verão			Safrinha	
B. ruziensi	1652,31	a	A	1085,7	a B
Consórcio	1757,92	a	A	1493,9	a A
Milho	1556,86	a	A	1207,55	a A
Feijão Caupi	1926,48	a	A	1400,48	a B
Média	1723,39	A		1296,91	B
C.V (%)	17,1				

Médias seguidas da mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 10 %.

Ao associar a população microbiana com a atividade enzimática do amido pode-se observar que o maior número de unidades formadoras de colônias de bactérias do feijão caupi, $21,41 \times 10^5\text{ UFC g solo}^{-1}$ em 2011 esta relacionado à maior atividade amilásica devido a ação da hidrólise do amido ocorrer nas leguminosas.

Silva et al. (2009) em estudo realizado com o feijão-caupi e a cana-de-açúcar indicaram que o feijão-caupi é potencialmente superior a cana de açúcar quanto à densidade de bactérias com potencial para produção de amilases e que os índices enzimáticos de bactérias isoladas do feijão-caupi foram superiores. Contribuindo assim, para os resultados encontrados no trabalho em estudo, em 2011 e na safra de verão da soja em sucessão ao feijão-caupi.

Para a atividade celulásica, houve diferença no ano de 2011, com destaque para a *B. ruziensi* que apresentou a maior atividade, com $10844, 13\text{ }\mu\text{ g}^{-1}\text{ dwt } 24\text{ h}^{-1}$ em relação a 2012, que não diferiu estatisticamente, mas com a interação significativa no ano agrícola para os tratamentos, feijão-caupi e milho solteiro. Em relação às safras de verão de soja e safrinha dos sistemas de rotação, houve diferença significativa na safrinha para o tratamento *B. ruziensi*, com $11544, 13\text{ }\mu\text{ g}^{-1}\text{ dwt } 24\text{ h}^{-1}$ e interação significativa no milho solteiro no verão. (Tabela 7).

A matéria orgânica vegetal é constituída basicamente de celulose, sendo o constituinte mais abundante, representando 50% do lenho maduro, 10% das folhas, 35 % do caule e se relaciona com o tipo, quantidade e teor de argila influenciando no total de carbono orgânico do solo. Portanto solo argiloso aliado à celulose apresenta o crescimento microbiano alto, principalmente na degradação inicial do substrato e dos restos culturais (TAUK, 1990).

Tabela 7 - Atividade celulásica, por equivalente de glicose ($\mu \text{ g}^{-1} \text{ dwt } 24 \text{ h}^{-1}$) na soja safras 2011 e 2012 no verão e na safrinha em Dourados-MS.

Celulase					
Tratamentos	2011			2012	
B. ruziziensis	10844,13	a	A	8484,13	a B
Consórcio	9464,13	ab	A	7534,13	a B
Milho	7344,13	bc	A	7424,13	a A
Feijão Caupi	6704,13	c	A	8264,13	a A
Média	8589,13	A		7926,63	A
C.V (%)	19,92				

Celulase					
Tratamentos	Verão			Safrinha	
B. ruziziensis	7784,13	a	B	11544,13	a A
Consórcio	7484,13	a	B	9514,13	ab A
Milho	6634,13	a	A	8134,13	b A
Feijão Caupi	6234,13	a	B	8734,13	ab A
Média	7034,13	B		9481,63	A
C.V (%)	19,92				

Médias seguidas da mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 10 %.

Com relação à atividade celulásica, as maiores atividades foram observadas na *B. ruziziensis* e no consórcio, os quais também apresentaram o maior número total de fungos, em 2011 e na safra de verão (Tabela 3). Como a celulase esta intimamente ligada a hidrolise da matéria orgânica, e consequentemente a rizosfera atua sobre os micro-organismos e espécie vegetal, portanto, gramíneas, como a *B. ruziziensis* e o consórcio milho/ braquiaria tendem a apresentar maiores atividades celulolíticas.

Os resultados deste trabalho corroboram com Dodor e Tabatabai (2003), que em estudos sobre amidohidrolases (amidase, l-asparaginase, l-aspartase e l-glutaminase) constataram que a rotação de culturas aumentou a atividade enzimática em comparação ao cultivo continuo de milho ou soja.

Cattelan et al. (1997), em estudo com diferentes sistemas de cultivo e a população microbiana de milho/soja apresentou maior contagem de bactérias nos primeiros centímetros de solo (0-8 cm) e de fungos nas camadas mais profundas (8-20 cm), com atividade enzimática predominante nas camadas superficiais e serrapilheiras. Outro fato que favorece a

maior atividade enzimática da amilase no feijão caupi devido à amostragem ter sido feita até os primeiros 10 cm.

Diversos fatores biológicos ou físico-químicos que afetam a atividade enzimática e o número de micro-organismos. Sanomiya e Nahas (2003), afirmam que as bactérias amilolíticas e celulolíticas são influenciadas pelo pH do solo, com maior frequência e atividade enzimática em pH na média de 6,0. Portanto, colabora com o estudo, pois a associação das atividades enzimáticas e o pH do solo tanto nos anos agrícolas como nas safras tiveram média de pH 6,0.

Com isso, pode-se inferir que a população microbiana, nesse ambiente, apresenta potencial na degradação de material celulósico nas leguminosas e de degradação do amido nas gramíneas.

Houve correlação positiva entre a comunidade fúngica e a atividade celulásica para na *B. ruziensis* em 2011 e no verão, podendo dizer assim que a atividade celulásica ocorreu em função da presença da comunidade fúngica e pela presença da rizosfera na *B. ruziensis* nesse período.

Correlação positiva entre as bactérias e atividade amilásica, (41%) foram observadas no tratamento com feijão-caupi.

7 CONCLUSÃO

A comunidade bacteriana teve maior número de unidades formadoras de colônias, em 2011 para o tratamento feijão-caupi, e na safra de verão durante a soja no tratamento em sucessão ao consócio.

Os maiores índices pluviométricos favorecem o crescimento das bactérias no solo.

A população fúngica está mais presente em condições mais secas.

A microbiota do solo tende a se alterar entre anos e safras, condições climáticas e da cultura utilizada.

A sucessão de culturas e a matéria orgânica influencia na microbiota do solo em função do efeito rizosférico.

A comunidade bacteriana degrada amido e a fúngica a celulose.

REFERÊNCIAS

- AMADO, T. J. C.; MIELNICZUK, J.; FERNANDES, S. B. V.; BAYER, C. Culturas de cobertura, acúmulo de nitrogênio total no solo e produtividade do milho. **Revista Brasileira Ciência do Solo**, Viçosa, MG, v. 23, p.679-686, 1999.
- ARAÚJO, A. S. F. de; MONTEIRO, R. T. R. Indicadores biológicos de qualidade do solo. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 23, n. 3, p. 66-75, 2007.
- ATLAS, R. M.; BARTHA, R. **Microbial ecology: fundamentals and applications**. Menlo Park: Benjamin\Cummings Publishing, 1993. 576 p.
- ATLAS, R. M. **Principles of microbiology**. 2. ed. Iowa: Wm. C. Brown Publishers, 1997. 1298 p.
- BALESDENT, J.; CHENU, C.; BALABANE, M. Relationship of soil organic matter dynamics to physical protection and tillage. **Soil & Tillage Research**, Amsterdam, v. 53, p.215-230, 2000.
- BALOTA, E. L.; COLOZZI-FILHO, A.; ANDRADE, D. S.; HUNGRIA, M. Biomassa microbiana e sua atividade em solos sob diferentes sistemas de preparo e sucessão de culturas. **Revista Brasileira Ciência do Solo**, Viçosa, MG, v. 22, p. 641–649, 1998.
- BANDICK, A. K.; DICK, R. P. Field management effects on soil enzyme activities. **Soil Biology and Biochemistry**, Elmsford, v. 31, p. 1471 - 1479, 1999.
- BEUTLER, A. N.; SILVA, M. L. N; CURI, N; FERREIRA, M. M.; CRUZ, J. C.; PEREIRA FILHO, I. A. Resistência à penetração e permeabilidade de Latossolo Vermelho distrófico típico sob sistemas de manejo na região dos Cerrados. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 25, p.167-177, 2001.
- BON, E. P. S.; GÍRIO, F.; PEREIRA JUNIOR, N. Enzimas na produção de etanol. In: BON, E. P. S. **Enzimas em biotecnologia: produção, aplicações e mercado**. Rio de Janeiro: Interciência, 2008. Cap. 10, p. 241-259.
- BORZANI, W.; AQUARONE, E.; LIMA, U. A.; SCHMIDELL, W. **Biotecnologia Industrial: Fundamentos**. São Paulo: Edgard Blucher, 2001. v.1, 254 p.
- BRUNINI, O.; ZULLO JR. J.; PINTO, H. S.; ASSAD, E.; SAWAZAKI, E.; DUARTE, A. P.; PATTERNIANI, M. E. Z. Riscos climáticos para a cultura de milho no estado de São Paulo. **Revista Brasileira de Agrometeorologia**, Passo Fundo, v. 9, n. 3, p.519-526, 2001.
- CAMPOS, B. C.; REINERT, D. J.; NICLODI, R.; RUEDELL, J.; PETRERE, C. Estabilidade estrutural de um latossolo vermelho-escuro distrófico após sete anos de rotação

de culturas e sistemas de manejo de solo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v. 19, n. 1, p. 121-126, 1995.

CARDOSO, E. J. B. N.; TSAI, S. M.; NEVES, M. C. P. **Microbiologia do solo**. Campinas: SBCS, 1992. 360 p.

CARDOSO, C. O.; FARIA, R. T. ; FOLEGATTI, M. V. Simulação do rendimento e riscos climáticos para o milho safrinha em Londrina - PR, utilizando o modelo Ceres-Maize. **Engenharia Agrícola**, Sorocaba, v. 24, n. 2, p. 291-300, 2004.

CATTELAN, A. J.; VIDOR, C. Sistemas de culturas e a população microbiana do solo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v. 14, n. 2, p.125- 132, 1990.

CATELLAN, A. J.; GAUDÊNCIO, C. A.; SILVA, T. A. Sistemas de rotação de culturas em plantio direto e os microrganismos do solo, na cultura da soja, em Londrina. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v. 21, p. 293-301, 1997.

CECCON, G. Milho safrinha com solo protegido e retorno econômico em Mato Grosso do Sul. **Revista Plantio Direto**, Passo Fundo, v. 17, n. 97, p. 17-20, 2007.

CECCON, G.; STAUT, L. A.; SAGRILO, E.; MACHADO, L. A. NUNES, D. P.; ALVES, V. B. Legumes and forage species sole or intercropped with corn in soybean-corn succession in Midwestern Brazil. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, MG, v. 37, n. 1, p 204 - 212, 2013.

COSTA, L. M.; OLSZEWSKI, N. Caracterização da paisagem do Cerrado. In: FALEIRO, F. G.; FARIA NETO, A. L.; (Ed.). **Savanas_desafios e estratégias para o equilíbrio entre sociedade, agronegócio e recursos naturais**. Planaltina: Embrapa Cerrados, 2008. p. 363-378, 2008.

CUBILLA, M. M. A.; REINERT, D. J.; AITA, C.; REICHERT, J. M.; RANNO, S. K. Plantas de cobertura do solo em sistema plantio direto – uma alternativa para aliviar a compactação. In: REUNIÃO BRASILEIRA DE MANEJO E CONSERVAÇÃO DO SOLO E DA ÁGUA, 14, 2002, Cuiabá. **Resumos...** Cuiabá: Universidade Federal de Mato Grosso, 2002. 96 p.

CRUZ, J. C.; PEREIRA FILHO, I. A.; ALVARENGA, R. C.; NETO, M. M. G.; VIANA, J. H. M.; OLIVEIRA, M. F.; SANTANA, D.P. **Manejo da cultura do milho**. Sete Lagoas, Embrapa, 2006. (Circular técnica, 87).

DENG, S. P.; TABATABAI, M. A. Cellulase activity of soils. **Soil Biology & Biochemistry**, Elmsford, v. 26, n. 10, p. 1347-1354, 1994.

DENG, S. P.; TABATABAI, M. A. Effect of tillage and residue management on enzyme activities in soils, II. Glycosidases. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v. 22, p. 208-213, 1996.

DENG, S. P.; TABATABAI, M. A. Effect of tillage and residue management on enzyme activities in soils: III. Phosphatases and arylsulfatase. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v. 24, p. 141–146, 1997.

DICK, R. P.; RASMUSSEN, P. E.; KERLE, E. A. Influence of long-term residue management on soil enzyme activities in relation to soil chemical properties of a wheat-fallow system. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v. 6, p. 159-164, 1988.

DODOR, D. E.; TABATABAI, M. A. Amidohydrolases in soils as affected by cropping systems. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v. 24, p.73–90, 2003.

DORAN, J. W.; JONES, A. J. **Methods for assessing soil quality**. Madison: SSSA, 1996. 411 p. (SSSA Special Publication, 49)

DORAN, J. W.; PARKIN, T. B. Defining and assessing soil quality. In: DORAN, J. W.; COLEMAN, D. C.; BEZDICEK, D. F.; STEWART, B. A. (Org.). **Defining soil quality for a sustainable environment**. Madison: SSSA, 1994. p. 3-21.

DUARTE, A. P.; MARTINS, A. C. N.; BRUNINI, O. **Milho safrinha, técnicas para o cultivo no estado de São Paulo**. Campinas: CATI, 2000. 16 p. (Documento técnico, 113).

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA- Embrapa. Agropecuária Oeste. **Clima MS**: banco de dados. Dourados: Embrapa/Agropecuária Oeste, [2011?]. Disponível em: <<http://www.cpao.embrapa.br/clima/>>. Acesso em: 12 nov. 2011.

ERIKSSON K. E. L.; BLANCBETTE R. A.; ANDER. P. Biodegradation of cellulose. In: ERIKSSON K. E. L.; BLANCBETTE R. A.; ANDER. P (Eds). **Microbial and enzymatic degradation of wood and wood components**. New York: Springer-Verlag, p. 89-180, 1990.

FAGERIA, N. K.; SANTANA, E. P.; MORAIS, O. P. de. Resposta de genótipos de arroz de sequeiro favorecido à fertilidade do solo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 30, n. 9, p. 1155-1161, 1995.

FALKER. **Medidor eletrônico de umidade do solo**. Disponível em: <<http://www.falker.com.br/datasheet.php?Id=7>>. Acesso em: 16 jul. 2010a.

FARIAS, J. R. B.; ASSAD, E. D.; ALMEIDA, I. R. ; EVANGELISTA, B. A.; LAZZAROTTO, C.; NEUMAIER, N.; NEPOMUCENO, A. L. Caracterização de risco de déficit hídrico nas regiões produtoras de soja no Brasil. **Revista Brasileira de Agrometeorologia**, Passo Fundo, v. 9, n. 3, p. 415-421, 2001.

FERREIRA, R. R. M.; TAVARES FILHO, J.; FERREIRA, V. M. Efeitos de sistemas de manejo de pastagens nas propriedades físicas do solo. **Revista Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 31, n. 4, p. 913-932, 2010.

FIETZ, R. C.; FISCH, G. F. **O clima da Região de Dourados, MS**. Dourados: Embrapa Agropecuária Oeste, 2008. 32 p. (Documentos, 92).

FRAGA, M. E.; BRAZ, D. M.; ROCHA, J. F.; PEREIRA, M. G.; FIGUEIREDO, D. V. Interação microrganismo, solo e flora como condutores da diversidade na Mata Atlântica. **Acta Botanica Brasilica**, Porto Alegre, v. 26, p. 857-865. 2012.

FREIRE FILHO, F. R.; RIBEIRO, V. Q.; BARRETO, P. D.; SANTOS, A. A. Melhoramento

genético. In: FREIRE FILHO, LIMA, J. A. de A.; RIBEIRO, V. Q. (Ed.). **Feijão-caupi: avanços tecnológicos**. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2005. p. 29-92.

FREITAS, P. L. ; BLANCANEUX, P.; GAVINELLI, E.; LARRÉ-LARROUY, M. C.; FELLER, C. Nível e natureza do estoque orgânico de latossolos sob diferentes sistemas de uso e manejo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 35, n. 1, p. 157-170, 2000.

GAMA RODRIGUES, E. F.; GAMA RODRIGUES, A. C.; BARROS, N. F. Biomassa microbiana de carbono e de nitrogênio de solos sob diferentes coberturas florestais. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v. 21, p. 361-365, 1997.

GUERRA, J. G. M.; FONSECA, M. C.; ALMEIDA, D. L.; DE-POLLI, H.; FERNANDES, M. S. Conteúdo de fósforo da biomassa microbiana de um solo cultivado com *Brachiaria decumbens* Stapf. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 30, p. 543-551, 1995.

GOEDERT, W. J.; OLIVEIRA, S. A. Fertilidade do solo e sustentabilidade da atividade agrícola. In: NOVAIS, R. F.; ALVARES V, V. H.; BARROS, N. F.; FONTES, R. L. F.; CANTARUTTI, R. B.; NEVES, J. C. L. (Ed.). **Fertilidade do solo**. Viçosa: SBCS, 2007. Cap. 18, p. 991-1017.

HIGASHIDA, S.; TAKAO, K. Relations between soil microbial activity and soil properties in grassland. **Soil Science and Plant Nutrition**, Tokyo, v. 32, n. 4, p. 587-597, 1986.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA - IBGE. **Levantamento sistemático da produção agrícola – 2012**. Rio de Janeiro: IBGE, 2012 v. 25 n. 10, p.1-84. Disponível em: http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/indicadores/agropecuaria/lspa/lspa_201210.pdf>. Acesso em : 01 nov. 2012

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA - IBGE. **Levantamento sistemático da produção agrícola – 2013**. Rio de Janeiro: IBGE, 2013. Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/prevsaf/default.asp>>. Acesso em : 01 de março de 2013.

IVARSON, K. C. Changes in decomposition rate, microbial population and carbohydrate content of an acid peat bog after liming and reclamation. **Canadian Journal of Soil Science**, Ottawa, v. 57, p. 129-137, 1977.

JANTALIA, C. P.; VILELA, L.; ALVES, B.; BODDEY, R. M.; URQUIAGA, S. **Influência de pastagens e sistemas de produção de grãos, no estoque de carbono e nitrogênio em um Latossolo Vermelho**. Seropédica; Embrapa Agrobiologia, 2006. 50 p. (Boletim de pesquisa e desenvolvimento, 11)

JHA, D. K.; SHAMA, G. D.; MISHARA, R. R. Soil microbial population numbers and enzymes activities in relation to altitude and Forest degradation. **Soil Biology and Biochemistry**, Elmsford, v. 24, p. 761-767, 1992.

KASTNER, M.; BREUER- JAMMALI, M.; MAHRO, B. Enumeration and characterization of soil microflora from hydrocarbon-contaminated soil quality sites able to mineralize polycyclic aromatic hydrocarbons. **Applied Microbiology and Biotechnology**, Berlin, v. 41, p. 267-273, 1994.

KLUTHCOUSKI, J.; STONE, L. F.; AIDAR, H. Cobertura do solo na integração lavoura pecuária. In: SIMPÓSIO DE PRODUÇÃO DE GADO DE CORTE, 5, 2006, Viçosa. **Anais...** Viçosa: Ed. UFV, 2006. p. 88.

KLUTHCOUSKI, J.; FANCELLI, A. L.; DOURADO-NETO, D.; RIBEIRO, C. M.; FERRARO, L. A. Manejo do solo e o rendimento de soja, milho, feijão e arroz em plantio direto. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v.57, n.1, p.97-104, 2000.

LAMBERT, P. W.; MEERS, J. L.; BEST, D. J. The production of industrial enzymes. **Philosophical transactions of the Royal Society of London**, London, Series B, v. 300, p. 263-282, 1983.

LYNCH, J. M. Interactions between biological processes, cultivation and soil structure. **Plant Soil**, The Hague, v. 76, p.307-318, 1984.

LOPES, M. A. **A agricultura e o desafio da sustentabilidade**. 2007. Disponível em: <http://www.infobibos.com/Artigos/2007_1/sustentabilidade/index.htm>. Acesso em: 19 fev. 2007.

LOVELL, R. D.; JARVIS, S. C.; BRADGETT, R. D. Soil microbial biomass and activity in longterm grassland: effects of management changes. **Soil Biology and Biochemistry**, Elmsford, v. 27, p. 969-975, 1995.

MACHADO, L. A. M.; FABRÍCIO, A. C.; ASSIS, P. G. G. ; MARASCHIN, G. E. Estrutura do dossel em pastagens de capim-marandu. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, DF, v. 42, n. 10, p. 1495- 1501, 2007.

MADIGAN, M. T.; MARTINKO, J. M.; PARKER, J. **Brock biology of microorganisms**. 9. ed. New York: Prentice-Hall, 2000.

MADIGAN, M. T.; MARTINKO, J. M.; DUNLAP, P. V.; CLARK, D. P. Visão geral dos vírus e virologia. In: MADIGAN, M. T. et al. **Microbiologia de Brock**. 12. ed. Porto Alegre: Artmed, cap. 23. p. 674-693, 2010.

MAKOI, J. H. J. R.; NDAKIDEMI, P. A. Selected soil enzymes: examples of their potential roles in the ecosystem. **African Journal of Biotechnology**, v. 7, p. 181-191, 2008.

MATO GROSSO DO SUL. Secretaria de Planejamento e Coordenação Geral. **Atlas Multireferencial**. Campo Grande: Secretaria de Planejamento e Coordenação Geral. 1990. 28 p.

MAZZOLA, M. Assessment and management of soil microbial community structure for disease suppression. **Annual Review of phytopathology**, New York, v. 42, p. 35-59, 2004.

MELO, I. S. Recursos genéticos microbianos. In: MELO, I. S.; VALADARES-INGLIS, M. C; NASS, L. L.; VALOIS, A. C. C. **Recursos genéticos e melhoramento: micro-organismos**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2002. Cap.1, p. 1-48.

MENDES, I. C.; BANDICK, A. K.; DICK, R. P.; BOTTOMLEY, P. Microbial biomass and activities in soil aggregates affected by winter cover crops. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 63, p. 873–881, 1999.

MENDES, I. C. ; REIS JUNIOR, F. B. **Bioindicadores em sistemas de plantio direto e convencional**. Parte I. 29. ed. Planaltina: Embrapa Cerrados, 2010a.

MENDES, I. C. ; REIS JUNIOR, F. B. **O uso dos micro-organismos como bioindicadores para avaliar qualidade dos solos agrícolas**. 33. ed. Planaltina: Embrapa Cerrados, 2010b.

MENDES, I. C.; VIVALDI, L. Dinâmica da biomassa e atividade microbiana em uma área sob Mata de Galeria na região do DF. In: RIBEIRO, J. F.; SILVA, J. C. S.; LAZARINI, C. E. **Conservação e recuperação da biodiversidade das Matas de Galeria do bioma Cerrado**. Planaltina: Embrapa Cerrados, 2001. p. 665-687.

MICHEREFF, S. J.; ANDRADE, D. E. G. T.; MENEZES, M. **Ecologia e manejo de patógenos radiculares em solos tropicais**. 2005. 398 f. Tese (Doutorado em Fitotecnia) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2005.

MILLER, M.; DICK, R. P. Dynamics of soil C and microbial biomass in whole soil and aggregates in two cropping systems. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v. 2, p.253–261, 1995.

MOREIRA, S. G.; PROCHNOW, L. I.; KIEHL, J. C.; PAULETTI, V. Produtividade de soja e acúmulo de nutrientes em função de sistemas de preparo. In: REUNIÃO BRASILEIRA DE MANEJO E CONSERVAÇÃO DO SOLO E DA ÁGUA, 14, 2002, Cuiabá. **Resumos...** Cuiabá: Universidade Federal de Mato Grosso, 2002. p.145.

MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e bioquímica do solo**. 2. ed. Lavras: Ed. da UFLA, 2006. 729 p.

MURPHY, D. V.; SPARLING, G. P.; FILLERY, I. R. P. Stratification of microbial biomass C and N and gross N mineralization with soil depth in two contrasting Western Australian agricultural soil. **Australian Journal of Soil Research**, Melbourne, v. 36, p. 45-55, 1998.

NAHAS, E. Microrganismos do solo produtores de fosfatases em diferentes sistemas agrícolas. **Bragantia**, Campinas, v. 61, n. 3, p.267-275, 2002.

PAUL, E. A.; CLARK, F. E. **Soil microbiology and biochemistry**. California: Academic Press, 1989. 275 p.

PEIXOTO, R. S.; ROSADO, A. S.; TAKETANI, R. G. Bioprospecção da diversidade microbiana cultivável e não cultivável. In: MELO, I. S.; AZEVEDO, J. L. **Microbiologia ambiental**. 2. ed. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2008. Cap. 4, p. 83-106.

PERSMARK, L.; BANCK, A.; JANSSEN, H. Population dynamics of nematophagous fungi and nematodes in an arable soil: vertical and seasonal fluctuations. **Soil Biology and Biochemistry**, Elmsford, v. 28, p. 1005-1014, 1996.

POSSAMAI, J. M.; SOUZA, C. M. ; GALVÃO, J. C. C. Sistemas de preparo do solo para o cultivo do milho safrinha. **Bragantia**, Campinas, v. 60, n. 2, p. 79-82. 2001.

POWLSON, P. S.; BROOKES, P. C.; CHRISTENSEN, B. T. Measurement of soil microbial biomass provides an early indication of changes in total soil organic matter due to straw incorporation. **Soil Biology and Biochemistry**, Elmsford, v. 19, p. 159-164, 1987.

REIS JUNIOR, F. B. ; MENDES, I. C. **Biomassa microbiana do solo**. Planaltina: Embrapa Cerrados, 2007. 9 p. (Documentos, 205).

RICHMOND P. A. Occurrence and functions of native cellulose. In: HAIGLER, C. H.; WEIMWR, P. J. **Biosynthesis and biodegradation of cellulose**. New York: Dekker, 1991. p. 5-23.

ROGERS, B. F.; TATE III, R. L. Temporal analysis of the soil microbial community along a toposequence in Pineland soils. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 33, n. 10, p. 1389-1401, 2001.

SAEG. **Sistema para análises estatísticas**. Versão 9.1. Viçosa: Ed. da UFV/Fundação Arthur Bernardes, 2007.

SANO, E. E.; ROSA, R.; BRITO, J. L. S.; FERREIRA, L. G. Mapeamento semidetalhado do uso da terra do Bioma Cerrado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 43, n. 1, p. 153-156, 2008.

SANOMIYA, L. T.; NAHAS E. Micro-organismos produtores de hidrolases envolvidos nas transformações dos compostos do carbono e do nitrogênio do solo. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 33, n. 5, p.835-842, 2003.

SILVA, M. D.; KUKLINSKY-SOBRA, J ; FREIRE, F. J. ; SILVA, M. O. ; LIRA CADETE, L ; FARIAS, A. R. B. . Bioprospecção de bactérias produtoras de amilase em feijão caupi e cana-de-açúcar. In: JORNADA DE ENSINO, PESQUISA E EXTENSÃO / SEMANA NACIONAL DA CIÊNCIA E TECNOLOGIA, 9, 2009, Recife. **Anais...** Recife: UFPE, 2009.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A.; TANIWAKI, M. H.; SANTOS, R. F. S.; GOMES, R. A. R. Contagem total de microrganismos aeróbicos mesófilos e psicrotróficos em placas. In: SILVA, N. et al. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. 3. ed. São Paulo: Varela, 2007. Cap. 6, p. 87-97a.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A.; TANIWAKI, M. H.; SANTOS, R. F. S.; GOMES, R. A. R. Contagem de bolores e leveduras. In: SILVA, N. et al. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. 3. ed. São Paulo: Varela, 2007. Cap. 7, p. 99-108b.

SCHMITZ, J. A. K. **Indicadores biológicas de qualidade do solo**. 2003. Tese (Doutorado) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2003.

SCHINNER, F.; VON MERSE, W. Xylanase, CMcellulase- and invertase activity in soil: an improved method. **Soil Biology and Biochemistry**, Elmsford, v. 22, p. 511-515, 1990.

SOUZA, W. J. O.; MELO, W. J. Matéria orgânica em um latossolo submetido a diferentes sistemas de produção de milho. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, n. 27, p. 1113-1122, 2003.

SMITH, J. L.; PAUL, E. A. The significance of soil microbial biomass estimations. **Soil Biology and Biochemistry**, Elmsford, v. 6, p. 357-396, 1990.

TAYLOR, J. P.; WILSON, M.; MILLS, S.; BURNS, R. G. Comparison of microbial numbers and enzymatic activities in surface soils and subsoils using various techniques. **Soil Biology and Biochemistry**, Elmsford, v. 34, p. 387-401, 2002.

TAUK, S. M. Biodegradação de resíduos orgânicos no solo. **Revista Brasileira de Geociência**, São Paulo, v. 20, p. 299-301, 1990.

TIEDJE, J. M.; CHO, J. C.; MURRAY, A.; TREVES, D.; XIA, B.; AHOU, J. Soil teeming with life: new frontiers for soil science. In: REES, R. M.; BALL, B. C.; CAMPEBELL, C. D.; WATSON, C. A. (Org.). **Sustainable management of soil organic matter**. Wallingford: CAB International, 2001. p. 393-412.

TORSVIK, V.; ØVREÅS, L. Microbial diversity and function in soil: from genes to ecosystems. **Current Opinion in Microbiology**, Amsterdam, v. 5, n. 3, p. 240-245, 2002.

VIEIRA, F. C. S.; NAHAS, E. Microbial counts of dark red latosol samples stored at different temperatures. **Revista de Microbiologia**, São Paulo, v. 29, p.159-163, 1998.

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