

UFRRJ

**INSTITUTO DE AGRONOMIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
AGRONOMIA - CIÊNCIA DO SOLO**

DISSERTAÇÃO

**Diversidade Bacteriana em Solos Cultivados com
Diferentes Plantas de Cobertura sob Sistema Plantio
Direto e Convencional em Unidade de Produção
Orgânica**

Gustavo Souza Lima Sant'Anna

2020



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

**DIVERSIDADE BACTERIANA EM SOLOS CULTIVADOS COM
DIFERENTES PLANTAS DE COBERTURA SOB SISTEMA PLANTIO
DIRETO E CONVENCIONAL EM UNIDADE DE PRODUÇÃO
ORGÂNICA**

GUSTAVO SOUZA LIMA SANT'ANNA

Sob a Orientação da Professora
Irene da Silva Coelho

E Coorientação do Professor
Everaldo Zonta

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre**, no Programa de Pós-Graduação em Agronomia – Ciência do Solo, Área de Concentração em Biologia do Solo.

Seropédica, RJ
Abril de 2020

Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Biblioteca Central/Seção de Processamento Técnico

Ficha catalográfica elaborada
Com os dados fornecidos pelo(a) Autor(a)

S231d	<p>SANT'ANNA, GUSTAVO SOUZA LIMA, 1990- Diversidade bacteriana em solos cultivados com diferentes plantas de cobertura sob Sistema Plantio Direto e Convencional em unidade de produção orgânica/GUSTAVO SOUZA LIMA SANT'ANNA. – Seropédica, RJ, 2020. 60 f.</p> <p>Orientadora: IRENE DA SILVA COELHO. Orientador: EVERALDO ZONTA. Dissertação(Mestrado). – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Pós-Graduação em Agronomia – Ciência do Solo, 2020.</p> <p>1. Diversidade microbiana. 2. Gene <i>rrs</i>. 3. Sequenciamento de Nova Geração. I. COELHO, IRENE DA SILVA, 1979-, orient. II. ZONTA, EVERALDO, 1970-, coorient. III Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Pós-Graduação em Agronomia – Ciência do Solo. IV. Título.</p>
-------	---

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

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

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

GUSTAVO SOUZA LIMA SANT'ANNA

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre**, no Programa de Pós-Graduação em Agronomia – Ciência do Solo, área de Concentração em Biologia do Solo.

DISSERTAÇÃO APROVADA EM 17/04/2020.

Irene da Silva Coelho. Dra. UFRRJ
(Orientadora)

Marcia Reed Rouws Coelho. Dra. Embrapa Agrobiologia

Nivaldo Schultz. Dr. UFRRJ

DEDICATÓRIA

Aos meus avós Reginaldo, Zoraide (*in memorian*) e Regina.
Dedico

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer primeiramente a Deus pela oportunidade que me foi concedida.

À minha amada esposa Camila pela paciência, compreensão e, sobretudo, pela inspiração em regressar na área acadêmica.

Aos meus pais, Reginaldo e Claudia, meus avós Reginaldo, Zoraide (*in memorian*) e Regina, meu irmão Renato, e todos os familiares, por compreenderem os motivos de minha ausência.

Aos meus amigos Bruno, Fábio, Rafael, Diego, Pedro, Danilo, Luiza e Ivan que me deram muita força para seguir em frente.

Aos queridos amigos que fiz durante essa jornada: Isabel, João e Camila. O meu muito obrigado pelos momentos de alegria no laboratório e no Português. Além de momentos de descontração, gostaria de agradecer os amigos Dérique, pela experiência na condução dos experimentos, e Bruna, pelo conhecimento em bioinformática.

A todos os integrantes do LabacVet: Day, Thérèsse, Dani, Cleo, Paula, Julia, Fabíola, José, Mari e Tereza. Aos integrantes do LSP: Anderson, Rosimar, Júlio, Rafael, Ricardo e Lucas. Ao professor Wagner Dias de Souza, do Departamento de Engenharia por me ceder seu computador para as análises dos dados. E aos integrantes do Laboratório de Manejo e Conservação do Solo e da Água: Nivaldo, Luiz Carlos e Pedro. Muito obrigado pelas contribuições diretas e indiretas.

Um agradecimento especial aos meus orientadores Irene e Zonta, pelos seus ensinamentos, e sobretudo, pela confiança em mim depositada.

A Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), pelo ensino público, gratuito e de qualidade.

A CAPES, ao CNPq e a FAPERJ, agências de fomento, pelo financiamento das pesquisas realizadas e em andamento.

A CAPES pela concessão da bolsa, recurso indispensável para que fosse possível minha dedicação exclusiva na realização deste trabalho.

Muito obrigado!

RESUMO

SANT'ANNA, Gustavo Souza Lima. **Diversidade bacteriana em solos cultivados com diferentes plantas de cobertura sob sistema plantio direto e convencional em unidade de produção orgânica**. 2020. 60f. Dissertação (Mestrado em Agronomia, Ciência do Solo). Instituto de Agronomia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2020.

O Sistema Plantio Direto (SPD) tem sido adotado como alternativa ao Sistema Plantio Convencional (SPC) por promover maior conservação dos solos agrícolas. Nesse contexto, as plantas de cobertura são fundamentais na produção da palhada e na liberação de nutrientes no solo, o que influencia diretamente as populações microbianas. Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar a diversidade bacteriana de solos sob SPC e SPD com diferentes plantas de cobertura em uma unidade de produção orgânica no município de Seropédica-RJ. O experimento I foi conduzido em delineamento em blocos casualizados com 2 parcelas (SPC e SPD) com 4 repetições. Foi feita a semeadura a lanço da aveia preta em área total e atingido o ponto de corte, a aveia foi incorporada ou mantida na superfície do solo. Em seguida foi semeado o milho em todas as parcelas. As coletas de solos foram realizadas no tempo inicial, após o cultivo da aveia preta e após a colheita do milho na profundidade de 0-5 cm. O experimento II foi conduzido sequencialmente em delineamento fatorial (2 x 6) com parcelas subdivididas, com 2 parcelas de SPC e SPD, 6 subparcelas com as plantas de cobertura milheto, crotalária, feijão de porco, coquetel 1 e coquetel 2, utilizando 100 e 50% da quantidade sementes recomendadas para cada espécie, respectivamente, e plantas espontâneas, com 4 repetições. A coleta de solos foi realizada após o cultivo das plantas de cobertura na profundidade de 0-5 cm. Foi realizada a caracterização química e a extração do DNA total do solo para o sequenciamento do gene *rrs* de Bacteria. No experimento I, entre a caracterização inicial e os cultivos de milho em SPC e SPD, foi observado aumento no teor de fósforo e diminuição de carbono, aumento dos índices de alfa-diversidade e alteração na composição bacteriana, principalmente com relação ao candidato à divisão WPS-1 que teve abundância relativa aumentada e a família Micrococcaceae que apresentou queda em sua abundância relativa após a conversão para área agrícola. Após o cultivo de milho, o potássio foi maior no SPC e as famílias não classificadas da classe Spartobacteria e Chitinophagaceae foram mais abundantes no SPD. No experimento II, o cultivo de diferentes plantas de cobertura não promoveu alterações nos atributos químicos do solo. O cultivo das plantas espontâneas promoveu aumento dos índices alfa-diversidade bacteriana em relação à crotalária. Feijão de porco e os coquetéis 1 e 2 promoveram maior abundância relativa das famílias Sphingomonadaceae e Bradyrhizobiaceae, enquanto as plantas espontâneas resultaram em maior abundância relativa de bactérias não classificadas e da família Planctomycetaceae. Portanto, a conversão de área de pastagem para área de produção agrícola levou ao aumento da diversidade e alteração na estrutura da comunidade bacteriana dos solos. Não houve diferença nos índices de alfa-diversidade entre o SPC e o SPD, porém a estrutura da comunidade bacteriana foi alterada. A utilização de diferentes plantas de cobertura promoveu diferenças na estrutura da comunidade bacteriana e o cultivo das plantas espontâneas promoveu maior índice de alfa-diversidade em relação à crotalária.

Palavras-chave: Diversidade microbiana. Gene *rrs*. Sequenciamento de Nova Geração.

ABSTRACT

SANT'ANNA, Gustavo Souza Lima. **Bacterial diversity in soils cultivated with cover crops under no-tillage and conventional tillage in the organic production unit.** 2020. 60p. Dissertation (Master in Agronomy, Soil Science). Instituto de Agronomia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2020.

An alternative to the Conventional Tillage (CT) for promoting higher conservation of agricultural soils is the adoption of No-tillage (NT). In this context, cover crops are fundamental in the production of straw and release nutrients in the soil, directly influencing microbial populations. Thus, the objective of this work was to evaluate the bacterial diversity in soils under CT and NT with different cover plants in an organic production unit in the municipality of Seropédica-RJ, Brazil. The experiment was conducted in a randomized block design with two plots (CT and NT) with four replications. The black oat was sown in the total area. When the cut point was reached, the black oat was incorporated or maintained on the soil surface. Then, the corn was sown in all plots. The soil was collected in the initial time, after the black oat and after corn harvesting in a depth of 0-5 cm. Experiment II was conducted in a factorial design (2 x 6) with subdivided plots, with 2 plots of CT and NT, 6 subplots with cover plants (pearl millet, sunn hemp, jack beans, cocktail 1 and cocktail 2, using 100 and 50 % of the recommended amount for each species, respectively, and spontaneous plants), with 4 repetitions. The soil was collected after the cultivation of cover plants at a depth of 0-5 cm. Chemical characterization and extraction of total soil DNA were carried out for the sequencing of the Bacteria *rrs* gene. In experiment I, between the initial characterization and the corn crops in CT and NT, an increase in the phosphorus content and a decrease in carbon, an increase in the alpha-diversity indexes and a change in the bacterial composition was observed, mainly in relation to the candidate for division WPS-1, which had an increased relative abundance, and the Micrococcaceae family, which showed a decrease in its relative abundance after conversion to the agricultural area. After corn, potassium was higher in CT, and Spartobacteria unclassified and Chitinophagaceae were more abundant than in NT. In experiment II, the cultivation of different cover crops did not promote changes in the soil's chemical attributes. The cultivation of spontaneous plants supported a higher bacterial alpha-diversity index concerning sunn hemp. Jack beans and cocktails 1 and 2 promoted a higher relative abundance of the Sphingomonadaceae and Bradyrhizobiaceae families. At the same time, spontaneous plants resulted in a higher relative abundance of unclassified bacteria and the Planctomycetaceae family. Therefore, the conversion from pasture area to agricultural production area led to an increase in diversity and alteration in the structure of the soil bacterial community. There was no difference in the alpha-diversity indexes between CT and NT, but the structure of the bacterial community was altered. Different cover plants promoted differences in the structure of the bacterial community, and spontaneous plants promoted a higher alpha-diversity index concerning sunn hemp.

Keywords: Microbial diversity. *rrs* gene. Next-Generation Sequencing.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Croqui da área experimental do cultivo do milho sob o sistema plantio direto e convencional utilizando aveia preta (*avena strigosa*) como planta de cobertura. 11
- Figura 2.** Sistema de irrigação por gotejamento, com parcela do plantio convencional à esquerda e do plantio direto à direita. Foto tirada em 22/10/2018. Acervo pessoal. 11
- Figura 3.** Parcela do spc à direita e spd à esquerda aos 57 das. Foto tirada em 09/01/2019. Acervo pessoal. 12
- Figura 4.** Croqui da área experimental em delineamento fatorial (2 x 6) com parcelas subdivididas, com 2 parcelas de spc e spd, 6 subparcelas com as plantas de cobertura: milho (m), crotalaria (c.j.), feijão de porco (f.p.), coquetel 1 e coquetel 2, utilizando 100 e 50% da quantidade sementes recomendadas para cada espécie (c1 e c2, respectivamente) e plantas espontâneas (p.e.). 13
- Figura 5.** Linha do tempo da condução dos experimentos i e ii. 14
- Figura 6.** Representação das comparações (caracterização inicial x aveia, aveia x milho spc, aveia x milho em spd e milho spc x milho spd) através de teste t, a 5% de probabilidade. 15
- Figura 7.** Curvas de rarefação das otus com 97% de similaridade por amostra de solo cultivado com milho em sistema plantio direto e convencional em sucessão à aveia preta. 18
- Figura 8.** Índices de alfa-diversidade chao1, ace, shannon e simpson de solo cultivado com milho em sistema plantio direto e convencional em sucessão à aveia preta. 18
- Figura 9.** Filos bacterianos com abundância relativa média maior que 1% encontrados em solo cultivado com milho em sistema plantio direto e convencional em sucessão à aveia preta. 19
- Figura 10.** Classes bacterianas do filo proteobacteria encontradas em solo cultivado com milho em sistema plantio direto e convencional em sucessão à aveia preta. 19
- Figura 11.** Famílias bacterianas com abundância relativa média maior que 1% encontradas em solo cultivado com milho em sistema plantio direto e convencional em sucessão à aveia preta. 21
- Figura 12.** Análise dos componentes principais (pca) em solo após caracterização inicial (×), após aveia preta (□) e após o cultivo do milho em sistema plantio direto (●) e convencional (○). 25
- Figura 13.** Curvas de rarefação das otus com 97% de similaridade por amostra de solo cultivado com diferentes plantas de cobertura no sistema plantio direto e convencional em sucessão ao milho. 28
- Figura 14.** Índices de alfa-diversidade chao1 (a), ace (b), shannon (c) e simpson (d) de solo cultivado com diferentes plantas de cobertura no sistema plantio direto e convencional em sucessão ao milho. 29
- Figura 15.** Filos bacterianos com abundância relativa média maior que 1% encontrados em solo cultivado com diferentes plantas de cobertura em sistema plantio direto e convencional em sucessão ao milho. 30

- Figura 16.** Classes bacterianas do filo proteobacteria encontradas em solo cultivado com diferentes plantas de cobertura em sistema plantio direto e convencional em sucessão ao milho..... 32
- Figura 17.** Famílias bacterianas com abundância relativa média maior que 1% encontradas em solo cultivado com diferentes plantas de cobertura em sistema plantio direto e convencional em sucessão ao milho..... 34
- Figura 18.** Análise dos componentes principais (pca) do efeito dos sistemas plantio direto (spd) e convencional (spc) com diferentes plantas de cobertura em sucessão ao milho (● = spc e ○ = spd).....38
- Figura 19.** Análise dos componentes principais (pca) do efeito de diferentes plantas de cobertura em sistema plantio direto e convencional em sucessão ao milho (● = milho, ■ = crotalária, ◆ = feijão de porco, ▼ = coquetel 1,▲ = coquetel 2 e × = plantas espontâneas)..... 39
- Figura 20.** Eletroforese em gel de agarose 0,8% do dna total extraído das amostras de solos. (1: inicial 1, 2: inicial 2, 3: inicial 3, 4: aveia 1, 5: aveia 2, 6: aveia 3, 7: milho spc 1, 8: milho spc 2, 9: milho spd 1, 10: milho spd 2, 11: milho spd 3, 12: milho spc 3, 13: milho spd 4, 14: milho spc 4, 15: coquetel 1 spc 1, 16: milho spc 1, 17: crotalária spc 1, 18: feijão de p. Spc 1, 19: coquetel 2 spc 1, 20: plantas esp. Spc 1, 21: feijão de p. Spd 1, 22: coquetel 1 spd 1, 23: plantas esp. Spd 1, 24: coquetel 2 spd 1, 25: milho spd 1, 26: crotalária spd 1). 59
- Figura 21.** Eletroforese em gel de agarose 0,8% do dna total extraído das amostras de solos. (1: plantas esp. Spd 2, 2: coquetel 2 spd 2, 3: coquetel 1 spd 2, 4: milho spd 2, 5: feijão de p. Spd 2, 6: crotalária spd 2, 7: milho spc 2, 8: crotalária spc 2, 9: feijão de p. Spc 2, 10: coquetel 1 spc 2, 11: plantas esp. Spc 2, 12: coquetel 2 spc 2, 13: milho spd 3, 14: crotalária spd 3, 15: coquetel 2 spd 3, 16: feijão de p. Spd 3, 17: plantas esp. Spd 3, 18: coquetel 1 spd 3, 19: coquetel 2 spd 4, 20: milho spd 4, 21: plantas esp. Spd 4, 22: feijão de p. Spd 4, 23: crotalária spd 4, 24: coquetel 1 spd 4, 25: coquetel 2 spc 3, 26: feijão de p. Spc 3, 27: coquetel 1 spc 3, 28: crotalária spc 3, 29: plantas esp. Spc 3, 30: milho spc 3, 31: coquetel 1 spc 4, 32: plantas esp. Spc 4, 33:coquetel 2 spc 4, 34: milho spc 4, 35:crotalária spc 4, 36: feijão de p. Spc 4)..... 59

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Atributos químicos do solo da área experimental antes da implantação dos experimentos.....	10
Tabela 2. Valores de ph, saturação por bases (v), carbono orgânico (corg), fósforo (p) e potássio (k) do solo na caracterização inicial, após o cultivo de aveia preta e após o milho em sistema plantio direto e convencional.....	16
Tabela 3. Valores de p dos testes t dos valores de ph, saturação por bases (v), carbono orgânico (corg), fósforo (p) e potássio (k) do solo na caracterização inicial, após o cultivo de aveia preta e após o milho em sistema plantio direto e convencional.	16
Tabela 4. Valores de p dos testes t dos filos bacterianos e classes de proteobacterias em solo cultivado com milho em sistema plantio direto e convencional em sucessão à aveia preta.....	20
Tabela 5. Valores de p dos testes t das famílias bacterianas em solo cultivado com milho em sistema plantio direto e convencional em sucessão à aveia preta.....	22
Tabela 6. Valores de ph, saturação por bases (v), carbono orgânico (corg), fósforo (p) e potássio (k) do solo cultivado com diferentes plantas de cobertura no sistema plantio direto e convencional em sucessão ao milho.....	26
Tabela 7. Valores de p das análises estatísticas dos atributos químicos do solo cultivado com diferentes plantas de cobertura no sistema plantio direto e convencional em sucessão ao milho.....	27
Tabela 8. Valores de p das análises estatísticas dos índices de alfa-diversidade em solos cultivados com diferentes plantas de cobertura em sistema plantio direto e convencional em sucessão ao milho.	29
Tabela 9. Valores de p das análises estatísticas dos filos em solo cultivado com diferentes plantas de cobertura em sistema plantio direto e convencional em sucessão ao milho.....	31
Tabela 10. Valores de p das análises estatísticas das classes bacterianas em solo cultivado com diferentes plantas de cobertura em sistema plantio direto e convencional em sucessão ao milho.	33
Tabela 11. Valores de p das análises estatísticas das famílias bacterianas em solo cultivado com diferentes plantas de cobertura em sistema plantio direto e convencional em sucessão ao milho.	36
Tabela 12. Valores dos atributos químicos e quantificação do dna extraído do solo por espectrofotômetro (nano drop nd-1000 spectrophotometer - thermo fisher scientific)....	56
Tabela 13. Dados brutos de alfa-diversidade microbiana por amostra.....	59

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1. Sistema Orgânico de Produção	3
2.2. Sistema Plantio Direto	3
2.3. Plantas de Cobertura do Solo.....	4
2.4. Índices de Alfa-Diversidade e Composição Bacteriana do Solo	6
2.5. Influência do Sistema de Plantio na Diversidade Microbiana do Solo.....	8
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	10
3.1. Caracterização da Área Experimental.....	10
3.2. Delineamento Experimental e Condução dos Experimentos.....	10
3.2.1. Influência do sistema plantio direto e convencional de milho orgânico na diversidade microbiana do solo.....	10
3.2.2. Influência do sistema plantio direto e convencional com diferentes plantas de cobertura na diversidade microbiana do solo.....	12
3.3. Amostragem do Solo	13
3.4. Caracterização Química do Solo.....	14
3.5. Extração de DNA Total do Solo, Preparo da Biblioteca e Sequenciamento do Gene <i>rrs</i>	14
3.6. Análise de Bioinformática	14
3.7. Análises Estatísticas.....	15
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	16
4.1. Influência do SPD e SPC de Milho Orgânico na Diversidade Microbiana do Solo.....	16
4.1.1. Atributos químicos do solo	16
4.1.2. Diversidade bacteriana do solo	17
4.1.3. Correlação entre os atributos químicos e a diversidade bacteriana.....	23
4.2. Influência do Sistema Plantio Direto e Convencional com Diferentes Plantas de Cobertura na Diversidade Microbiana do Solo.....	26
4.2.1. Atributos químicos do solo	26
4.2.2. Diversidade bacteriana do solo	27
4.2.3. Correlação entre os atributos químicos e a diversidade bacteriana.....	35
5. CONCLUSÕES	40
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS	41
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	42
8. ANEXOS	56

1. INTRODUÇÃO

Entre os principais objetivos da agricultura orgânica estão produzir alimentos de qualidade e em quantidade suficiente, usar, na medida do possível, recursos renováveis em sistemas de produção organizados localmente, minimizar todas as formas de poluição, manter e aumentar a fertilidade dos solos a longo prazo e incentivar e aprimorar os ciclos biológicos no sistema agrícola, envolvendo microrganismos, flora e fauna do solo, plantas e animais (IFOAM, 1998).

Todavia, a agricultura orgânica tem uma ressalva: a forte dependência de perturbações sistêmicas do solo (BEACH et al., 2018). O revolvimento do solo é importante na agricultura orgânica por várias razões, como a incorporação de resíduos orgânicos para facilitar a mineralização da matéria orgânica e, portanto, tornar mais rápida a liberação de nutrientes para a cultura sucessora, para redução de pragas e patógenos transmitidos pelo solo e o controle de populações de plantas daninhas (BÀRBERI, 2006; LIEBMAN & DAVIS 2000, PEIGNÉ et al. 2007).

Práticas conservacionistas de manejo do solo, como o não revolvimento e o revolvimento em baixa profundidade, ou seja, o plantio direto, o cultivo mínimo ou o preparo superficial com escarificador ou disco, vêm sendo difundidas na agricultura com o intuito de evitar o desgaste ou a degradação do solo (PEIGNÉ et al, 2007). Porém, a implementação destas práticas na agricultura orgânica pode ser desafiadora devido a problemas com o limitado e lento fornecimento de nutrientes provenientes da mineralização da matéria orgânica quando esta não é incorporada, já que estes não podem ser complementados com fertilizantes sintéticos.

Outro fator que limita a adoção de práticas conservacionistas na agricultura orgânica é a perda de produtividade pelo aumento da pressão das plantas daninhas (PEIGNÉ et al. 2007). Métodos mecânicos, bem como rotações bem planejadas e diversificadas das culturas, são necessários para manter o razoável controle das plantas daninhas (AMOSSÉ et al. 2013). No SPD é preconizada a rotação de culturas e a manutenção das plantas de cobertura, que devido ao sombreamento e efeitos alelopáticos, reduzem ou inibem as plantas daninhas (BOND & GRUNDY, 2001). E, de acordo com as suas características, as plantas de cobertura alteram de maneira diferente os parâmetros químicos, físicos e biológicos do solo. Além disso, o consórcio de diferentes plantas de cobertura mostra-se uma alternativa ainda mais promissora que o monocultivo, pois podem promover maior exploração do solo pelas diferentes profundidades dos sistemas radiculares, produzir palhada com relação C:N mais equilibrada conciliando a lenta mineralização com o fornecimento gradual de nutrientes (AITA & GIACOMINI, 2003).

Práticas conservacionistas a longo prazo, não só são capazes de melhorar características físico-químicas do solo e promover o aumento da estabilidade dos agregados e dos teores de P e Mg, mas também estimulam o aumento da biomassa e da diversidade microbiana (JACOBS et al., 2009; DORR DE QUADROS et al., 2012; NAVARRO-NOYA et al., 2013; YIN et al., 2017). Porém, principalmente na agricultura orgânica, tendem a aumentar a pressão das plantas daninhas, levam a compactação do solo e limitam a disponibilidade de nitrogênio, especialmente durante o primeiro ano de transição. A adoção bem-sucedida do manejo conservacionista do solo ainda não está bem compreendida e, portanto, são necessárias mais pesquisas, especialmente com estudos focados nos processos de recuperação dos solos pela atividade biológica (PEIGNÉ et al, 2007; BEACH et al, 2018).

Os microrganismos do solo são extremamente importantes para manter a estrutura física do solo e na ciclagem de nutrientes. Portanto, compreender como o manejo do solo

altera este ambiente, principalmente entender suas interações com as comunidades microbianas, pode fornecer uma base para o planejamento racional e adoção de melhorias nos sistemas de produção agrícola, pois a resiliência aos efeitos de distúrbios externos ao ecossistema depende diretamente da biodiversidade e das interações entre os processos ecológicos (PERRY et al., 1989; SCHMIDT et al., 2018).

Assim, uma vez que os microrganismos são críticos para o funcionamento do agroecossistema e que sua riqueza e abundância estão relacionadas às características físico-químicas do solo, as hipóteses do presente trabalho são que: (1) a conversão de áreas não perturbadas em áreas de cultivo em sistema orgânico de produção altera a estrutura da comunidade e aumenta a diversidade bacteriana do solo; (2) a adoção de diferentes tipos de sistemas de cultivo, SPC e SPD, irá refletir em diferenças na estrutura da comunidade e na diversidade bacteriana; e (3) o uso de diferentes plantas de cobertura (em consórcio ou monocultivo) irá promover diferenças na estrutura da comunidade e na diversidade bacteriana.

Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar a diversidade e a estrutura da comunidade bacteriana do solo na conversão de pastagem em estágio inicial de degradação em área de produção de milho orgânico, e posteriormente, cultivado com diferentes plantas de cobertura, ambos em SPC e SPD.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Sistema Orgânico de Produção

A agricultura orgânica é definida pela Lei nº 10.831, de 23 de dezembro de 2003, como o sistema de produção que preconiza a otimização do uso dos recursos naturais e socioeconômicos e o respeito à integridade cultural das comunidades rurais, empregando, sempre que possível, métodos culturais, biológicos e mecânicos, em contraposição ao uso de materiais sintéticos, de organismos geneticamente modificados e radiações ionizantes (BRASIL, 2003).

O fortalecimento da agricultura orgânica se deu no período entre os anos 30 até o os anos 70 do século passado, por movimentos opostos à “agricultura convencional”, que preconizava o não uso de insumos agrícolas sintéticos, especialmente agrotóxicos e defensivos agrícolas (OLIVEIRA & ALMEIDA JÚNIOR, 2008). Estes movimentos, utilizando grande publicidade, atingiram os consumidores que passaram a se preocupar com a qualidade dos alimentos consumidos (EHLERS, 2008). O crescimento do consumo de alimentos orgânicos não está diretamente relacionado ao valor nutricional, mas aos diversos significados que lhes são atribuídos pelos consumidores, que variam desde a busca por uma alimentação mais saudável, de melhor qualidade e sabor, até a preocupação ecológica de preservar o meio ambiente (ARCHANJO et al., 2001).

Os dados sobre produção orgânica do anuário mundial de 2020, que contém informações de 186 países, mostram que o setor ocupou 71,5 milhões de hectares até o fim de 2018, que correspondem a 1,5% das áreas produtoras do mundo, e representa 2,8 milhões de produtores orgânicos. Esse mercado ultrapassou 95 bilhões de euros em 2018 liderado por EUA (40,6 bilhões de euros), Alemanha (10,9 bilhões de euros) e França (9,1 bilhões de euros). (WILLER et al., 2020). No Brasil, a regulamentação impulsionou o setor que cresceu 25% em média ao ano desde 2009 e movimentou um total de R\$ 3 bilhões em 2016 (BACOCINA, 2017).

A agricultura orgânica depende do desenvolvimento de sistemas de produção que contemplem o manejo conservacionista do solo e o aporte de nutrientes oriundos de fontes renováveis, com base em resíduos orgânicos localmente disponíveis, de origem vegetal e animal, e nesse sentido, o sistema plantio direto vem sendo apontado como um sistema capaz de se enquadrar no conceito de sustentabilidade (DAROLT, 2000; CASTRO et al., 2005).

2.2. Sistema Plantio Direto

O preparo e o revolvimento excessivo do solo no cultivo convencional, realizado através de uso intensivo de discos em grades e arados, causam a pulverização da camada arável e a compactação da camada subsuperficial. Esta prática leva ao selamento e escoamento superficial, intensificando o processo erosivo e a degradação de solos, o que compromete a sustentabilidade técnica, econômica e ambiental do sistema de produção. Além disso, o revolvimento do solo no sistema plantio convencional geralmente coincide com períodos de elevada precipitação, o que eleva o risco de erosão, principalmente pela erosão hídrica (HERNANI et al., 2002; VOLK et al., 2004; BERTOL, 2007).

Entre os sistemas de manejo do solo que vêm sendo difundidos na agricultura, com o intuito de evitar o desgaste ou a degradação do solo, está o plantio direto, que exclui as práticas de revolvimento do solo (gradagem, aração, subsolagem e escarificação, principalmente), permitindo o acúmulo de material vegetal na superfície, sobre o qual será semeada ou plantada a cultura seguinte (BERTIN et al., 2005). Hernani et al. (1999), ao avaliarem as perdas de Ca^{2+} , Mg^{2+} , K^+ e P, submetidos a diferentes sistemas de manejo do

solo para o cultivo da sucessão trigo-soja, concluíram que o plantio direto, foi, entre os estudados, o sistema mais eficaz no controle da erosão hídrica, com menores perdas de quantidades totais de nutrientes e de matéria orgânica. Costa et al. (2003), concluíram que solos cultivados sob SPD apresentaram melhores condições estruturais, evidenciadas principalmente pela redução da densidade do solo em subsuperfície e pelo aumento da estabilidade de agregados na camada superficial.

Os resíduos das plantas de cobertura também colaboram para a manutenção de maiores conteúdos de água na superfície do solo (ANDRADE, 2008). Costa et al. (2003), ao verificarem os efeitos de longo prazo (21 anos) dos SPD e SPC sobre algumas propriedades físicas do solo concluíram que o solo em plantio direto apresentou menor temperatura e menor amplitude térmica do que o preparo convencional, provavelmente devido à maior umidade volumétrica na camada superficial pela manutenção da palhada. Além disso, a utilização das plantas de cobertura vegetal promove na criação de poros, e conseqüentemente beneficia a alta troca de gases e a infiltração de água no solo, diminuindo a densidade e a resistência a penetração (CUBILLA et al. 2002).

Queiroz et al. (2010), ao avaliarem a supressão de plantas daninhas pela utilização de cobertura morta no cultivo de milho verde, observaram que a maioria das espécies de leguminosas estudadas influenciou na redução da produção da matéria seca das plantas invasoras, e esse resultado deveu-se à interferência destas, tanto pelo efeito físico, provocado pelo abafamento, com redução da luminosidade, e, possivelmente pelos efeitos alelopáticos.

2.3. Plantas de Cobertura do Solo

Em regra, qualquer espécie vegetal pode ser utilizada como cultura de cobertura do solo, porém, devem-se buscar algumas características desejadas como: sistema radicular profundo para facilitar a reciclagem dos nutrientes; elevada produção de massa seca, tanto da parte aérea como na radicular; velocidade de crescimento e cobertura do solo; agressividade, rusticidade e baixo custo de sementes; e apresentar, preferencialmente, efeitos alelopáticos e/ou supressores em relação às plantas não cultivadas (FERREIRA et al., 2000).

Entre as plantas de cobertura da família Poaceae de inverno, destaca-se a aveia preta (*Avena sativa*), por ser a espécie mais cultivada como cobertura de inverno no Sul do Brasil, devido às seguintes características: alto rendimento de matéria seca, facilidade de aquisição de sementes e de implantação, rusticidade, rapidez de formação de cobertura, decomposição lenta e ciclo que a permite anteceder as culturas de soja e milho nessa região (SILVA et al., 2006). A aveia preta é uma planta originária do Mediterrâneo, cultivada aproximadamente desde 2000 a.C. e desempenha grande papel nos sistemas de produção da região Sul do Brasil na formação de palhada e produção de grãos. Surgiu como alternativa para o Sistema Plantio Direto (SPD) na região dos cerrados e atualmente é uma opção de adubo verde para a produção de hortaliças na Região Serrana do estado do Rio de Janeiro (RIZZI, 2004; TERRA LOPES et al., 2009; SPADOTTI et al., 2012; SCHULTZ, 2020).

A temperatura ideal para o desenvolvimento da aveia encontra-se entre 20°C a 25°C, sendo que para a sua germinação a temperatura varia entre 4°C a 31°C (PENNING de VRIES et al., 1989). Spadotti et al. (2012) salientam que a cultura é de extrema importância para a sustentabilidade de diversos sistemas de produção devido à sua grande adaptabilidade e seus múltiplos propósitos, contudo, se faz necessário conhecimento da ecofisiologia desta planta para se conseguir manejar adequadamente todos os tratos culturais durante o seu ciclo produtivo.

As espécies da família Fabaceae de inverno, entre elas, a ervilhaca (*Vicia sativa*), o tremoço (*Lupinus sp.*) e os trevos (*Trifolium sp.*), se associam simbioticamente com bactérias diazotróficas, que são capazes de fixar o nitrogênio atmosférico, o que eleva a disponibilidade

desse nutriente no solo, tornando as plantas desta família benéficas para anteceder a cultura do milho (SILVA et al., 2006). No entanto, estima-se que aproximadamente 60% do N da matéria seca da ervilhaca seja liberado durante os primeiros 30 dias após seu manejo (AMADO et al., 1999; AITA et al., 2001 e AITA & GIACOMINI, 2003).

Existem ainda outras opções para cobertura de solo no inverno, tais como as espécies da família Brassicaceae, especialmente o nabo forrageiro (*Raphanus sativus*), que, embora não possuam a capacidade de fixar N, apresentam alta capacidade de extrair este nutriente de camadas mais profundas do solo, além de desenvolvimento inicial muito rápido, alto rendimento de matéria seca e ciclo curto (SILVA et al., 2006).

Muitos estudos têm sido realizados com plantas de cobertura de inverno na região Sul do Brasil, o que provavelmente se deve à maior difusão do plantio direto nessa região, entretanto, na região Sudeste, poucos trabalhos foram realizados quanto a essas características para plantas de cobertura de verão (BERTIN et al., 2005).

Se por um lado a aveia é apontada como a cultura responsável pela expansão do plantio direto na Região Sul do país, o milheto cumpriu esse papel na região Central (SALTON, 2001). O milheto (*Pennisetum glaucum*) pertence à família Poaceae e seus primeiros cultivos foram realizados no Norte e no Oeste da África (TIMBÓ, 2007). Segundo a mesma autora, essa espécie foi domesticada como cereal, no sul do Saara, há aproximadamente 4.000 a 5.000 anos e os primeiros relatos no Brasil indicam a presença do milheto no Rio Grande do Sul no ano de 1929 (MEDEIROS, 1977).

Com o crescimento das áreas de plantio direto no Cerrado, o milheto tem sido indicado como a principal planta para cobertura do solo e, para essa prática, utiliza-se alta densidade de semeadura (acima de 20 kg ha⁻¹), que resulta em rápida cobertura com menor relação C/N (PEREIRA FILHO et al., 2003). Essa característica é fundamental, pois, a elevada oferta de carbono ao sistema pode estimular a atividade microbiana, causando redução da absorção de nitrogênio pela planta cultivada em sequência, principalmente se houver coincidência entre o pico de requerimento de N pela cultura e o pico de imobilização de N pela palha na decomposição (SÁ, 1996; BALBINOT JR et al., 2007).

As plantas do gênero *Crotalaria*, pertencentes à família Fabaceae, são de origem dos trópicos e subtropicais, particularmente no hemisfério sul, com a maioria ocorrendo na África tropical (POLHILL, 1971; VAN WYK, 1991; VAN WYK & SCHUTTE, 1995). A *Crotalaria juncea* é uma espécie cujo uso como adubo verde é amplamente difundido devido ao seu rápido crescimento, à boa cobertura do solo, à alta produção de fitomassa, ao efeito alelopático e/ou supressor de invasoras, ao bom comportamento em solos arenosos e argilosos, à resistência à seca, devido ao seu sistema radicular que pode atingir até 4,6 m de profundidade, e ao ótimo rendimento de material verde, incorporando N, P₂O₅ e K₂O (SILVA et al., 1999; PEREIRA et al., 2005).

A *Canavalia ensiformis*, conhecida como feijão de porco, pertence à família Fabaceae, de origem centro-americana, bastante cultivada em regiões tropicais e subtropicais em todo o mundo como cobertura verde por ser resistente às altas temperaturas e à seca, além de sua notável rusticidade e adaptação aos solos de baixa fertilidade com a propriedade de imediatamente enriquecê-los, (CORRÊA, 1974; LÓPEZ, 2012).

Apesar das leguminosas produzirem resíduos culturais de qualidade superior, a baixa relação C:N (em torno de 20:1) eleva a sua taxa de decomposição, o que contribui na diminuição da sua eficiência na manutenção da umidade e na proteção contra a erosão. (DERPSCH et al., 1985; MONEGAT, 1991). Nas gramíneas, na época de pleno florescimento, a relação C:N está em torno de 40:1, o que torna lenta a sua mineralização, já que a decomposição é inversamente proporcional ao teor de lignina e relação C:N (MONEGAT, 1991). Portanto, se a quantidade de resíduos for excessiva pode afetar

negativamente a produção das culturas subsequentes, dificultando a emergência das plantas devido ao impedimento físico.

Uma opção é a utilização de consórcio entre leguminosas e gramíneas, em que é possível obter uma fitomassa com relação C:N intermediária àquela das espécies em culturas isoladas (AITA & GIACOMINI, 2003). Apesar da eficiência do consórcio de plantas de cobertura, este tema ainda é pouco estudado no Brasil (HEINRICHS et al., 2001; DONEDA, 2010). As vantagens esperadas do consórcio de espécies de plantas de cobertura são: maior produção de matéria seca, acúmulo de nutrientes e proteção ao solo; estímulo à fixação biológica de N pela leguminosa quando a gramínea esgota o N disponível no solo; utilização mais eficiente da água e nutrientes por sistemas radiculares com diferente distribuição; fornecimento de N sincronizado com a necessidade da cultura em sucessão e aumento na matéria orgânica do solo (GIACOMINI et al., 2003; FARIA et al., 2007; SILVA, 2007).

Em trabalho avaliando o uso de consórcio de aveia e ervilhaca, foi evidenciado que os resíduos culturais do consórcio entre aveia e ervilhaca apresentaram maior persistência no solo do que aqueles da ervilhaca isolada, e foi constatado que o consórcio liberou maiores quantidades de N do que a aveia e o nabo forrageiro solteiros (AITA E GIACOMINI, 2003).

2.4. Índices de Alfa-Diversidade e Composição Bacteriana do Solo

Durante décadas, métodos baseados no cultivo de microrganismos foram utilizados para caracterizar comunidades bacterianas associadas a plantas (HARDOIM et al., 2008; COMPANT et al., 2010; TURNER et al., 2013). Técnicas dependentes de cultivo têm a desvantagem de analisarem somente microrganismos que se multiplicam no meio de cultura, o que gera uma visão incompleta do microbioma, falta de sensibilidade para detectar pequenas mudanças na comunidade, e dificuldade na identificação dos táxons, o que limita as estimativas de diversidade da comunidade (LEBEIS, 2014). Mais recentemente, o desenvolvimento e implementação de tecnologias de sequenciamento (Sequenciamento de Nova Geração) e suas ferramentas correspondentes de bioinformática revolucionaram os métodos de estudo da ecologia microbiana, permitindo o estudo das comunidades microbianas em alta resolução (RATHORE, 2018).

A expressão “diversidade de espécies” ainda é ampla e pode ser interpretada de diversas formas, podendo englobar riqueza de espécies ou riqueza de espécies e equabilidade. Diversos estimadores de riqueza e equabilidade na comunidade estão disponíveis, uma das formas é o uso de índices de alfa-diversidade (MELO, 2008).

Os índices Chao1 e Ace são métodos não paramétricos para a estimativa de riqueza e são baseados na ocorrência de espécies raras, que aparecem em poucas amostras ou em baixa densidade (MAGURRAN, 2011). O índice de Shannon, definido como: $H = - \sum p_i \cdot \log p_i$, onde $p_i = n_i/N$, n_i = densidade de cada grupo e $N = \sum$ da densidade de todos os grupos, fornece a ideia do grau de incerteza em prever qual seria a espécie pertencente a um indivíduo da população, de modo que, quanto maior o valor de H, maior a diversidade da área em estudo, e menor dominância de alguns grupos em detrimento de outros (BEGON et al., 1996). Já o índice Simpson (D), onde $D = \sum p_i^2$ e p_i = proporção de indivíduos da comunidade que pertencem à espécie i, indica a probabilidade de dois indivíduos retirados ao acaso da comunidade pertencerem a espécies diferentes (MELO, 2008).

Os filos bacterianos mais comumente encontrados nos solos agrícolas são Proteobacteria, Actinobacteria, Firmicutes e Acidobacteria (JANSSEN, 2006; LIENHARD et al., 2014; DORR DE QUADROS et al., 2012). Frequentemente a comunidade bacteriana dos solos agrícolas, de mata e de pastagens é dominada pelo filo Proteobacteria (AISLABIE & DESLIPPE, 2013). Este filo é metabolicamente diverso, e apresentam várias classes, quatro

dos quais Alpha, Beta, Gamma e Deltaproteobacteria, são os comumente relatados em solos (AISLABIE & DESLIPPE, 2013).

Membros das classes Alpha, Beta e Gammaproteobacteria são considerados copiotróficos, ou seja, são mais prevalentes quando a disponibilidade de recursos é alta, como em solos da rizosfera (FIERER et al., 2007). Alfaproteobacteria é uma classe de bactérias heterotróficas e autotróficas com metabolismo diverso. Entre as heterotróficas estão as do gênero *Sphingomonas*, que degradam uma ampla gama de compostos tóxicos, incluindo pentaclorofenol e hidrocarbonetos poliaromáticos. Elas também foram associadas ao intemperismo de minerais. Os heterotróficos incluem os fixadores de nitrogênio pertencentes à família Rhizobiaceae, por exemplo *Rhizobium*, *Mesorhizobium* e *Bradyrhizobium*, os quais formam relações simbióticas com leguminosas. Bactérias oxidantes do metano do solo, como *Methylobacter* e *Methylophilus*, também pertencem a classe Alphaproteobacteria. Entre as autotróficas estão as oxidantes de nitrito nos gêneros *Nitrospira* e *Nitrobacter*, e fototróficas em *Rhodospirillum* e *Rhodobacter* (AISLABIE & DESLIPPE, 2013).

A classe Betaproteobacteria inclui bactérias heterotróficas, autotróficas e metanotróficas. As heterotróficas mais conhecidos no solo pertencem aos gêneros *Burkholderia*, *Alcaligenes* e *Acidovorax*. As espécies de *Burkholderia* são metabolicamente diversas e desempenham um papel importante na transformação do carbono, usando de aminoácidos e açúcares simples, até compostos aromáticos e fenólicos recalcitrantes como substratos de carbono. Membros do gênero *Burkholderia* também são relatados como fixadores de nitrogênio e promotores de crescimento em plantas (AISLABIE & DESLIPPE, 2013). Entre as heterotróficas está o gênero *Collimonas*, que produz quitinase e pode degradar hifas vivas (DE BOER et al., 2004). As espécies de *Burkholderia* e *Collimonas* também são capazes de realizar o intemperismo de minerais (UROZ et al., 2007). As autotróficas incluem as oxidantes de amônia do gênero *Nitrosospira*, as oxidantes de ferro do gênero *Thiobacillus* e as fototróficas do gênero *Rhodocyclus*. Um exemplo de bactérias metanotróficas pertencentes à classe Betaproteobacteria é o gênero *Methylomonas* (AISLABIE & DESLIPPE, 2013).

A classe Gammaproteobacteria no solo inclui bactérias heterotróficas, litotróficas e fototróficas. Entre as heterotróficas mais conhecidas estão os gêneros *Pseudomonas* e *Xanthomonas*. As espécies de *Pseudomonas* apresentam notável versatilidade nutricional. A maioria cresce em mais de 50 substratos diferentes, algumas em até mais de 100. Esses substratos incluem açúcares, aminoácidos, ácidos graxos, álcoois e hidrocarbonetos. A classe Gammaproteobacteria também inclui as fotolitotróficas *Thiocapsa* e *Chromatium*, que sob condições anaeróbicas e na presença de luz, usam o sulfeto ou enxofre elementar como doador de elétrons e dióxido de carbono como fonte de carbono (AISLABIE & DESLIPPE, 2013).

A classe Deltaproteobacteria contém principalmente bactérias redutoras de sulfato e ferro. No solo, a redutora de sulfato *Desulfovibrio* cresce anaerobicamente com fontes de carbono como lactato ou etanol, que ocorrem em solos onde o oxigênio é esgotado devido à decomposição da matéria orgânica. *Bdellovibrio*, um parasita bacteriano, também pertence a esse grupo (AISLABIE & DESLIPPE, 2013).

Bactérias Gram-positivas são abundantes em amostras de solos, e dividem-se em dois grupos filogenéticos, Actinobacteria e Firmicutes. As actinobactérias são filamentosas, apresentam ciclo de vida saprofítico e a maioria é aeróbica, apesar de alguns gêneros serem anaeróbios facultativos ou obrigatórios, como *Actinomyces* (BERNARDO, 2012). São mais abundantes em solos não perturbados (ACOSTA-MARTINEZ et al. 2008; YU et al. 2011). No solo são comumente atribuídas aos subfilos Actinobacteridae, Acidimicrobidae e Rubrobacteridae (JANSSEN, 2006). Actinobactérias isoladas do solo pertencentes ao subfilo Actinobacteridae, que incluem *Arthrobacter*, *Rhodococcus*, *Streptomyces* e *Mycobacterium*,

são heterotróficas, aeróbicas e metabolicamente diversas, e espécies de *Streptomyces* ainda são conhecidas por sua capacidade de produzir compostos antimicrobianos (AISLABIE & DESLIPPE, 2013). As Rubrobacteridae incluem os gêneros *Rubrobacter* e *Solirubrobacter*. Ambos os gêneros não são comuns comumente isoladas em solos e as do gênero *Rubrobacter* são especialmente prevalentes nos solos do deserto e podem resistir à radiação ionizante (AISLABIE & DESLIPPE, 2013; HOLMES et al. 2000).

O filo Firmicutes inclui as bactérias que formam endósporos e as bactérias do ácido láctico. Entre as formadoras de endósporos, os gêneros mais conhecidos isolados de solos estão o anaeróbico facultativo *Bacillus* e o anaeróbico *Clostridium*. O gênero *Bacillus* apresenta capacidade de degradação de diferentes fontes de carbono, incluindo polissacarídeos vegetais. Alguns são fermentativos, enquanto outros fixam nitrogênio ou realizam desnitrificação. A produção de endósporos está associada à sua sobrevivência a longo prazo no solo durante períodos secos (AISLABIE & DESLIPPE, 2013). O gênero *Clostridium* é metabolicamente diverso e pode fermentar açúcares, amido, pectina e celulose (AISLABIE & DESLIPPE, 2013). A abundância relativa de bactérias da ordem Clostridiales no solo aumenta após a adição de compostos de carbono recalcitrantes (GOLDFARB et al. 2011). As bactérias do ácido láctico (*Lactobacillus*, por exemplo) são anaeróbicas aerotolerantes frequentemente isoladas de material vegetal em decomposição (AISLABIE & DESLIPPE, 2013).

As bactérias pertencentes ao filo Acidobacteria, encontradas em diversos estudos ambientais, são componentes ecológicos significativos em diversos ecossistemas, particularmente em comunidades do solo (HUGENHOLTZ et al., 1998). Análise das seqüências do gene *rrs* indicam que este filo é altamente diversificado. Mais de 20 subgrupos diferentes ocorrem nos solos, mas os membros dos subgrupos 1, 2, 3, 4 e 6 são relatados como sendo os mais abundantes nos solos (JONES et al., 2009). Muito pouco se sabe sobre suas capacidades metabólicas devido a estarem pouco representadas nas coleções de culturas a partir de amostras de solo. Sugere-se que bactérias sejam oligotróficas e que metabolizam uma ampla variedade de fontes de carbono (WARD et al., 2009). Estas bactérias aumentam em abundância à medida em que o pH do solo diminui (LAUBER et al., 2009), e são bem adaptadas a condições de baixa disponibilidade de nutrientes, toleram flutuações na umidade do solo e são capazes de reduzir nitrato a nitrito, mas não tem capacidade de realizar desnitrificação ou fixação de nitrogênio. Bactérias relacionadas ao gênero *Acidobacterium* são consideradas as mais abundantes em solos (AISLABIE & DESLIPPE, 2013).

2.5. Influência do Sistema de Plantio na Diversidade Microbiana do Solo

O revolvimento do solo influencia vários fatores abióticos, como umidade do solo, disponibilidade de oxigênio, pH, aporte de nutrientes como nitrogênio e fósforo, qualidade dos substratos orgânicos e temperatura do solo, assim como fatores bióticos, como por exemplo, a ocorrência de organismos do solo, como minhocas, que por sua vez podem influenciar as comunidades microbianas e os serviços ecossistêmicos que eles fornecem (SIX et al., 1999; YOUNG & RITZ, 2000; BUSARI et al., 2015; DEGRUNE et al., 2017). A longo prazo, o revolvimento excessivo no SPC tende a promover uma série de impactos nas comunidades bacterianas do solo (DORR DE QUADROS et al., 2012; LIENHARD et al., 2014; YIN et al., 2017).

Bactérias isoladas de solos de SPC se mostraram mais tolerantes a estresses ambientais, como alta temperatura e salinidade, indicando que estavam adaptadas às condições estressantes desses solos (DERPSCH et al., 1991; HUNGRIA E VARGAS, 2000; HUNGRIA et al., 2001). Bactérias oligotróficas (adaptadas a ambientes com baixa disponibilidade de nutrientes) como Gaiellaceae e as pertencentes ao filo Gemmatimonadetes

foram mais abundantes no SPC, enquanto famílias de bactérias consideradas copiotróficas (adaptadas a ambientes com abundância de nutrientes), como Oxalobacteriaceae, Pseudomonadaceae e Cytophagaceae, foram mais abundantes no SPD (YIN et al., 2017).

Sistemas de produção conservacionistas como o SPD, não só melhoram características físico-químicas do solo, como promovem o aumento da estabilidade dos agregados, maiores concentrações do carbono orgânico, P, Mg e No, mas também estimulam o aumento da biomassa e da diversidade microbiana (JACOBS et al., 2009; DORR DE QUADROS et al., 2012; NAVARRO-NOYA et al., 2013; YIN et al., 2017). Além disso, a adoção da rotação de culturas, que é uma das premissas do SPD, afeta diretamente a diversidade microbiana do solo, podendo ser superior a 3% utilizando-se o índice Shannon de diversidade (VENTER et al., 2016).

Os microrganismos são extremamente importantes para manter a estrutura física e muitas funções do solo, no entanto, pouco se sabe sobre a influência das plantas de cobertura na composição da comunidade microbiana do solo, bem como os serviços que estas prestam nos agroecossistemas (BENDER et al., 2016). Porém sabe-se que o carbono orgânico proveniente da deposição da palhada na superfície e das raízes das plantas de cobertura afetam a população, a atividade e a biomassa microbiana do solo (TIAN et al., 2011; NAIR & NGOUAJIO, 2012; SOUZA et al., 2014). Contudo, são necessários mais trabalhos para investigar a diferença entre espécies de plantas de cobertura, especialmente entre gramíneas e leguminosas, que são diferentes em muitos aspectos, como por exemplo, arquitetura do sistema radicular, tipos de exsudatos, relação C/N e aquisição de nutrientes. Estas diferenças certamente podem levar às diferenças na composição e função da comunidade microbiana da rizosfera (ZHOU et al., 2017).

Para o entendimento da relação entre plantas de cobertura e microrganismos, geralmente o número de plantas de cobertura nos estudos são limitados, o que se torna um entrave na elaboração de estratégias para o melhor manejo do solo. Essa limitação dificulta a determinação se os efeitos observados são generalizáveis entre as espécies de plantas ou se este é realmente específico da espécie. Este último é uma expectativa baseada em evidências de que as influências nas comunidades microbianas do solo são frequentemente específicas de cada espécie de plantas. Plantas de cobertura específicas promoveriam a abundância de grupos específicos de microrganismos e, portanto, poderiam ser usadas para direcionar composição da comunidade microbiana para a promoção de maior qualidade do solo (FINNEY et al., 2017).

Essa complexidade na interação de fatores dificulta a análise da estrutura da comunidade microbiana devido à incapacidade de controlar muitos dos fatores que a influenciam (BUYER et al., 2010). Portanto, compreender como o manejo altera o ambiente do solo e entender suas interações com comunidades microbianas podem fornecer uma base para o planejamento racional e adoção de melhorias nos sistemas de produção agrícola, pois a resiliência aos efeitos de distúrbios externos ao ecossistema depende diretamente da biodiversidade e das interações entre os processos ecológicos (PERRY et al., 1989; SCHMIDT et al., 2018). E por isso, no solo, a redução da diversidade microbiana pode ser um importante indicador da perda de resiliência e, conseqüentemente, da qualidade do solo (ZILLI et al., 2003).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Caracterização da Área Experimental

Os experimentos foram conduzidos em uma unidade de produção orgânica (Sítio do Sol), filiada a ABIO (Associação de Agricultores Biológicos do Estado do Rio de Janeiro) e participante da associação de produtores SerOrgânico, situado nas coordenadas 22° 49' 19,79" S e 43° 44' 16,43" W, Reta dos 800, Piranema, zona rural do município de Seropédica-RJ. O solo da área foi classificado como Argissolo Amarelo.

O clima da região, segundo a classificação de Köppen é do tipo Aw ou Tropical do Brasil Central (NIMER, 1977), com chuvas concentradas no período de novembro a março, precipitação média anual de 1.213 mm e temperatura média anual de 24,5 °C (CRUZ, 2005). Para a análise química inicial (abril de 2018) foram coletadas 15 amostras na área total, na camada de 0-20 cm de profundidade. O preparo e as análises foram realizadas segundo a metodologia descrita por Silva (2009). Os resultados estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1. Atributos químicos do solo da área experimental antes da implantação dos experimentos.

Prof.	pH	Ca	Mg	Al	Na	H+Al	S	T	V	K	P
cm	H ₂ O	----- cmolc dm ³ -----					%	mg dm ³			
0-20	5,40	1,27	1,28	0,25	0,37	3,52	2,93	6,45	46	5	2

Ca, Mg e Al: extração com solução de KCl; P, K, e Na: extraídos com solução Mehlich 1; H+Al: avaliados através de solução de acetato de cálcio 0,025 mol L⁻¹.

Em maio de 2018, de posse dos resultados da análise de solo, foi realizada a calagem em área total aplicando-se 2,5 Mg ha⁻¹ de calcário dolomítico com poder relativo de neutralização total de 85,6% (PRNT = 85,6%, CaO = 40%, MgO = 10%). Após a aplicação foi realizada a incorporação com 1 aração e 2 gradagens a 20 cm de profundidade, utilizando arado de 3 discos para a aração e grade niveladora, acoplados a um trator de 65 cv.

3.2. Delineamento Experimental e Condução dos Experimentos

3.2.1. Influência do sistema plantio direto e convencional de milho orgânico na diversidade microbiana do solo

O experimento foi conduzido no período de julho de 2018 a março de 2019. A área experimental total foi de 1350 m² (50 x 27 m), dividida em parcelas de 24 x 6 m, separadas por uma faixa de 1 m para facilitar a operacionalidade (Figura 1). O delineamento experimental foi em blocos casualizados, sendo os tratamentos o Sistema de Plantio Convencional (SPC) e Sistema Plantio Direto (SPD), com 4 repetições (Figura 1).

Após a delimitação da área experimental foi realizada a adubação fosfatada (dose equivalente a 100 kg de P₂O₅ ha⁻¹, na forma de termofosfato com 18% de P₂O₅ total) e a semeadura da aveia preta a lanço, com distribuição de 120 kg ha⁻¹ de sementes comerciais cv. EMBRAPA 139, com 98% de pureza e 80% de germinação. Após a distribuição do fosfato natural e as sementes de aveia foi realizada a incorporação com enxada rotativa acoplada em microtrator tobata.

O corte da aveia preta foi realizado aos 87 dias após a semeadura (DAS) utilizando roçadeira costal em área total. Após a roçada a palhada a foi incorporada com microtrator no SPC e mantida na superfície do solo no SPD, de acordo com o esquema da Figura 1.

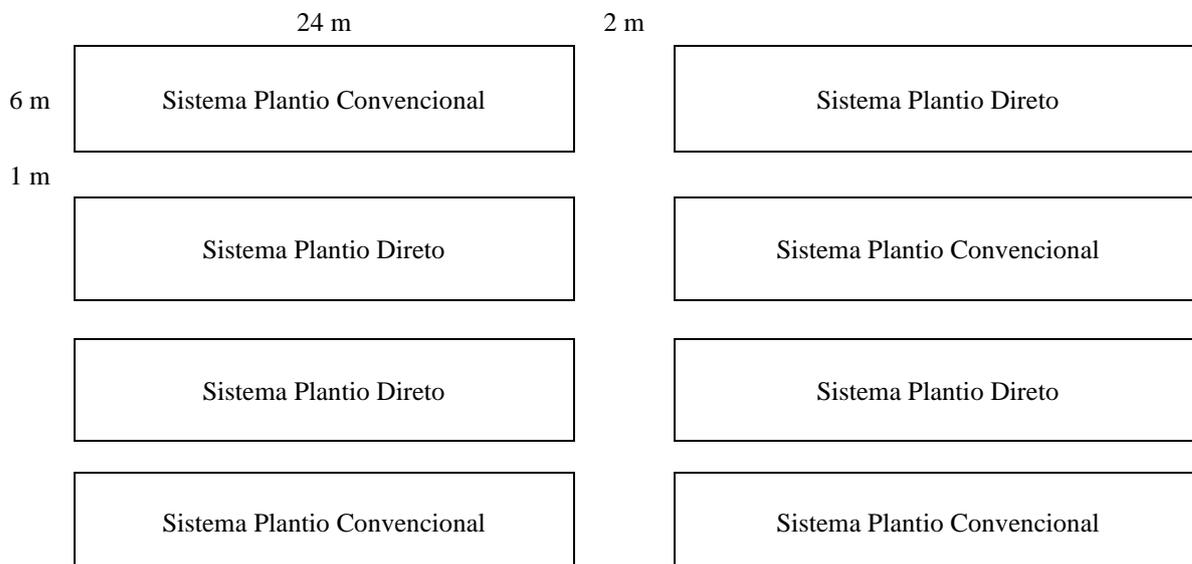


Figura 1. Croqui da área experimental do cultivo do milho sob o sistema plantio direto e convencional utilizando aveia preta (*Avena strigosa*) como planta de cobertura.

Após a roçada e incorporação da aveia foi instalado um sistema de irrigação por gotejamento com acionamento automático desenvolvido por Medici et al. (2010), com adaptações com válvulas solenoides e acionamento em série. O espaçamento entre as mangueiras gotejadoras foi de 1,0 m (entre linhas) e o espaçamento entre plantas de 0,50 m (Figura 2).



Figura 2. Sistema de irrigação por gotejamento, com parcela do plantio convencional à esquerda e do plantio direto à direita. Foto tirada em 22/10/2018. Acervo pessoal.

Seis dias após o corte e incorporação da aveia preta foi semeado o milho (*Zea mays*) Cultivar AG1051 *Seiminis* em todas as parcelas e aplicados 366 kg ha⁻¹ de termofosfato e 66 kg ha⁻¹ de sulfato de potássio, além de 533 kg ha⁻¹ de Bokashi. Devido a a baixa taxa de germinação das sementes foi feita uma ressemeadura aos 22 dias após a primeira. Durante a condução da cultura, foram seguidas as premissas do sistema orgânico de produção e, para o controle e a prevenção de lagartas, foram utilizados o inseticida biológico à base de *Bacillus thuringiensis* e o óleo de Neem (*Azadirachta indica*), respectivamente (Figura 3).

Com 77 dias após a semeadura (DAS) da cultura do milho, foi colhida a primeira parcela de plantio convencional e aos 85 DAS foram colhidos o restante das parcelas de mesmo tratamento. Aos 106 DAS foram colhidas as parcelas do SPD. Após a colheita do milho, os restos culturais da cultura foram incorporados no SPC e mantidos na superfície do solo no SPD.



Figura 3. Parcela do SPC à direita e SPD à esquerda aos 57 DAS. Foto tirada em 09/01/2019. Acervo pessoal.

3.2.2. Influência do sistema plantio direto e convencional com diferentes plantas de cobertura na diversidade microbiana do solo

Nesta fase, após a colheita do milho o experimento foi conduzido no período de março a junho de 2019. O delineamento experimental foi fatorial (2 x 6) com parcelas subdivididas, com 2 tratamentos constituindo as parcelas (SPD e SPC) e 6 tratamentos com diferentes plantas de coberturas de solo, constituindo as subparcelas. As plantas de cobertura foram milheto (*Pennisetum glaucum*), crotalária (*Crotalaria juncea*), feijão de porco (*Canavalia ensiformis*), coquetel 1, utilizando 100% da quantidade sementes recomendadas para cada espécie e coquetel 2, utilizando 50% da quantidade sementes recomendadas para cada espécie e um tratamento com plantas espontâneas, com 4 repetições (Figura 4).

O tamanho das parcelas foi de 24 x 6 m e das subparcelas de 6 x 4 m. Os blocos foram separados por uma faixa de 1,0 m para facilitar a operacionalidade, mantendo a organização inicial dos blocos da área experimental (Figura 4).

As plantas de cobertura foram semeadas em março de 2019, de acordo com o esquema da Figura 4. Aos 94 dias após a semeadura quando as plantas de cobertura atingiram o ponto

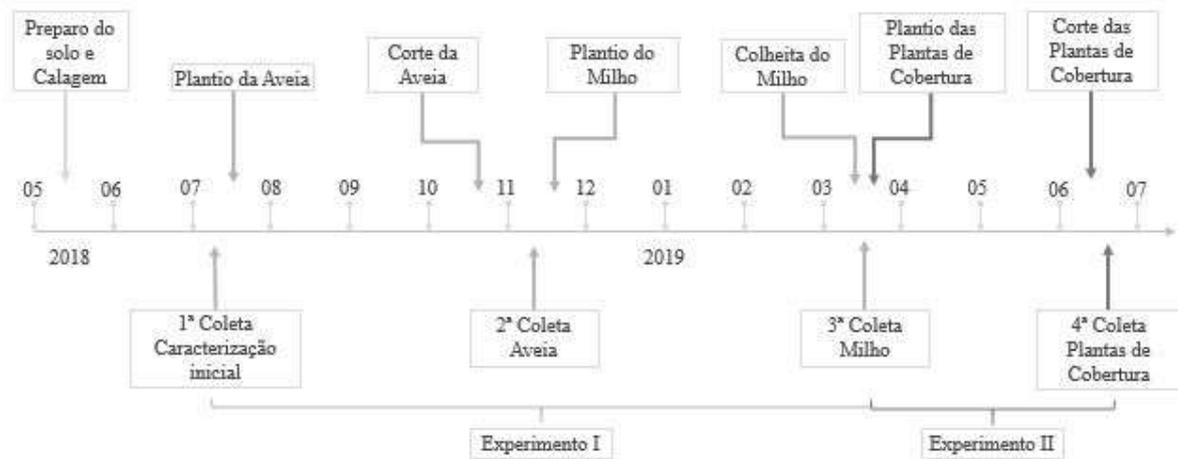


Figura 5. Linha do tempo da condução dos experimentos I e II.

3.4. Caracterização Química do Solo

As análises foram realizadas segundo Silva (2009). Para a determinação dos teores trocáveis de nutrientes, as amostras foram analisadas da seguinte forma: Ca, Mg e Al foram extraídos com solução de KCl e quantificados via titulação. P, K e Na foram extraídos com solução Mehlich 1 e o P quantificado por colorimetria, enquanto K e Na, por fotometria de emissão de chamas. O H+Al foi avaliado através de solução de acetato de cálcio 0,025 mol.L⁻¹. Foi realizada a determinação do pH do solo em água, além do cálculo da CTC (T) e saturação por bases (V) conforme descrito por Silva (2009).

O carbono orgânico total (Corg) foi determinado por oxidação a quente, com dicromato de potássio e titulação com sulfato ferroso amoniacal, segundo Yeomans & Bremner (1988).

3.5. Extração de DNA Total do Solo, Preparo da Biblioteca e Sequenciamento do Gene *rrs*

A extração do DNA total das amostras de solo foi realizada utilizando o kit DNA PowerSoil (MO Bio Laboratories INC), segundo protocolo fornecido pelo fabricante. Após a extração, as amostras foram armazenadas a -20° C, e a quantidade e a qualidade do DNA obtido foram avaliadas por espectrofotômetro (Nano Drop ND-1000 Spectrophotometer-Thermo Fisher Scientific). A integridade do DNA total foi avaliada por eletroforese em gel de agarose 0,8% (ADKINS et al., 2007).

O preparo de biblioteca dos amplicons da região variável V3-V4 do gene *rrs* (que codifica o rRNA 16S) gerados com a amplificação com os *primers* Bakt_341F (CCTACGGGNGGCWGCAG) e Bakt_805R (GACTACHVGGGTATCTAATCC) e o sequenciamento em um sistema *paired-end* 2x250 na plataforma MiSeq (Illumina, EUA) foram realizados na Macrogen, Inc. (dna.macrogen.com).

3.6. Análise de Bioinformática

Os dados brutos do sequenciamento foram processados por meio do software Mothur v.1.43.0 (SCHLOSS et al., 2009). As sequências forward e reverse foram emparelhadas em contigs. Foram removidas as sequências menores de 440 pares de bases (pb) ou superiores a 470 pb, assim como as que continham ambiguidade ou mais que 8 homopolímeros. Então, as sequências foram alinhadas usando uma base de dados de Silva como referência (QUAST et

al., 2013) e o alinhamento resultante foi submetido aos comandos `screen.seqs` e `filter.seqs` para remover sequências mal alinhadas e colunas não informativas no alinhamento. Em seguida, as sequências foram pré-agrupadas usando o comando `pre.cluster` com o parâmetro `diffs=4`. As sequências quiméricas foram detectadas e removidas usando os comandos `chimera.vsearch` e `remove.seqs`, respectivamente. As sequências resultantes foram classificadas de acordo com a versão 16 do Projeto de Banco de Dados Ribossomal (COLE et al., 2009) usando o comando `classify.seqs` com um limiar de confiança de 80. Sequências identificadas como sendo de cloroplastos, mitocôndrias, eucariotos ou Archaea e aquelas identificadas como reino desconhecido também foram removidas. Após a normalização das amostras para o mesmo número de sequências (foi considerado como base a amostra com menor número de sequência), essas foram agrupadas em unidades taxonômicas operacionais (OTUs) através do comando `cluster.split`, com um limiar de dissimilaridade de 3%. As OTUs raras foram retiradas através do comando `split.abund` e finalmente, foi calculado a distribuição das OTUs, as curvas de rarefação e os índices de riqueza de espécies Chao1 (CHAO, 1984), de diversidade de Ace (CHAO, 1987), Shannon (SHANNON, 1948) e Simpson (SIMPSON, 1949). A composição bacteriana foi avaliada utilizando resumo taxonômico de cada amostra.

3.7. Análises Estatísticas

Os resultados do primeiro experimento foram submetidos ao teste de normalidade Shapiro-Wilk. Não atendendo à premissa de normalidade, foram submetidos a transformação Box-Cox, usando o software R. Em seguida, foi realizado o teste t usando o Microsoft Excel™.

As comparações foram feitas entre a caracterização inicial com a aveia, aveia com milho SPC, aveia com milho em SPD e entre os cultivos de milho em SPC e SPD (Figura 6).

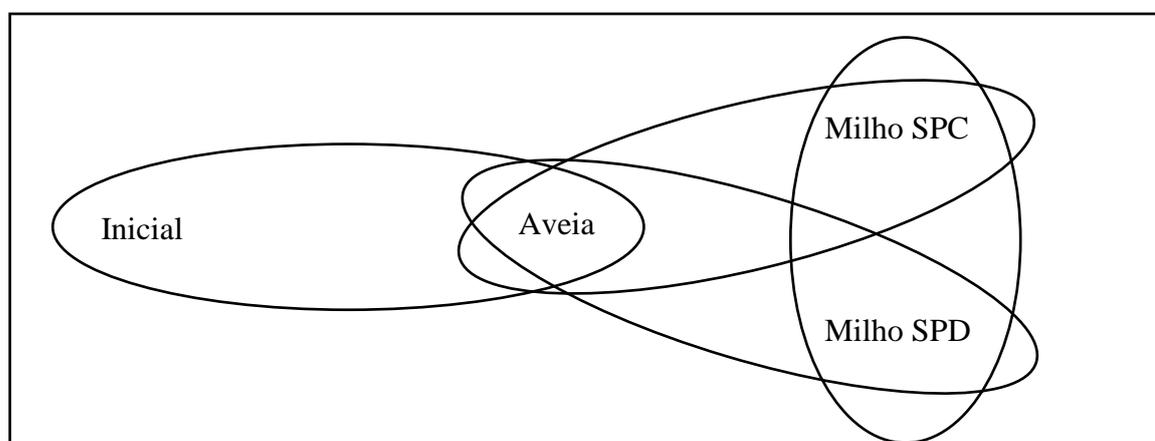


Figura 6. Representação das comparações (caracterização inicial x aveia, aveia x milho SPC, aveia x milho em SPD e milho SPC x milho SPD) através de teste t, a 5% de probabilidade.

No segundo experimento, as variáveis foram analisadas considerando-se dois fatores, sistemas de plantio (SPD e SPC) e plantas de cobertura (milheto, crotalária, feijão de porco, coquetel 1, coquetel 2 e plantas espontâneas), usando o procedimento estatístico *two-way* ANOVA. O nível de significância dos testes foi $p < 0,05$ utilizando o software PAST versão 4.03. A Análise dos Componentes Principais (PCA) foi feita no software PAST versão 4.03.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Influência do SPD e SPC de Milho Orgânico na Diversidade Microbiana do Solo

4.1.1. Atributos químicos do solo

O revolvimento inicial alterou fisicamente o ambiente, promovendo aeração do solo. Além disso, foi aplicado calcário, com o objetivo de proporcionar maior suprimento de cálcio e de magnésio às plantas e eliminar os efeitos nocivos da acidez do solo, destacando-se a toxidez do alumínio (Al^{+3}) (FREIRE et al., 2013).

Entre a caracterização inicial e o cultivo de aveia, houve aumento nos valores de saturação por bases (V), de 54,3 para 81,6%, e no teor fósforo (P), de 2,3 para 40,8 $mg\ L^{-1}$, (Tabela 2 e Tabela 3). A baixa saturação por bases na caracterização inicial pode ser devida ao histórico da área que, possuía pastagem com sinais de degradação antes do estabelecimento do experimento. Paralelamente, apesar da caracterização ter sido realizada poucos dias após a calagem, é possível que no momento da coleta o calcário ainda não tenha reagido completamente no solo, já que foi observado que as amostras da caracterização inicial foram as únicas que apresentaram teores de Al^{+3} acima de 0,0 (Anexo A).

Tabela 2. Valores de pH, saturação por bases (V), carbono orgânico (Corg), fósforo (P) e potássio (K) do solo na caracterização inicial, após o cultivo de aveia preta e após o milho em Sistema Plantio Direto e Convencional.

	pH _{água} 1:2,5	V ----- % -----	Corg -----	P -----	K -----
				mg.L ⁻¹	
Inicial	5,6±0,30	52,2±11,0	2,4±0,16	2,3±0,5	54,6±0,0
Pós-Aveia	6,0±0,32	80,2±14,5	1,8±0,25	40,8±13,54	64,4±7,1
Milho SPC	5,8±0,22	83,6±7,2	1,3±0,38	54,2±31,55	105,4±18,8
Milho SPD	5,9±0,05	82,5±6,8	1,6±0,05	53,6±19,08	64,7±16,2

Dados apresentados como média ± desvio padrão.

Tabela 3. Valores de p dos testes t dos valores de pH, saturação por bases (V), carbono orgânico (Corg), fósforo (P) e potássio (K) do solo na caracterização inicial, após o cultivo de aveia preta e após o milho em Sistema Plantio Direto e Convencional.

	pH _{água}	V	Corg	P	K
Inicial x Aveia	0,1970	0,0554	0,0346	0,0004	0,1376
Aveia x Milho SPC	0,2938	0,702	0,0566	0,5283	0,0168
Aveia x Milho SPD	0,7749	0,7877	0,3456	0,3976	0,9730
Milho SPC x Milho SPD	0,4030	0,8419	0,2256	0,9775	0,0168

O maior teor de fósforo foi detectado após o cultivo da aveia preta porque a primeira aplicação de termofosfato foi realizada no momento da semeadura da aveia, após a realização da primeira coleta amostral de solo.

Foram encontrados maiores teores de carbono orgânico (Corg) na caracterização inicial (2,4%) em relação a aveia (1,8%). Após o revolvimento do solo de pastagem na implantação do experimento e, posteriormente, na incorporação da palhada proveniente da cultura da aveia na parcela em SPC, houve condições mais favoráveis para a mineralização da matéria orgânica do solo. O revolvimento do solo, aliado à calagem, alterou a suscetibilidade à lixiviação e decomposição microbiana, pois um ambiente de pH mais favorável criado pela calagem altera a abundância, atividade e/ou a composição da comunidade microbiana do solo

(GROVER et al., 2017). O teor de Corg também foi maior no SPD em relação ao SPC, porém sem diferença estatística entre os tratamentos ($p=0,2256$). Sugere-se que este resultado possa ser devido ao aporte de palhada na superfície do solo no SPD, enquanto no SPC essa palhada é distribuída ao longo da camada arável do solo. Em um estudo comparando SPD e SPC, também foi observado maior teor de carbono orgânico no SPD em relação ao SPC, quando levado em consideração apenas a camada de 0 a 5 cm de solo (COSTA et al., 2003).

Houve aumento no teor de potássio no solo entre o cultivo de aveia (média de $64,4 \text{ mg.L}^{-1}$) e o cultivo de milho em SPC (média de $105,4 \text{ mg.L}^{-1}$). O teor de potássio foi maior no milho em SPC (média de $105,4 \text{ mg.L}^{-1}$) em comparação com o milho em SPD (média de $64,7 \text{ mg.L}^{-1}$). Como a mineralização da MO é mais rápida no SPC, há maior liberação deste nutriente no solo, pois este é um elemento que não está associado a nenhum componente estrutural do tecido vegetal, e por isso a taxa média de liberação pode ser até 4,5 vezes maior do que a do P, por exemplo (GIACOMINI et al., 2003; MARSCHNER, 1995).

4.1.2. Diversidade bacteriana do solo

Após a extração do DNA realizada diretamente a partir das amostras de solo, o rendimento da extração e o grau de pureza do DNA foram analisados, pois interferem diretamente no sequenciamento, e devem ser avaliados, para a maior confiabilidade dos resultados (OLEXOVÁ et al, 2004). A qualidade do DNA estimada através dos valores da razão 260/280, se mantiveram em uma média aceitável (Anexo A), próxima aos valores considerados de referência, na faixa entre 1,8 a 2,0, indicando a qualidade e a pureza do DNA extraído (KASEM et al., 2008). A integridade do DNA foi avaliada pela eletroforese em gel de agarose, e a presença de bandas únicas em todas as amostras (Anexo B) indica um DNA íntegro. Assim, observamos que o DNA extraído diretamente das amostras dos solos apresentaram quantidade, qualidade e integridade adequados para a próxima etapa, amplificação da região variável V3-V4 do gene *rrs* e sequenciamento na plataforma Illumina.

Após o alinhamento e filtragem das sequências, um total de 564.205 sequências foram obtidas das 14 amostras de solo analisadas. Posteriormente, cada amostra foi padronizada com 34.478 sequências, baseada na amostra com o menor número de sequências. Estas sequências foram classificadas em 13.642 OTUs (Unidades Taxonômicas Operacionais) com 97% de similaridade. As curvas de rarefação das OTUs apresentaram tendência em atingir o platô com o número total de sequências analisadas (Figura 7), o que indica que o esforço amostral foi suficiente para cobrir a diversidade existente, ou seja, o aumento desse valor teria um impacto mínimo no número de OTUs.

Na caracterização inicial do solo, os menores valores dos índices de Chao1 e Ace indicam uma menor riqueza de espécies, e os menores valores do índice Shannon e os altos valores do índice Simpson indicam uma maior dominância entre as espécies, em relação ao solo após o cultivo de aveia e após o plantio de milho sob SPD e SPC (Figura 8).

O filo Proteobacteria foi o mais abundante em todas os tratamentos, variando de 31,2% no solo caracterizado inicialmente à 34,9% no solo após cultivo do milho no SPC (Figura 9).

Além do Filo Proteobacteria, os Filos Actinobacteria (média de 19,4%), Acidobacteria (média de 11,8%) e Firmicutes (média de 11,8%) foram abundantes em todos os tratamentos. Nas amostras analisadas as classes mais abundantes do filo Proteobacteria foram Alpha (média de 19,8%), Beta (média de 6,9%), Gamma (média de 3,5%) e Deltaproteobacteria (média de 2,8%), enquanto que as classes não classificadas representaram abundância relativa média de apenas 0,2% (Figura 10).

As famílias bacterianas com abundância média superior a 1% foram representadas na Figura 11. As mais abundantes são Sphingomonadaceae (classe Alphaproteobacteria, média

de 7,1%), Bacillaceae 1 (filo Firmicutes, média de 5,7%), famílias não classificadas da classe Spartobacteria (filo Verrucomicrobia, média de 4,8%) e da ordem Rhizobiales (filo Proteobacteria, média de 4,5%) e Chitinophagaceae (filo Bacteroidetes, média de 4,4%). Yin et al. (2017) também encontraram Sphingomonadaceae e Chitinophagaceae entre as famílias mais abundantes em solos de plantio direto e plantio convencional na cultura do trigo.

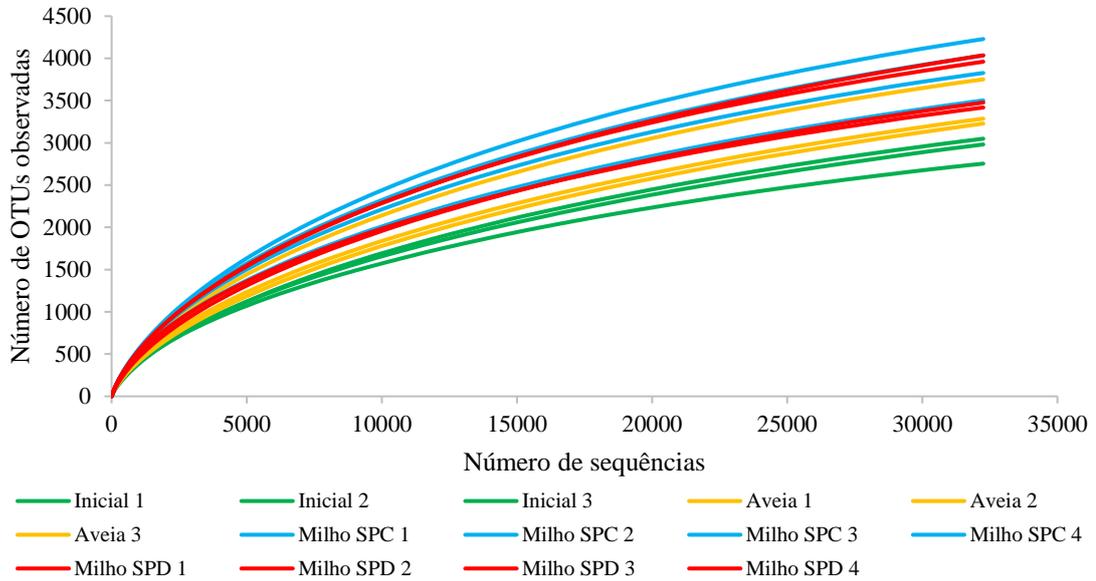


Figura 7. Curvas de rarefação das OTUs com 97% de similaridade por amostra de solo cultivado com milho em sistema plantio direto e convencional em sucessão à aveia preta.

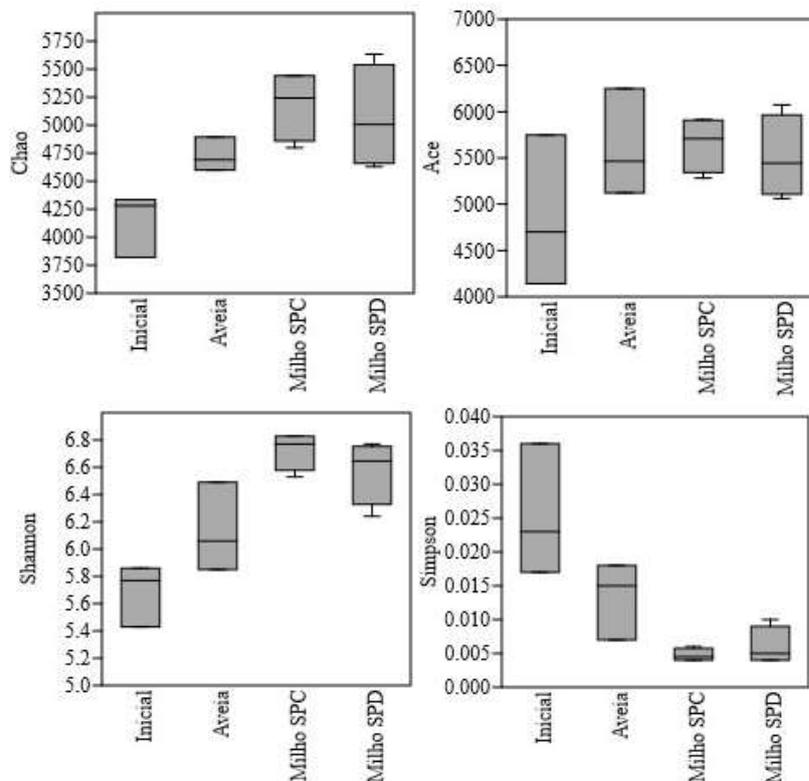


Figura 8. Índices de alfa-diversidade Chao1, Ace, Shannon e Simpson de solo cultivado com milho em Sistema Plantio Direto e Convencional em sucessão à aveia preta.

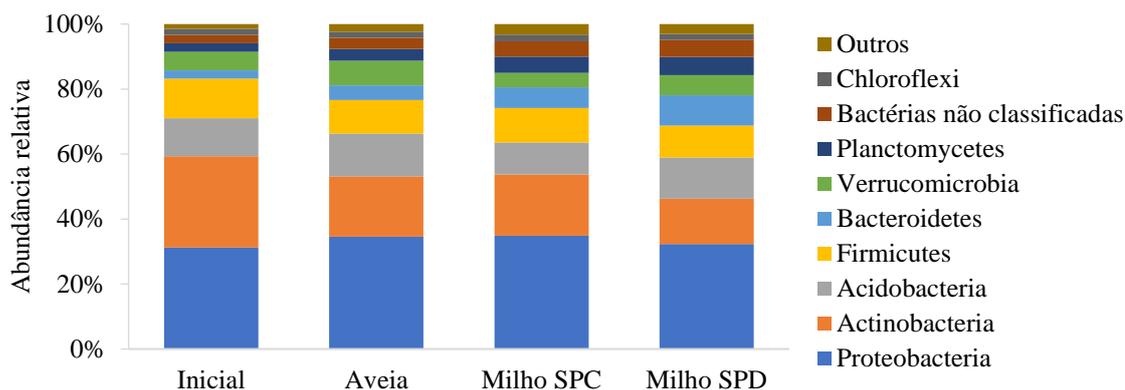


Figura 9. Filos bacterianos com abundância relativa média maior que 1% encontrados em solo cultivado com milho em Sistema Plantio Direto e Convencional em sucessão à aveia preta.

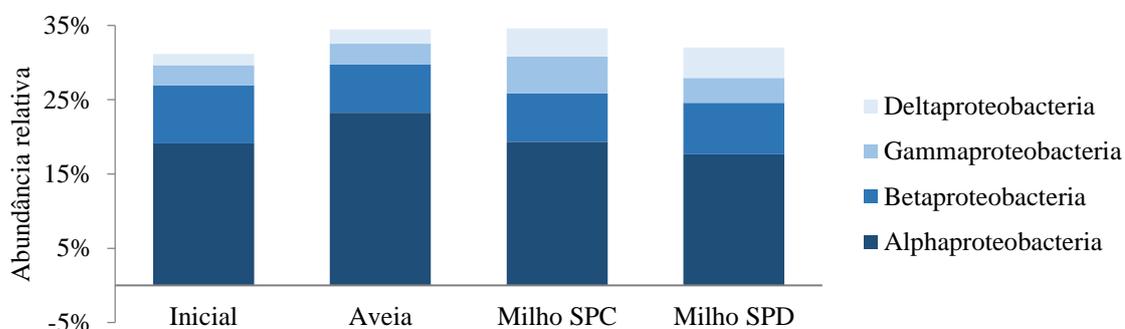


Figura 10. Classes bacterianas do filo Proteobacteria encontradas em solo cultivado com milho em Sistema Plantio Direto e Convencional em sucessão à aveia preta.

Entre os filos, classes e famílias com mais de 1% de abundância, houve aumento da abundância relativa no Planctomycetes após o cultivo de aveia (3,6%) em relação a caracterização inicial (2,6%) (Figura 9 e Tabela 4). Planctomycetes são organismos que se dividem por brotação e não possuem peptidoglicano em suas paredes celulares. Membros desses filos foram descritos como anaeróbios que realizam oxidação de amônio (anammox) no solo (HUMBERT et al. 2010). As bactérias pertencentes ao superfilo Planctomycetes-Verrucomicrobia-Chlamydia chamam atenção no ponto de vista evolucionário, porque eles têm uma variedade de características raras em bactérias, e em comum com os domínios Archaea e Eukarya (DEVOS & REYNAUD 2010).

Foi observada também maior abundância relativa nos solos após milho cultivado em SPC (5,0%) e SPD (5,7%) em relação ao solo após o cultivo da aveia (3,6%). As bactérias não classificadas do candidato à divisão WPS-1 (Planctomycetes) apresentaram maior abundância relativa nos solos após o cultivo da aveia preta (1,6%) em relação aos solos caracterizados inicialmente (1,0%) e aumento da abundância relativa entre o cultivo de aveia e os cultivos de milho no SPC e no SPD (de 1,6% para 2,4% e 3,2%, respectivamente) (Figura 11 e Tabela 5).

Estas bactérias identificadas como candidato à divisão WPS-1 não foram inseridas em nenhuma das divisões bacterianas descritas e foram propostas como representantes de uma nova linhagem bacteriana, nomeada de Solo Poluído de Wittenberg (do inglês “*Wittenberg polluted soil*”) (NOGALES et al., 2001). Os membros da linhagem WPS-1, que eram conhecidos apenas dos genes *rrs* do solo, foram posteriormente sugeridos para inclusão no filo Planctomycetes (DAVIS et al., 2005; FUKUNAGA et al., 2009). Os candidatos à divisão

WPS-1 foram associados a solos com maiores valores de pH e tendem a ser mais abundantes com a diminuição da umidade do solo, agregados estáveis à água, macroporosidade, além de menores teores de carbono orgânico, CTC e disponibilidade de N e K (SÁNCHEZ-MARAÑÓN et al., 2017).

Tabela 4. Valores de p dos testes t dos filos bacterianos e classes de Proteobacterias em solo cultivado com milho em Sistema Plantio Direto e Convencional em sucessão à aveia preta.

	Inicial x Aveia	Aveia x Milho SPC	Aveia x Milho SPD	Milho SPC x Milho SPD
Proteobacteria	0,5584	0,9338	0,5850	0,2817
Alphaproteobacteria	0,3749	0,3082	0,1688	0,5078
Betaproteobacteria	0,3181	0,9121	0,5148	0,4677
Gammaproteobacteria	0,9215	0,0210	0,3302	0,0177
Deltaproteobacteria	0,1622	0,0182	0,0017	0,5565
Actinobacteria	0,1543	0,9642	0,4153	0,1330
Acidobacteria	0,2522	0,1421	0,7583	0,1374
Firmicutes	0,7290	0,8756	0,8505	0,6941
Bacteroidetes	0,2405	0,2548	0,0528	0,1185
Verrucomicrobia	0,2774	0,0410	0,2981	0,0631
Planctomycetes	0,0021	0,0104	0,0108	0,2762
Bactérias não classificadas	0,2090	0,1646	0,1281	0,6168
Chloroflexi	0,7837	0,4204	0,6718	0,7061

Já a família Micrococcaceae (Actinobacteria) apresentou maior abundância relativa nos solos caracterizados inicialmente (13,8%) em relação aos solos após o cultivo da aveia preta (3,3%) (Figura 11 e Tabela 5). O decréscimo da população dessa família foi o responsável pela diminuição da porcentagem do filo Actinobacteria entre a caracterização inicial e a aveia (Figura 9). O gênero *Arthrobacter* da família Micrococcaceae teve a sua abundância relativa reduzida de 12,2% na caracterização inicial, para 2,9% na aveia e 0,1% nos cultivos de milho em SPC e SPD (Dados não apresentados). As espécies de *Arthrobacter* estão entre as bactérias de solo mais comuns. Elas são altamente resistentes à dessecação e carência nutricional, apesar do fato de não formarem esporos ou outras células de dormência. As artrobactérias correspondem a um grupo heterogêneo que tem considerável versatilidade nutricional, e foram isoladas linhagens com capacidade de decompor herbicidas, cafeína, nicotina, fenóis e outros compostos orgânicos incomuns (MADIGAN et al., 2016).

Entre o cultivo de aveia preta e o milho em SPC houve aumento da abundância relativa das classes Gammaproteobacteria (de 2,8% para 5,0%) e Deltaproteobacteria (de 1,9% para 3,8%) (Figura 10 e Tabela 4). Houve aumento da abundância relativa das bactérias não classificadas da classe Betaproteobacteria (de 3,1%, para 4,8%), e das famílias Planococcaceae (Firmicutes) (de 0,7% para 2,1%) e Xanthomonadaceae (Gammaproteobacteria) (de 0,8% para 2,0%) após o milho em SPC em relação ao cultivo de aveia preta. Já o filo Verrucomicrobia e a família Bradyrhizobiaceae (Alphaproteobacteria) apresentaram decréscimo na abundância relativa nos solos entre o cultivo da aveia preta (7,6% e 2,0%, respectivamente) e após o milho no SPC (4,4% e 1,0%, respectivamente) (Figura 11 e Tabela 5).

A família Planococcales pertence a ordem Bacillales, que contém organismos geralmente quimiorganotróficos aeróbios e anaeróbios facultativos (MADIGAN et al., 2016). A ordem Bacillales e foi encontrada em intestino de gado leiteiro (DERAKHSHANI et al.,

2016), raízes de trigo (VERMA et al., 2016), solos (WANG et al., 2015), fossas de esterco suíno e na fase pré-anaeróbica de biodigestores (WHITEHEAD et al., 2015). São raramente encontrados nos solos e, quando presentes, apresentam baixa abundância relativa (SCHLATTER et al., 2019). Após aplicação de biossólido proveniente de estação de tratamento de esgoto, foi observado que a família Planococcaceae foi mais abundante do que em solos com adubação química (SCHLATTER et al., 2019).

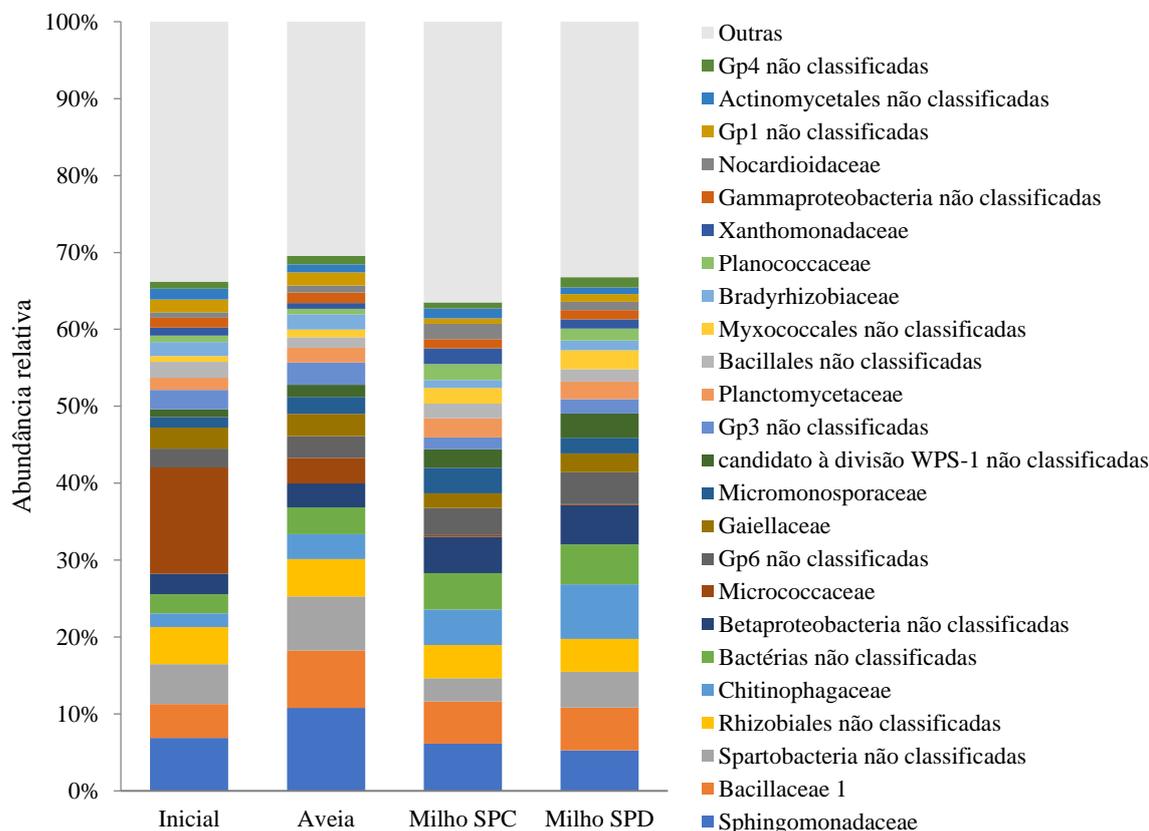


Figura 11. Famílias bacterianas com abundância relativa média maior que 1% encontradas em solo cultivado com milho em Sistema Plantio Direto e Convencional em sucessão à aveia preta.

Xanthomonas spp. geralmente são patógenos vegetais capazes de sobreviver sob condições limitantes de nutrientes, sendo fortes concorrentes nos solos (HABTE & ALEXANDER, 1975). Em um experimento que consistiu em SPC e SPD, cada um sob sucessão de culturas (soja no verão e trigo no inverno) ou rotação de culturas (com soja e milho no verão e trigo, tremoço e aveia no inverno), entre as principais ordens de Proteobacteria, as que foram mais abundantes SPC, tanto em rotação de culturas quanto em sucessão, está a ordem Xanthomonadales (Gammaproteobacteria) (SOUZA et al., 2013).

A classe Deltaproteobacteria, as famílias Chitinophagaceae (Bacteroidetes), bactérias não classificadas da classe Betaproteobacteria, e bactérias não classificadas da ordem Myxococcales (Deltaproteobacteria) aumentaram a sua abundância relativa entre o cultivo de aveia e o milho em SPD (de 1,9%, 3,2%, 3,1% e 1,0% para 4,1%, 7,1%, 5,1% e 2,4% respectivamente) (Figura 11 e Tabela 5).

A família Chitinophagaceae está associada a alta atividade β -glicosídica em solos, atividade metabólica que é passo essencial na decomposição de celulose e, portanto, é possível que esses organismos, quando não possuem os substratos ou recursos apropriados,

estejam latentes em agregados no solo, e na presença destes, aumentam sua abundância (BAILEY et al., 2013). Bactérias do gênero *Chitinophaga* (família Chitinophagaceae) são abundantes no solo. São filamentosas, quitinolíticas e podem se mover deslizando. No solo, podem usar hifas fúngicas e insetos como fontes de carbono (AISLABIE & DESLIPPE, 2013). As bactérias não classificadas da ordem Myxococcales (Deltaproteobacteria), apresentaram maior abundância no cultivo de milho em SPD (2,4%) em relação aos solos após a aveia (0,8%). Bactérias da ordem Myxococcales apresentaram correlação positiva com a relação C/N do solo (HERZOG et al., 2015), e desempenham um papel fundamental na transformação de carbono (LUEDERS et al., 2006).

Tabela 5. Valores de p dos testes t das famílias bacterianas em solo cultivado com milho em Sistema Plantio Direto e Convencional em sucessão à aveia preta.

	Inicial x Aveia	Aveia x Milho SPC	Aveia x Milho SPD	Milho SPC x Milho SPD
Sphingomonadaceae	0,3176	0,1093	0,0790	0,4698
Bacillaceae 1	0,1746	0,2393	0,3172	0,9454
Spartobacteria não classificadas	0,2886	0,0750	0,0994	0,0295
Rhizobiales não classificadas	0,9753	0,4641	0,3886	0,9468
Chitinophagaceae	0,1420	0,1717	0,0337	0,0792
Bactérias não classificadas	0,2090	0,1646	0,1281	0,6168
Betaproteobacteria não classificadas	0,4062	0,0193	0,0148	0,4050
Micrococcaceae	0,0029	0,0782	0,0762	0,4799
Gp6 não classificadas	0,7274	0,5036	0,2610	0,4959
Gaiellaceae	0,8903	0,4709	0,6861	0,2625
Micromonosporaceae	0,0908	0,0862	0,8032	0,0687
Candidato à divisão WPS-1 não classificadas	0,0299	0,0260	0,0312	0,1698
Gp3 não classificadas	0,7816	0,3295	0,4209	0,3105
Planctomycetaceae	0,1719	0,0632	0,1445	0,4910
Bacillales não classificadas	0,1055	0,1700	0,6571	0,5717
Myxococcales não classificadas	0,2664	0,0741	0,0063	0,3850
Bradyrhizobiaceae	0,7572	0,0486	0,0965	0,3020
Planococcaceae	0,5368	0,0428	0,1406	0,3793
Xanthomonadaceae	0,6173	0,0148	0,1938	0,0593
Gammaproteobacteria não classificadas	0,8627	0,7517	0,7610	0,8974
Nocardoidaceae	0,4528	0,2109	0,5989	0,2147
Gp1 não classificadas	0,9880	0,1513	0,3949	0,1953
Actinomycetales não classificadas	0,5496	0,3853	0,2429	0,1626
Gp4 não classificadas	0,7950	0,5938	0,6165	0,1370

Finalmente, observamos menor abundância relativa das famílias não classificadas da classe Spartobacteria (filó Verrucomicrobia) nos solos após o cultivo do milho no SPC (3,0%) em relação aos solos após o cultivo do milho no SPD (4,6%) (Figura 11 e Tabela 5) e maior

abundância relativa da classe Gammaproteobacteria nos solos após o cultivo do milho no SPC (5,0%) em relação aos solos após o cultivo do milho no SPD (3,3%) (Figura 10 e Tabela 4).

Na comparação entre o SPC com o SPD de milho e soja, observou-se que a bactéria *Spartobacteria sp.* (classe Spartobacteria), foi a que obteve a mais alta relação com o Sistema Plantio Direto (SMITH et al., 2016).

4.1.3. Correlação entre os atributos químicos e a diversidade bacteriana

A comunidade bacteriana do solo está diretamente relacionada aos atributos químicos do solo, como pode ser observado na análise de componentes principais (PCA) envolvendo os filos e as classes do filo Proteobacteria que apresentaram diferença estatística entre os tratamentos e os atributos químicos do solo na caracterização inicial, após a aveia preta e após o milho em SPD e SPC (Figura 12).

Observou-se que as amostras da caracterização inicial se apresentaram agrupadas, com grande distanciamento dos demais tratamentos. A diferença na estrutura das comunidades bacterianas das amostras analisadas e dos índices de alfa-diversidade pode estar relacionado com o aumento dos valores de pH e saturação por bases, além dos teores de nutrientes como P e K nos solos após o cultivo da aveia e milho em detrimento aos solos caracterizados inicialmente (Tabela 2 e Figura 8).

Tem-se sido sugerido que os componentes da diversidade geralmente são mais altos em solos com uso mais intensivo, especialmente em área de agricultura mecanizada e pastagem, em relação a áreas de vegetação primária (CARVALHO et al., 2016). Isso reforça estudos anteriores que relatam um aumento linear na riqueza das OTUs com o aumento do pH do solo em vários ecossistemas (FIERER & JACKSON, 2006; LAUBER et al., 2009; ROUSK et al., 2010; TRIPATHI, 2012), em que a calagem em solos ácidos favorece o maior crescimento bacteriano (LUPWAYI et al., 2009, ROUSK et al. 2009) e a fertilização do solo favorece as bactérias em detrimento dos fungos, levando a uma maior vantagem competitiva por parte das bactérias (BARDGETT & COOK, 1998; de VRIES et al., 2006).

O filo Actinobacteria foi mais abundante na caracterização inicial com a diminuição após o cultivo da aveia e milho tanto em SPD e SPC. A diminuição deste filo pode estar relacionada ao revolvimento da camada superficial do solo para a incorporação do fósforo natural e das sementes de aveia preta, uma vez que sua abundância deste filo está relacionada a ambientes não perturbados (LIENHARD, 2014), especialmente a família Micrococcaceae (composta principalmente pelo gênero *Arthrobacter*) que teve sua abundância relativa drasticamente diminuída após o cultivo da aveia e, posteriormente, no milho.

De lado oposto à caracterização inicial, porém em quadrantes distintos, estão os cultivos de milho no SPD e SPC. O milho no SPD está relacionado a maiores valores de V% e K. O milho do SPD, por sua vez, mais relacionado ao teor de P e ao filo Planctomycetes. Como o candidato à divisão WPS-1 (Planctomycetes) predomina nos solos de menor fertilidade (SÁNCHEZ-MARAÑÓN et al., 2017), os menores teores de K fez com que este filo ficasse fortemente relacionado aos solos de milho no SPD.

Entre as classes do filo Proteobacteria a classe Gammaproteobacteria foi mais abundante nos solos após o milho no SPD, e por isso apresentou alta correlação com o K, uma vez que este apresentou alto teor deste elemento. A classe Deltaproteobacteria também aumentou sua abundância após o cultivo de milho em SPD em relação à aveia, porém, não houve diferença entre o milho em SPD e SPD.

Esses resultados não corroboram com os obtidos por Lienhard et al., (2014), que apesar de encontrarem aumento da abundância relativa de Gammaproteobacteria, observaram o preparo do solo diminuiu notavelmente a abundância relativa dos filos de Actinobacteria e Deltaproteobacteria, comparado ao pasto natural.

As classes do filo Proteobacteria podem ser influenciadas de acordo com o tipo de matéria orgânica presente no solo. Ao adicionar carbono de baixo peso molecular no solo, aumenta-se a abundância relativa de Gammaproteobacterias (EILERS et al., 2010; GOLDFARB et al., 2011), com adição de carbono recalcitrante (celulose, lignina ou tanino) aumenta-se a abundância relativa de Deltaproteobacterias (GOLDFARB et al., 2011). No presente trabalho não foi realizada a caracterização da matéria orgânica, impossibilitando o estudo destas relações.

As bactérias não classificadas da classe Sapartobacteria (filo Verrucomicrobia) foram mais relacionadas ao cultivo de aveia e ao milho em SPD. Essas bactérias são aeróbias ou anaeróbias facultativas capazes de fermentar açúcares (MADIGAN et al., 2016). Apesar de apresentar uma alta proporção de comunidades microbianas no solo, o filo Verrucomicrobia ainda não foi bem estudado, e por isso torna-se difícil entender seu comportamento no solo (BUCKLEY & SCHMIDT, 2003; NIELSEN et al., 2014). Também associadas às amostras de aveia está a família Bradyrhizobiaceae (Alphaproteobacteria). Esses organismos são, geralmente, quimiolitotróficos e anaeróbios obrigatórios, que carregam a habilidade de formar nódulos radiculares (MADIGAN et al., 2016).

As betaproteobactérias são copiotróficas (crescimento rápido) e estão altamente correlacionadas com a acidez no solo e o pH próximo da neutralidade pode aumentar a abundância dessas bactérias no solo (LI et al., 2012). Sendo assim, essa classe apresentou correlação tanto com o SPC, quanto com o SPD.

As famílias Chitnophagaceae (Bacteroidetes) e as bactérias não classificadas da ordem Myxococcales (Deltaproteobacteria) estão relacionadas ao milho em SPD. Tem sido sugerido que o filo Bacteroidetes é composto por bactérias copiotróficas, porque sua abundância relativa no solo pode aumentar após a adição de carbono, e portanto, o SPD que manteve maior teor de Corg, promoveu condições mais adequadas para o crescimento dessas bactérias (FIERER et al., 2007; EILERS et al., 2010; NEMERGUT et al., 2010).

As famílias Planococcaceae e Xanthomonadaceae foram relacionadas com os solos em SPC. A maior correlação da família Xanthomonadaceae com o SPC também foi observada em cultivo de trigo (YIN et al., 2017).

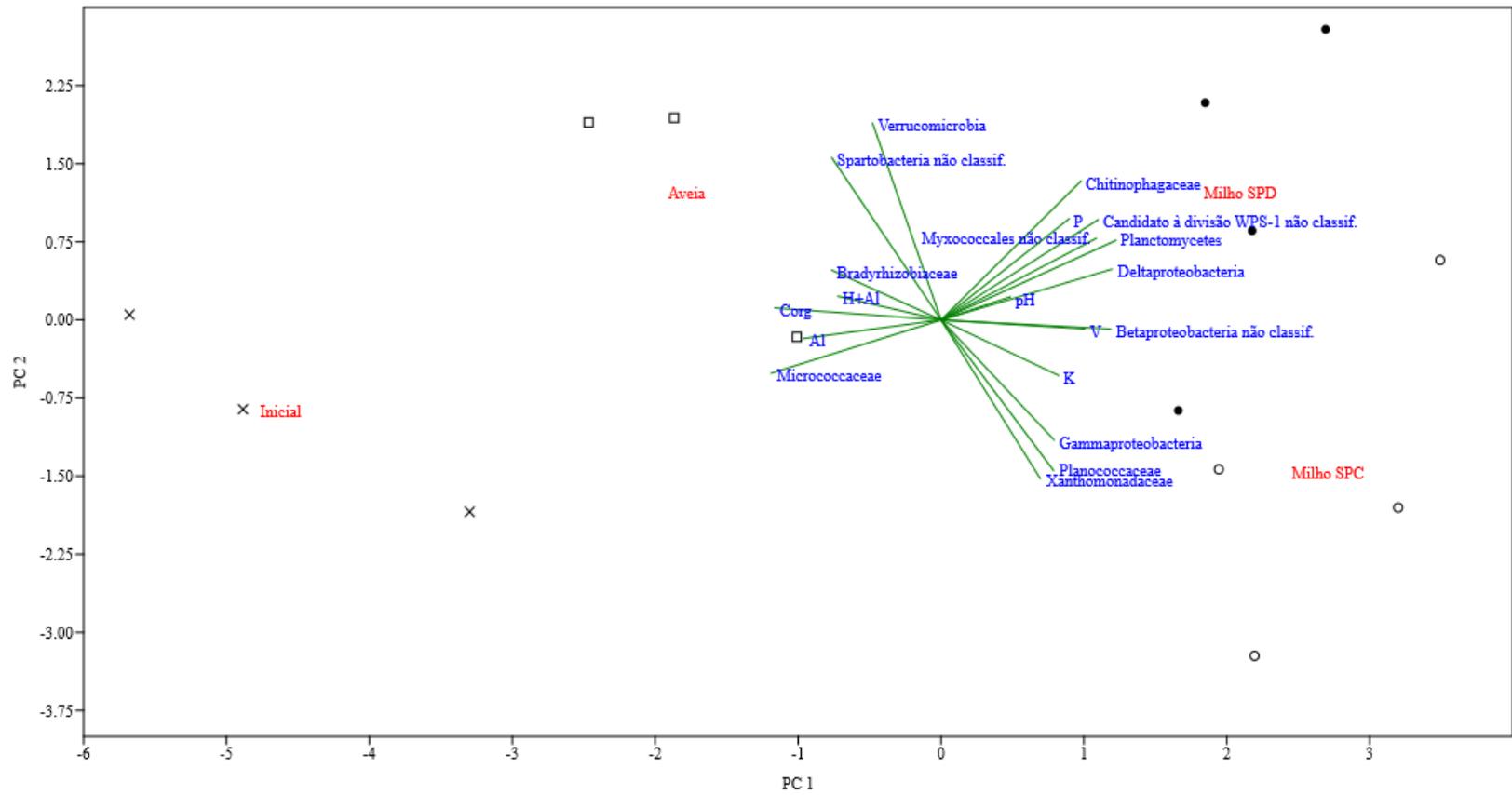


Figura 12. Análise dos Componentes Principais (PCA) em solo após caracterização inicial (x), após aveia preta (□) e após o cultivo do milho em Sistema Plantio Direto (●) e Convencional (○).

4.2. Influência do Sistema Plantio Direto e Convencional com Diferentes Plantas de Cobertura na Diversidade Microbiana do Solo

Entre as coberturas de solo, a crotalária e o feijão de porco foram as que apresentaram, visualmente, a melhor cobertura do solo. Em contrapartida, o milho não se desenvolveu bem e permitiu o desenvolvimento de plantas espontâneas. O tratamento sem o plantio de sementes, apenas com as plantas espontâneas, foi o que obteve a menor cobertura. Tanto no coquetel 1, quanto no coquetel 2, milho teve o seu crescimento suprimido devido ao bom desenvolvimento das leguminosas, principalmente do feijão de porco.

4.2.1. Atributos químicos do solo

O teor de carbono orgânico (Corg) do solo foi maior no SPD (1,82%) em comparação com o SPC (1,58%) (Tabela 6 e Tabela 7). O maior teor Corg no SPD em relação ao SPC foi observado desde o cultivo do milho cultivado em sucessão à aveia preta (Tabela 2 e Tabela 3). Na cultura do algodão, os solos em SPD também apresentaram maiores teores de Corg. Esses solos ainda foram os que apresentaram maior biomassa microbiana na superfície do solo em comparação com o SPC (FENG et al., 2003; WANG et al., 2011).

Tabela 6. Valores de pH, saturação por bases (V), carbono orgânico (Corg), fósforo (P) e potássio (K) do solo cultivado com diferentes plantas de cobertura no Sistema Plantio Direto e Convencional em sucessão ao milho.

	pH _{água} 1:2,5	V ----- % -----	Corg	P ---- mg.L ⁻¹ ----	K
Milho	5,64±0,25	70,08±6,65	1,61±0,21	16,84±10,43	79,26±34,78
Crotalária	5,70±0,49	71,97±8,98	1,73±0,16	18,04±11,74	64,89±21,63
F. de Porco	5,55±0,39	68,82±6,18	1,65±0,31	22,48±13,75	67,53±20,22
Coquetel 1	5,58±0,27	60,87±4,07	1,89±0,54	18,92±12,01	70,05±17,07
Coquetel 2	5,55±0,25	69,42±6,46	1,68±0,21	17,23±6,03	74,85±24,25
Plantas Esp.	5,72±0,18	70,89±4,57	1,63±0,29	30,06±17,54	65,43±16,88
SPC	5,70±0,38	69,52±7,32	1,58±0,25	16,67±12,40	98,47±49,68
SPD	5,55±0,24	70,36±4,78	1,82±0,32	24,52±11,73	73,83±21,39

Dados apresentados como média ± desvio padrão.

O teor de fósforo (P) foi maior no SPD (24,52 mg.L⁻¹) em relação ao SPC (16,67 mg.L⁻¹). Devido ao esgotamento do fósforo nas camadas subsuperficiais pelos cultivos sucessivos, é comum haver acúmulo de P na camada superficial durante longo período sob o Sistema Plantio Direto (SANTOS et al., 2008). Esse acúmulo pode ser até duas vezes maior no SPD do que no SPC (DORR de QUADROS et al., 2012). Em áreas de SPD, a longo prazo, as plantas absorvem o P nas camadas subsuperficiais e suas palhadas, que foram mantidas em superfície, contribuíram para que o fósforo fosse acumulado na camada superficial (0-5 cm). Entretanto, a curto prazo este efeito pode ser atribuído a fixação do fosfato, que é maior no SPC devido ao revolvimento do solo, aumentando a superfície de contato do fosfato com os óxidos de ferro e a caulinita (VALLADARES, 2003). O maior teor de Corg no SPD também favoreceu para que houvesse maior teor de P nesses solos. A matéria orgânica tanto pode

adsorver o fósforo como também bloquear os sítios de adsorção que ocorrem nas superfícies das argilas e dos óxidos de ferro e alumínio (SANYAL & DE DATTA, 1991).

Tabela 7. Valores de p das análises estatísticas dos atributos químicos do solo cultivado com diferentes plantas de cobertura no Sistema Plantio Direto e Convencional em sucessão ao milho.

	pH	V	Corg	P	K
Milheto x Crotalária	0,9993	0,9977	0,9615	1,0000	0,8603
Milheto x F. de Porco	0,9939	0,9990	0,9995	0,9391	0,6939
Milheto x Coquetel 1	0,9984	0,9952	0,4084	0,9994	0,9837
Milheto x Coquetel 2	0,9934	0,9999	0,9945	1,0000	0,9743
Milheto x Plantas Esp.	0,9976	0,9999	1,0000	0,2841	0,9991
Crotalária x F. de Porco	0,9460	0,9638	0,9957	0,9778	0,9996
Crotalária x Coquetel 1	0,9731	0,9283	0,8798	1,0000	0,9970
Crotalária x Coquetel 2	0,9441	0,9849	0,9997	1,0000	0,9987
Crotalária x Plantas Esp.	1,0000	0,9999	0,9877	0,3856	0,9695
F. de Porco x Coquetel 1	1,0000	1,0000	0,6033	0,9917	0,9691
F. de Porco x Coquetel 2	1,0000	1,0000	0,9999	0,9546	0,9798
F. de Porco x Plantas Esp.	0,9181	0,9911	1,0000	0,8169	0,8818
Coquetel 1 x Coquetel 2	1,0000	0,9997	0,7344	0,9998	1,0000
Coquetel 1 x Plantas Esp.	0,9548	0,9760	0,5223	0,4692	0,9996
Coquetel 2 x Plantas Esp.	0,9157	0,9977	0,9993	0,3151	0,9988
SPC x SPD	0,1354	0,6733	0,0072	0,0332	0,2273

Entretanto, não se observou efeito das diferentes plantas de cobertura nos atributos químicos do solo. Esse resultado não corrobora com os de Dorr de Quadros et al. (2012), que encontraram diferentes valores de pH e teores de P e Corg nas rotações: aveia/ervilhaca durante o inverno e milho/feijão-caupi durante o verão; aveia durante o inverno e milho durante o verão; e ervilhaca durante o inverno e milho durante o verão.

4.2.2. Diversidade bacteriana do solo

Após a filtragem das seqüências de baixa qualidade e tamanho menor que o esperado, um total de 1.817.909 seqüências foram obtidas das 48 amostras de solo analisadas. Posteriormente, cada amostra foi padronizada com 28.163 seqüências, de acordo com a amostra com o menor número de seqüências. Estas seqüências foram classificadas em 32.402 OTUs (Unidades Taxonômicas Operacionais) com 97% de similaridade. As curvas de rarefação das OTUs tendem a atingir o platô com o número total de seqüências analisadas (Figura 13), o que indica que o esforço amostral foi suficiente para cobrir a diversidade existente, ou seja, o aumento desse valor teria um impacto mínimo no número de OTUs.

As comunidades microbianas podem ser diretamente afetadas pelo cultivo do solo, devido as modificações de seu habitat, perda de conectividade dos indivíduos e espécies, e também pela erosão (YOUNG & RITZ, 2000). Os frequentes distúrbios associados ao revolvimento do solo no SPC podem conduzir a diferentes padrões de alfa-diversidade em relação ao SPD, favorecendo espécies com melhor dispersão ou tolerantes à perturbação (BUCKLING et al., 2000; CONNELL, 1978), portanto, não apenas afetando a composição das comunidades do solo, mas também sua diversidade (SMITH et al., 2016).

Porém, a riqueza de espécies, que também pode ser indicada pelo número de OTUs, não foi diferente entre o SPC e o SPD. A exemplo do que já foi observado nas curvas de

rarefação, o s índices de alfa-diversidade (Chao1, Ace, Shannon e Simpson), não foram afetados pelos diferentes sistema de plantio (SPC e SPD) (Figura 14 e Tabela 8).

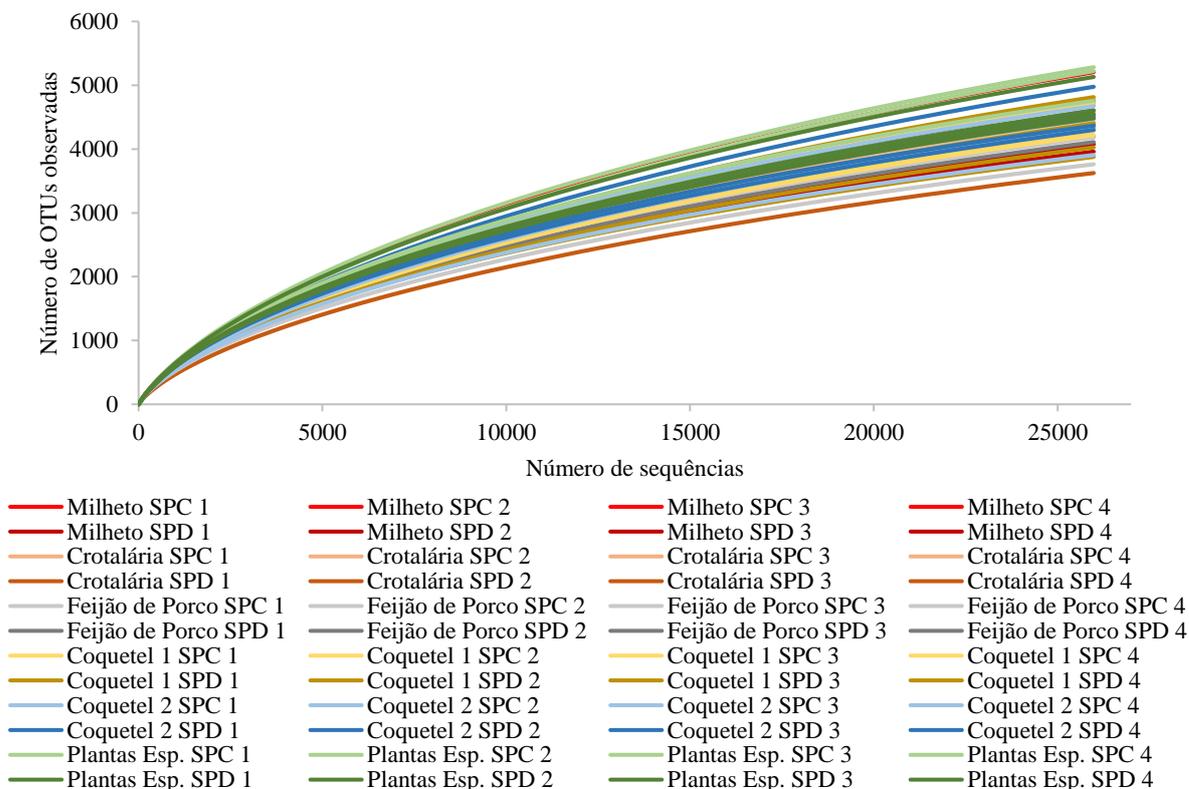


Figura 13. Curvas de rarefação das OTUs com 97% de similaridade por amostra de solo cultivado com diferentes plantas de cobertura no Sistema Plantio Direto e Convencional em sucessão ao milho.

Esse resultado corrobora com o encontrado na comparação do cultivo mínimo com o SPC no plantio de colza (*Brassica napus*). No estudo, também não foi observada diferença no número de OTUs entre os sistemas de plantio (RATHORE, 2018). Porém, quando observamos o efeito das diferentes plantas de cobertura, nota-se que há uma tendência de maior riqueza nas amostras de plantas espontâneas (média de 4.827 OTUs) em relação às amostras de milho (média de 4.471 OTUs) (Figura 13 e Anexo C)

Apesar de não haver diferença significativa entre os índices de riqueza estimada (Chao1 e Ace), foi observado que houve maior valor no índice Shannon entre plantas espontâneas (7,2) em comparação com a crotalária (6,9) (Figura 14 e Tabela 8). Como o índice Shannon combina dois atributos de uma comunidade: riqueza de espécies e equitabilidade (HURLBERT, 1971; PEET, 1974), a maior diversidade de plantas na parcela de plantas espontâneas pode ter estimulado a maior equitabilidade de microrganismos no solo devido a variabilidade dos exsudados provenientes de plantas de espécies diferentes. No plantio da crotalária, a boa cobertura do solo inibiu o crescimento de plantas espontâneas e, por sua vez, diminuindo a variabilidade de exsudados e assim, levando a menor riqueza de espécies e dominância de alguns grupos. Esse resultado, portanto, corrobora outros estudos, que encontraram relações positivas entre biodiversidade acima e abaixo da superfície do solo (HOOPER et al., 2005; ZAK et al., 2003).

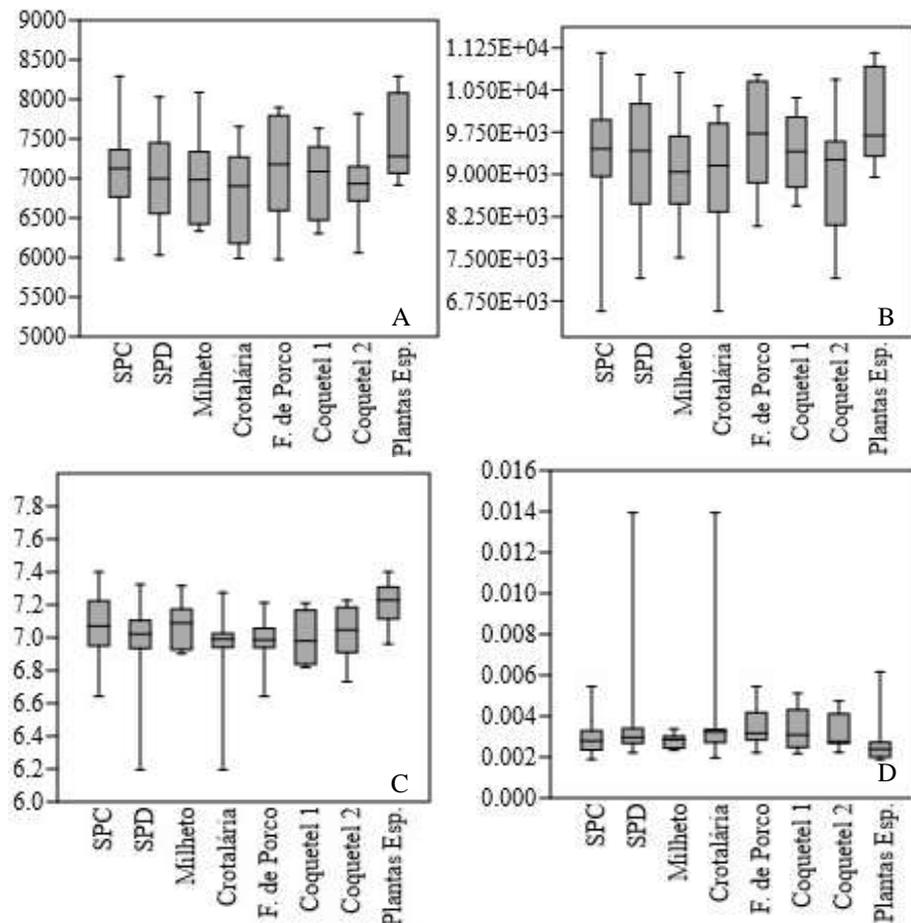


Figura 14. Índices de alfa-diversidade Chao1 (A), Ace (B), Shannon (C) e Simpson (D) de solo cultivado com diferentes plantas de cobertura no Sistema Plantio Direto e Convencional em sucessão ao milho.

Tabela 8. Valores de p das análises estatísticas dos índices de alfa-diversidade em solos cultivados com diferentes plantas de cobertura em Sistema Plantio Direto e Convencional em sucessão ao milho.

	Chao1	Ace	Shannon	Simpson
Milheto x Crotalária	0,9905	0,9996	0,5599	0,5678
Milheto x F. de Porco	0,9972	0,8323	0,8841	0,9784
Milheto x Coquetel 1	1,0000	0,9881	0,9616	0,9899
Milheto x Coquetel 2	1,0000	1,0000	0,9958	0,9977
Milheto x Plantas Esp.	0,4326	0,4724	0,6783	1,0000
Crotalária x F. de Porco	0,8942	0,6588	0,9915	0,9337
Crotalária x Coquetel 1	0,9929	0,9339	0,9562	0,8973
Crotalária x Coquetel 2	0,9985	0,9999	0,8489	0,8268
Crotalária x Plantas Esp.	0,1590	0,3008	0,0356	0,5715
F. de Porco x Coquetel 1	0,9960	0,9921	0,9998	1,0000
F. de Porco x Coquetel 2	0,9858	0,7781	0,9915	0,9998
F. de Porco x Plantas Esp.	0,7178	0,9899	0,1324	0,9792
Coquetel 1 x Coquetel 2	1,0000	0,9762	0,9995	1,0000
Coquetel 1 x Plantas Esp.	0,4117	0,8429	0,2195	0,9903
Coquetel 2 x Plantas Esp.	0,3256	0,4096	0,3718	0,9978
SPC x SPD	0,7378	0,8073	0,1904	0,3257

As comunidades bacterianas dos solos com diferentes plantas de cobertura no SPD e SPC foram dominadas pelos filos Proteobacteria (31,2%), Actinobacteria (15,7%) e Acidobacteria (14,6%) (Figura 15). Estes três filos também foram os mais abundantes entre a caracterização inicial, a aveia e os cultivos de milho em SPC e SPD. Porém, o filo Firmicutes, que foi o terceiro mais abundante (12,2%) na caracterização inicial, foi o oitavo mais abundante nos solos após as plantas de cobertura (4,5%). A diminuição da abundância relativa do filo Firmicutes após as plantas de cobertura em relação à caracterização inicial e os cultivos de aveia e milho, corrobora com o estudo que comparou uma área de mata nativa com uma área em SPD. Observou-se que esse filo foi o terceiro mais abundante em área de floresta e o quarto mais abundante em área de produção agrícola. Indicando que a diminuição da abundância relativa desse filo em ambos os experimentos está ligada a sequência de culturas (RISSI, 2015).

Entre os filos que foram afetados pelo sistema de plantio, os filos Actinobacteria, Bacteroidetes e Gemmatimonadetes apresentaram maiores abundâncias relativas no SPC (16,7% e 1,2%, respectivamente) em relação ao SPD (14,7% e 0,9%, respectivamente). Em contrapartida, no filo Bacteroidetes, houve menor abundância relativa no SPC (9,4%) em relação ao SPD (11,7%) (Figura 15 e Tabela 9).

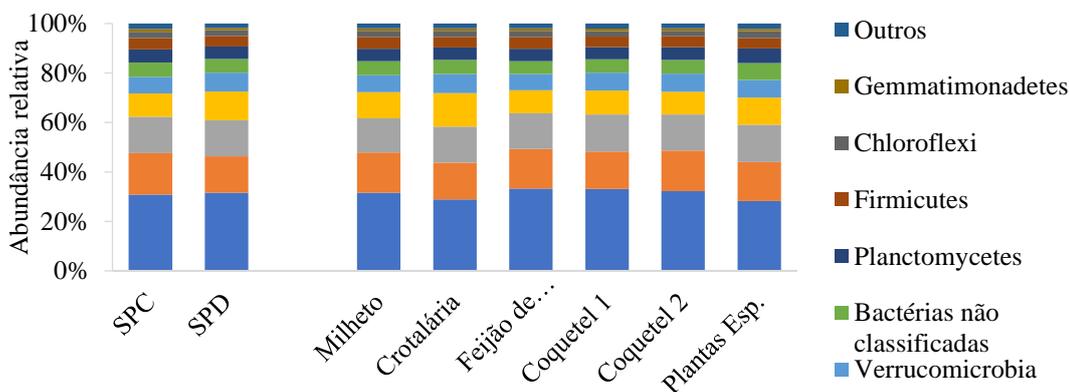


Figura 15. Filos bacterianos com abundância relativa média maior que 1% encontrados em solo cultivado com diferentes plantas de cobertura em Sistema Plantio Direto e Convencional em sucessão ao milho.

A maior abundância relativa do filo Actinobacteria em SPC corrobora com os resultados de Sengupta & Dick (2015), que observaram, em solos de produção de grãos, maiores abundâncias relativas de Actinobacteria no SPC em comparação ao SPD. Porém, solos agrícolas sob SPC e solos de pastagem nativa foram comparadas, as actinobactérias foram mais abundantes nos solos que nunca foram cultivados (CARBONETTO et al., 2014). Sugerindo, portanto, que essas bactérias tendem a ser mais abundantes em solos não perturbados e que a aração e o preparo secundário do solo tendem a homogeneizar o solo e reduzir os microambientes únicos (ou seja, específicos), onde estas populações podem residir (SENGUPTA & DICK, 2015).

Em diversos estudos o filo Gemmatimonadetes foi mais abundante em solos cultivados em SPC em comparação ao SPD (ACOSTA-MARTÍNEZ et al., 2010; DORR DE QUADROS et al., 2012; SENGUPTA & DICK, 2015). Além disso, a abundância relativa de filo Gemmatimonadetes foi aumentada em solos florestais fertilizados com nitrogênio (NEMERGUT et al., 2008). Muito pouco se sabe sobre a fisiologia, genética e ecologia das bactérias do solo pertencentes ao filo Gemmatimonadetes porque poucos representantes deste filo foram cultivados em meios de cultura (AISLABIE & DESLIPPE, 2013).

Tabela 9. Valores de p das análises estatísticas dos filos em solo cultivado com diferentes plantas de cobertura em Sistema Plantio Direto e Convencional em sucessão ao milho.

	Proteobacteria	Actinobacteria	Acido-bacteria	Bacteroidetes	Verruco-microbia	Bactérias não classif.	Firmicutes	Planctomycetes	Chloroflexi	Gemmatimonadetes
Milheto x Crotalária	0,5397	0,9334	0,9940	0,5345	0,8783	1,0000	0,9569	1,0000	0,9996	0,9765
Milheto x F. de Porco	0,8882	1,0000	0,9896	0,9762	0,9998	0,8325	1,0000	0,9976	0,9999	0,9999
Milheto x Coquetel 1	0,9196	0,9737	0,8994	0,9954	0,9981	0,9995	0,9587	0,9783	0,9366	1,0000
Milheto x Coquetel 2	0,9981	1,0000	0,9760	0,9612	0,9891	1,0000	0,9968	1,0000	0,9530	0,9698
Milheto x Plantas Esp.	0,2890	0,9997	0,8505	0,9999	0,9999	0,0376	0,9705	0,0275	0,8120	0,9909
Crotalária x F. de Porco	0,0848	0,9699	1,0000	0,1684	0,7468	0,8866	0,9184	0,9923	0,9942	0,9207
Crotalária x Coquetel 1	0,1028	1,0000	0,9957	0,2531	0,9838	1,0000	1,0000	0,9572	0,8169	0,9552
Crotalária x Coquetel 2	0,2981	0,9050	1,0000	0,1414	0,9965	1,0000	0,9990	1,0000	0,8483	1,0000
Crotalária x Plantas Esp.	0,9977	0,9870	0,9886	0,6791	0,9526	0,0277	1,0000	0,0373	0,9339	1,0000
F. de Porco x Coquetel 1	1,0000	0,9912	0,9979	0,9999	0,9817	0,9493	0,9211	0,9998	0,9810	1,0000
F. de Porco x Coquetel 2	0,9860	0,9998	1,0000	1,0000	0,9485	0,8102	0,9891	0,9907	0,9878	0,9061
F. de Porco x Plantas Esp.	0,0302	1,0000	0,9933	0,9260	0,9958	0,0015	0,9397	0,0086	0,6818	0,9574
Coquetel 1 x Coquetel 2	0,9928	0,9575	0,9996	0,9996	1,0000	0,9990	0,9991	0,9520	1,0000	0,9449
Coquetel 1 x Plantas Esp.	0,0375	0,9974	1,0000	0,9751	1,0000	0,0167	1,0000	0,0041	0,2752	0,9792
Coquetel 2 x Plantas Esp.	0,1322	0,9988	0,9980	0,8961	0,9989	0,0420	0,9996	0,0395	0,3066	1,0000
SPC x SPD	0,4406	0,0220	0,8015	0,0358	0,0906	0,1780	0,5256	0,1521	0,0897	0,0003

Bacteroidetes do solo geralmente são pertencem às classes Sphingobacteria, e Flavobacteriaceae. Por serem considerados copiotróficos, após a adição de carbono, tendem a aumentar a sua abundância relativa (FIERER et al., 2007; EILERS et al., 2010). Os solos em SPD, apresentarem maior teor de Corg em relação ao SPC, o que pode ter levado à maior abundância relativa deste filo.

Quando as plantas de cobertura foram comparadas, as plantas espontâneas apresentaram maior abundância do filo Planctomycetes e de bactérias não classificadas (5,9% e 6,9%), quando comparadas ao milho (5,1% e 5,6%), crotalária (5,1% e 5,6%), feijão de porco (5,0% e 5,1%), coquetel 1 (4,9% e 5,5%) e coquetel 2 (5,1% e 5,6%). Porém, apresentaram menor abundância do filo Proteobacteria (28,2%) em relação ao feijão de porco (33,3%) e coquetel 1 (33,1%). Não houve diferença significativa entre as plantas espontâneas e o milho (31,6%), crotalária (28,9%) e coquetel 2 (32,2%) (Figura 15 e Tabela 9).

Entre as classes pertencentes ao filo Proteobacteria, a classe Gammaproteobacteria apresentou maior abundância relativa no SPD (5,5%) em comparação com SPC (4,2%) (Figura 16 e Tabela 10). As bactérias da classe Gammaproteobacteria são consideradas copiotróficas, ou seja, são mais prevalentes quando a disponibilidade de recursos é alta (FIERER et al., 2007). Por isso, a maior abundância dessa classe pode estar associada aos maiores teores de P e Corg nos solos de SPD.

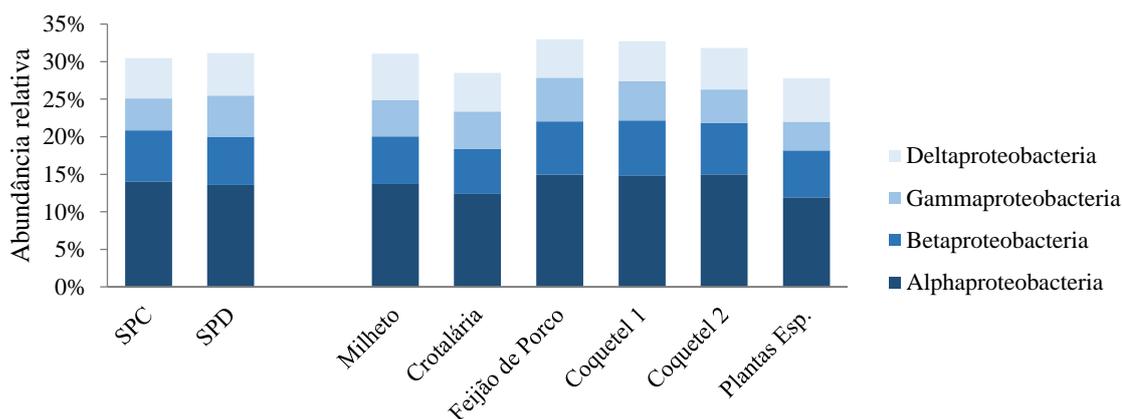


Figura 16. Classes bacterianas do filo Proteobacteria encontradas em solo cultivado com diferentes plantas de cobertura em Sistema Plantio Direto e Convencional em sucessão ao milho.

Em outro estudo a classe também foi afetada pelo sistema de cultivo, sendo mais abundante em solos em SPD e associada aos maiores teores de Corg (NAVARRO-NOYA et al., 2013). Porém, em outro estudo, mesmo com maiores teores de Corg no SPD, não houve maior abundância relativa da classe Gammaproteobacteria nesse tratamento (SOUZA et al., 2013).

Em relação as plantas de cobertura, a crotalária e as plantas espontâneas promoveram as menores abundâncias relativas da classe Alphaproteobacteria (12,4% e 11,9%, respectivamente) em relação ao feijão de porco (14,9%), coquetel 1 (14,9%) e coquetel 2 (15,0%).

As famílias mais abundantes foram as bactérias não classificadas (média de 5,7%), Chitinophagaceae (média de 5,7%), da classe Gp6 não classificadas (média de 4,8%), da classe Spartobacteria não classificadas (média de 4,2%), da classe Betaproteobacteria não classificadas (média de 3,9%) e da ordem Rhizobiales não classificadas (média de 3,7%) (Figura 17).

As famílias Gaiellaceae (filo Actinobacteria) e Gemmatimonadaceae (filo Gemmatimonadetes) apresentaram maior abundância relativa no SPC (3,2 e 1,2%, respectivamente) em comparação com o SPD (2,7 e 0,9%, respectivamente). Enquanto nas famílias não classificadas da classe Spartobacteria (filo Verrucomicrobia) e na família Flavobacteriaceae (filo Bacteroidetes), a maior abundância relativa foi observada no SPD (4,6% e 2,9%, respectivamente) em comparação com o SPC (3,7% e 1,2%, respectivamente) (Figura 17 e Tabela 11).

Tabela 10. Valores de p das análises estatísticas das classes bacterianas em solo cultivado com diferentes plantas de cobertura em Sistema Plantio Direto e Convencional em sucessão ao milho.

	Alpha-Proteobacteria	Beta-Proteobacteria	Gamma-Proteobacteria	Delta-Proteobacteria
Milheto x Crotalária	0,5340	0,9880	1,0000	0,2402
Milheto x F. de Porco	0,5806	0,8029	0,8916	0,2046
Milheto x Coquetel 1	0,6466	0,5605	0,9981	0,4511
Milheto x Coquetel 2	0,5406	0,9660	0,9990	0,6914
Milheto x Plantas Esp.	0,2263	0,9999	0,8840	0,9472
Crotalária x F. de Porco	0,0218	0,4233	0,9360	1,0000
Crotalária x Coquetel 1	0,0284	0,2213	0,9997	0,9984
Crotalária x Coquetel 2	0,0186	0,7104	0,9957	0,9670
Crotalária x Plantas Esp.	0,9921	0,9986	0,8238	0,7471
F. de Porco x Coquetel 1	1,0000	0,9985	0,9869	0,9960
F. de Porco x Coquetel 2	1,0000	0,9971	0,7067	0,9485
F. de Porco x Plantas Esp.	0,0047	0,6690	0,2853	0,6946
Coquetel 1 x Coquetel 2	1,0000	0,9512	0,9672	0,9988
Coquetel 1 x Plantas Esp.	0,0063	0,4175	0,6611	0,9280
Coquetel 2 x Plantas Esp.	0,0039	0,9041	0,9786	0,9923
SPC x SPD	0,2925	0,2382	0,0261	0,2991

Em solos de trigo, também foi encontrada maior abundância relativa da família Gaiellaceae no SPC em comparação com o SPD (YIN et al., 2017). Embora esse gênero também tenha sido relatado em campos de arroz e na rizosfera de *Crotalaria juncea* da Coréia do Sul (EO et al., 2015; AHN et al., 2016) e milho nos Andes Peruanos (CORREA-GALEOTE et al., 2016), pouca informação está disponível sobre sua importância agrícola (LUPWAYI et al., 2017). *Gaiella spp.* são descritos como gram-negativos, estritamente aeróbico e positivo para oxidase e catalase (ALBUQUERQUE et al., 2011).

Todas as OTUs identificadas pertencentes ao filo Gemmatimonadetes são membros da família Gemmatimonadaceae e do gênero *Gemmatimonas*. Membros desse gênero são relatados como abundantes em solos (DEBRUYN et al., 2011). E, sua presença em ambientes com uma ampla gama de concentrações de nutrientes e estados redox, sugere que possuem metabolismos versáteis (DEBRUYN et al., 2011).

O filo Verrucomicrobia é onipresente no solo e podem ser oligotróficos, o que pode explicar por que eles estão sub-representados em coleções culturais (JANSSEN, 2006). A ecologia da Verrucomicrobia permanece pouco compreendida. O principal grupo de Verrucomicrobia encontrado no solo é a classe Spartobacteria, da subdivisão 2, que é relatada como abundantes em pradarias e horizontes subterrâneos do solo a 10-50 cm de profundidade (AISLABIE & DESLIPPE, 2013; BERGMANN et al. 2011). Apesar de ainda não serem bem estudadas, as bactérias do filo Verrucomicrobia são abundantes no solo (BUCKLEY &

SCHMIDT, 2003; NIELSEN et al., 2014). Como já observado nos cultivos de milho, essas bactérias são mais abundantes em solos em SPD em comparação com solos em SPC (Figura 9 e Tabela 4).

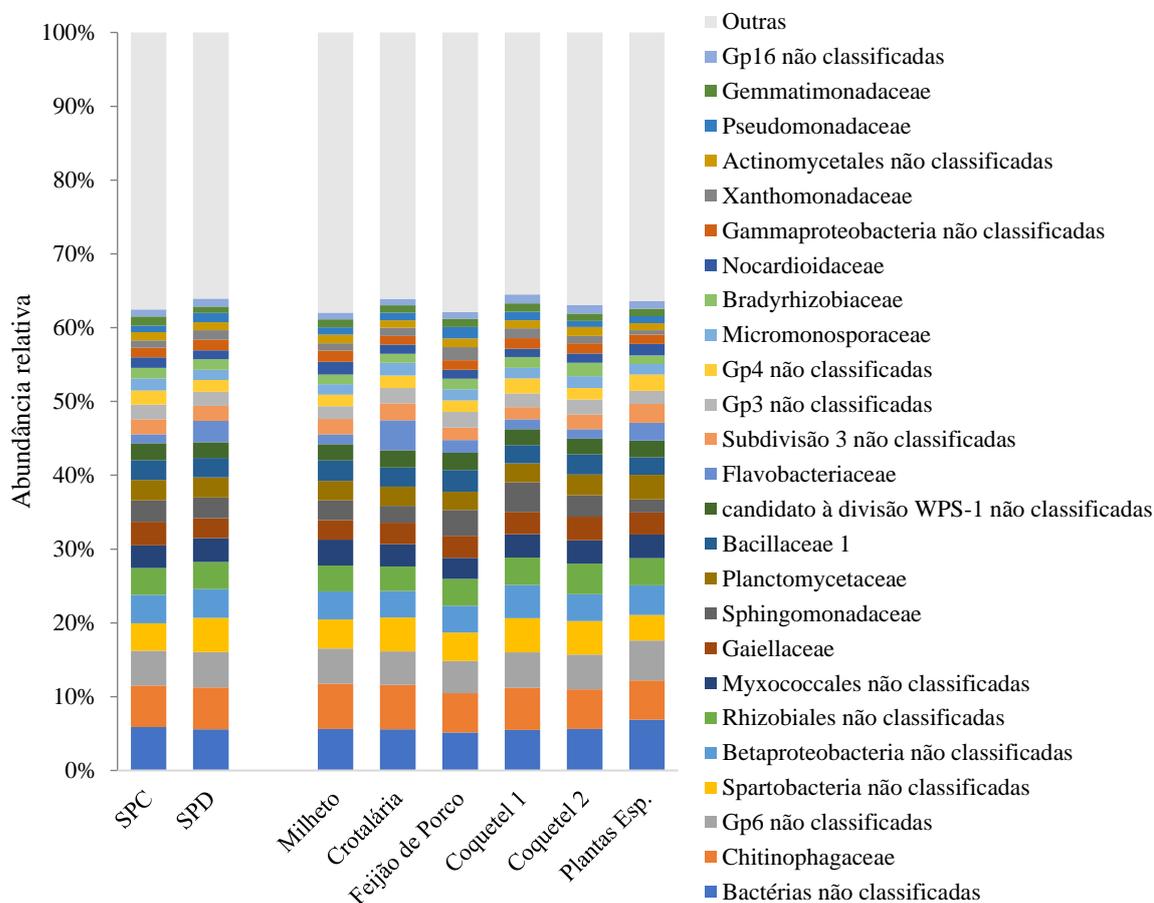


Figura 17. Famílias bacterianas com abundância relativa média maior que 1% encontradas em solo cultivado com diferentes plantas de cobertura em Sistema Plantio Direto e Convencional em sucessão ao milho.

A família Flavobacteriaceae pertence a ordem Flavobacteriales, normalmente contém quimiorganotróficos aeróbios ou anaeróbios facultativos. Como a maioria dos Bacteroidetes, esses organismos são bacilos gram-negativos, sacarolíticos, e muitas espécies apresentam motilidade deslizante. Os membros deste grupo são amplamente encontrados em solos, onde geralmente degradam polissacarídeos complexos. Espécies do gênero *Flavobacterium*, as mais abundantes no presente estudo, na sua maioria são aeróbias, embora algumas sejam capazes de reduzir nitrato, em uma forma anaeróbia de respiração. As flavobactérias com frequência produzem pigmentos amarelos, e geralmente são sacarolíticas; grande parte ainda podem degradar amido e proteínas (MADIGAN et al., 2016).

Em relação as plantas de cobertura, as plantas espontâneas apresentaram maior abundância relativa da família de bactérias não classificadas (6,9%) em relação ao milheto (5,6%), crotalária (5,6%), feijão de porco (5,1%), coquetel 1 (5,5%) e coquetel 2 (5,6%). As plantas espontâneas também apresentaram maior abundância relativa da família Planctomycetaceae (3,4%) em relação ao milheto (2,6%), crotalária (2,6%), feijão de porco (2,5%) e coquetel 1 (2,6%). Porém apresentaram menor abundância relativa da família Sphingomonadaceae (1,7%) em relação ao feijão de porco (3,5%) e coquetel (4,0%), e menor

abundância relativa da família Bradyrhizobiaceae (1,2%) em relação ao coquetel 2 (1,8%). O coquetel 1 apresentou maior abundância relativa da família Sphingomonadaceae (4,0%) em relação a crotalária (2,3%).

Dentro da ordem Rhizobiales (classe Alphaproteobacteria) existem 9 gêneros que apresentam rizóbios, entre eles o *Bradyrhizobium* (família Bradyrhizobiaceae). Esses organismos são, geralmente, quimiolitotróficos e anaeróbios obrigatórios, e os genes que carregam a habilidade de formar nódulos radiculares foram claramente distribuídos entre esses gêneros por transferência horizontal de genes. Cada gênero possui um espectro diferente de plantas hospedeiras que pode colonizar. As bactérias do gênero *Bradyrhizobium* formam nódulos radiculares com soja e outras leguminosas, inclusive feijão de porco (HERNANDEZ FORTE et al., 2012) e crotalária (SRIDEVI et al., 2007).

4.2.3. Correlação entre os atributos químicos e a diversidade bacteriana

A relação entre os atributos químicos do solo, os sistemas de cultivo (SPC e SPD) e os filos, classes e famílias que foram significativamente diferentes entre os tratamentos pode ser visualizada através da análise dos componentes principais (PCA) (Figura 8).

De forma geral houve uma diferenciação da estrutura da comunidade bacteriana entre o Sistema Plantio Convencional e o Sistema Plantio Direto, em que associados ao SPC, encontram-se o K, que apesar de não ser estatisticamente diferente, apresentou maior média nesse sistema de cultivo (Tabela 6 e Tabela 7), e os filos Actinobacteria, influenciado pela família Gaiellaceae, e Gematimonadetes, influenciado pela família Gemmatimonadetes. No quadrante oposto, o teor de Corg, o filo Bacteroidetes, influenciado pela família Flavobacteriaceae, e a classe Gammaproteobacteria (filo Proteobacteria) apresentaram-se relacionados com o SPD.

A relação entre os atributos químicos do solo, as coberturas (milheto, crotalária, feijão de porco, coquetéis 1 e 2 e as plantas espontâneas) e os filos, classes e famílias que foram significativamente diferentes entre os tratamentos podem ser visualizada através da análise dos componentes principais (PCA) (Figura 19).

Houve uma diferenciação da estrutura da comunidade bacteriana de solos de plantas espontâneas em relação aos demais tratamentos, porém uma vez que as diferentes plantas de cobertura não promoveram diferenças significativas nos atributos químicos do solo, as variáveis Corg, P, pH, V e K não estão associadas a nenhuma cobertura especificamente.

Entretanto, observa-se que enquanto o filo Proteobacteria está mais associado ao feijão de porco e ao coquetel 1, a família Bradyrhizobiaceae (classe Alphaproteobacteria) está mais associada ao coquetel 2. A classe Alphaproteobacteria (Proteobacteria) e a família Sphingomonadaceae (Alphaproteobacteria) estão posicionados entre as três coberturas, associados ao feijão de porco, ao coquetel 1 e ao coquetel 2. No eixo oposto, as bactérias não classificadas e as pertencentes ao filo Planctomycetes, influenciado pela família Planctomycetaceae, apresentaram relação com as plantas espontâneas, cobertura na qual apresentaram maior abundância relativa em comparação com as demais coberturas.

Portanto, o feijão de porco apresentou estrutura da comunidade bacteriana próxima aos coquetéis 1 e 2, provavelmente por ter tido bom desenvolvimento e suprimido o crescimento das demais coberturas (crotalária e milheto) nesses tratamentos.

Tabela 11. Valores de p das análises estatísticas das famílias bacterianas em solo cultivado com diferentes plantas de cobertura em Sistema Plantio Direto e Convencional em sucessão ao milho.

	Bactérias não classificadas	Chitinophagaceae	Gp6 não classificada	Spartobacteria não classificada	Betaproteobacteria não classificada	Rhizobiales não classificada	Myxococcales não classif.	Gaiellaceae
Milheto x Crotalária	1,0000	0,9997	0,9983	0,9197	0,9908	0,9947	0,7519	0,9646
Milheto x F. de Porco	0,8325	0,6076	0,9692	1,0000	0,9980	0,9995	0,5175	0,8798
Milheto x Coquetel 1	0,9995	0,9591	1,0000	0,8829	0,4726	0,9859	0,9223	0,7595
Milheto x Coquetel 2	1,0000	0,6546	1,0000	0,9224	0,9941	0,2996	0,9299	0,4515
Milheto x Plantas Esp.	0,0376	0,6415	0,7923	0,9829	0,9873	0,9983	0,9560	0,8157
Crotalária x F. de Porco	0,8866	0,7786	0,9991	0,8747	1,0000	0,9546	0,9989	0,9997
Crotalária x Coquetel 1	1,0000	0,9936	0,9957	1,0000	0,1819	0,8433	0,9989	0,9942
Crotalária x Coquetel 2	1,0000	0,8177	0,9997	1,0000	1,0000	0,1115	0,9985	0,9016
Crotalária x Plantas Esp.	0,0277	0,8071	0,5422	0,5619	0,8183	0,9331	0,9955	0,9979
F. de Porco x Coquetel 1	0,9493	0,9724	0,9516	0,8285	0,2464	0,9995	0,9724	0,9999
F. de Porco x Coquetel 2	0,8102	1,0000	0,9856	0,8782	1,0000	0,4823	0,9683	0,9742
F. de Porco x Plantas Esp.	0,0015	1,0000	0,3290	0,9931	0,8917	1,0000	0,9468	1,0000
Coquetel 1 x Coquetel 2	0,9990	0,9825	0,9999	1,0000	0,2017	0,6856	1,0000	0,9958
Coquetel 1 x Plantas Esp.	0,0167	0,9800	0,8366	0,4973	0,8470	0,9999	1,0000	1,0000
Coquetel 2 x Plantas Esp.	0,0420	1,0000	0,7226	0,5672	0,8448	0,5355	1,0000	0,9898
SPC x SPD	0,1780	0,9303	0,7389	0,0188	0,9572	0,8761	0,3463	0,0063
Milheto x Crotalária	0,9698	1,0000	0,9997	0,9979	0,3260	0,9821	0,9672	0,9931
Milheto x F. de Porco	0,6343	0,9624	0,9981	0,9952	0,9998	0,9123	0,9468	1,0000
Milheto x Coquetel 1	0,1556	0,9992	0,9928	0,9981	1,0000	0,8376	0,9996	0,4141
Milheto x Coquetel 2	0,9986	0,9604	1,0000	0,9965	1,0000	0,9999	0,9834	1,0000
Milheto x Plantas Esp.	0,4613	0,0079	0,9588	0,9998	0,9669	0,6985	1,0000	0,0957
Crotalária x F. de Porco	0,2097	0,9829	0,9780	1,0000	0,4814	0,5428	1,0000	0,9866
Crotalária x Coquetel 1	0,0271	0,9999	0,9998	0,9540	0,3164	0,4296	0,9963	0,7555

Continua...

Continuação da Tabela 11.

	Bactérias não classificadas	Chitinophagaceae	Gp6 não classificada	Spartobacteria não classificada	Betaproteobacteria não classificada	Rhizobiales não classificada	Myxococcales não classif.	Gaiellaceae
Crotalária x Coquetel 2	0,8458	0,9264	0,9999	0,9396	0,3108	0,9449	1,0000	0,9964
Crotalária x Plantas Esp.	0,8967	0,0054	0,9942	1,0000	0,7963	0,9727	0,9785	0,2796
F. de Porco x Coquetel 1	0,9351	0,9971	0,9194	0,9335	0,9997	1,0000	0,9914	0,3645
F. de Porco x Coquetel 2	0,8556	0,5754	0,9966	0,9155	0,9996	0,9657	0,9999	1,0000
F. de Porco x Plantas Esp.	0,0201	0,0008	0,8045	0,9998	0,9950	0,1649	0,9629	0,0789
Coquetel 1 x Coquetel 2	0,3169	0,8427	0,9955	1,0000	1,0000	0,9198	0,9990	0,4566
Coquetel 1 x Plantas Esp.	0,0016	0,0030	0,9998	0,9824	0,9634	0,1136	0,9999	0,9632
Coquetel 2 x Plantas Esp.	0,2509	0,0633	0,9690	0,9748	0,9612	0,5690	0,9901	0,1114
SPC x SPD	0,8220	0,6534	0,8005	0,1578	0,0307	0,9188	0,6445	0,0628
Milheto x Crotalária	0,7097	0,9920	0,6734	0,2738	0,9994	0,6321	1,0000	0,9765
Milheto x F. de Porco	0,9920	0,9840	0,4782	0,8711	0,5486	1,0000	0,8845	0,9999
Milheto x Coquetel 1	1,0000	0,9159	0,3370	0,9993	0,9610	0,9103	0,9987	1,0000
Milheto x Coquetel 2	0,9809	0,0856	0,6175	0,9820	1,0000	1,0000	0,9995	0,9698
Milheto x Plantas Esp.	1,0000	0,9632	0,9916	0,6138	0,9535	0,4924	1,0000	0,9909
Crotalária x F. de Porco	0,9553	0,8106	0,9996	0,8943	0,7513	0,6158	0,9121	0,9207
Crotalária x Coquetel 1	0,7522	0,6207	0,9931	0,4566	0,9961	0,9940	0,9996	0,9552
Crotalária x Coquetel 2	0,9769	0,0218	1,0000	0,6747	0,9999	0,6236	0,9986	1,0000
Crotalária x Plantas Esp.	0,7718	0,9999	0,9424	0,9910	0,8385	0,9999	1,0000	1,0000
F. de Porco x Coquetel 1	0,9957	0,9995	0,9999	0,9696	0,9528	0,9012	0,9815	1,0000
F. de Porco x Coquetel 2	1,0000	0,3095	0,9999	0,9980	0,6226	1,0000	0,7218	0,9061
F. de Porco x Plantas Esp.	0,9969	0,6760	0,8252	0,9970	0,1373	0,4765	0,8329	0,9574
Coquetel 1 x Coquetel 2	0,9883	0,4936	0,9969	0,9993	0,9799	0,9056	0,9789	0,9449
Coquetel 1 x Plantas Esp.	1,0000	0,4722	0,6878	0,8120	0,5504	0,9719	0,9955	0,9792
Coquetel 2 x Plantas Esp.	0,9910	0,0118	0,9162	0,9452	0,9222	0,4841	0,9999	1,0000
SPC x SPD	0,0505	0,9016	0,2292	0,0590	0,3287	0,7508	0,2243	0,0003

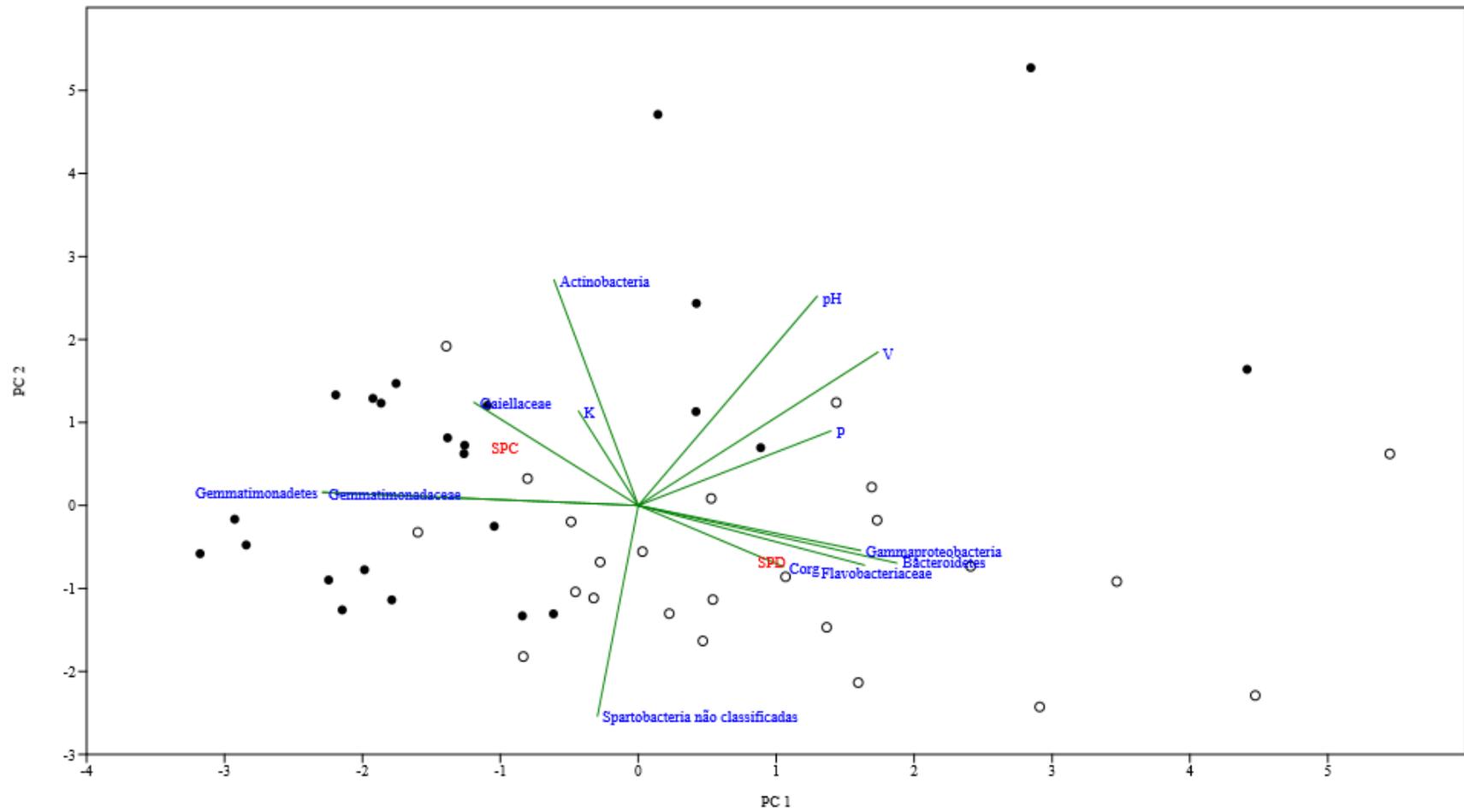


Figura 18. Análise dos Componentes Principais (PCA) do efeito dos Sistemas Plantio Direto (SPD) e Convencional (SPC) com diferentes plantas de cobertura em sucessão ao milho (● = SPC e ○ = SPD).

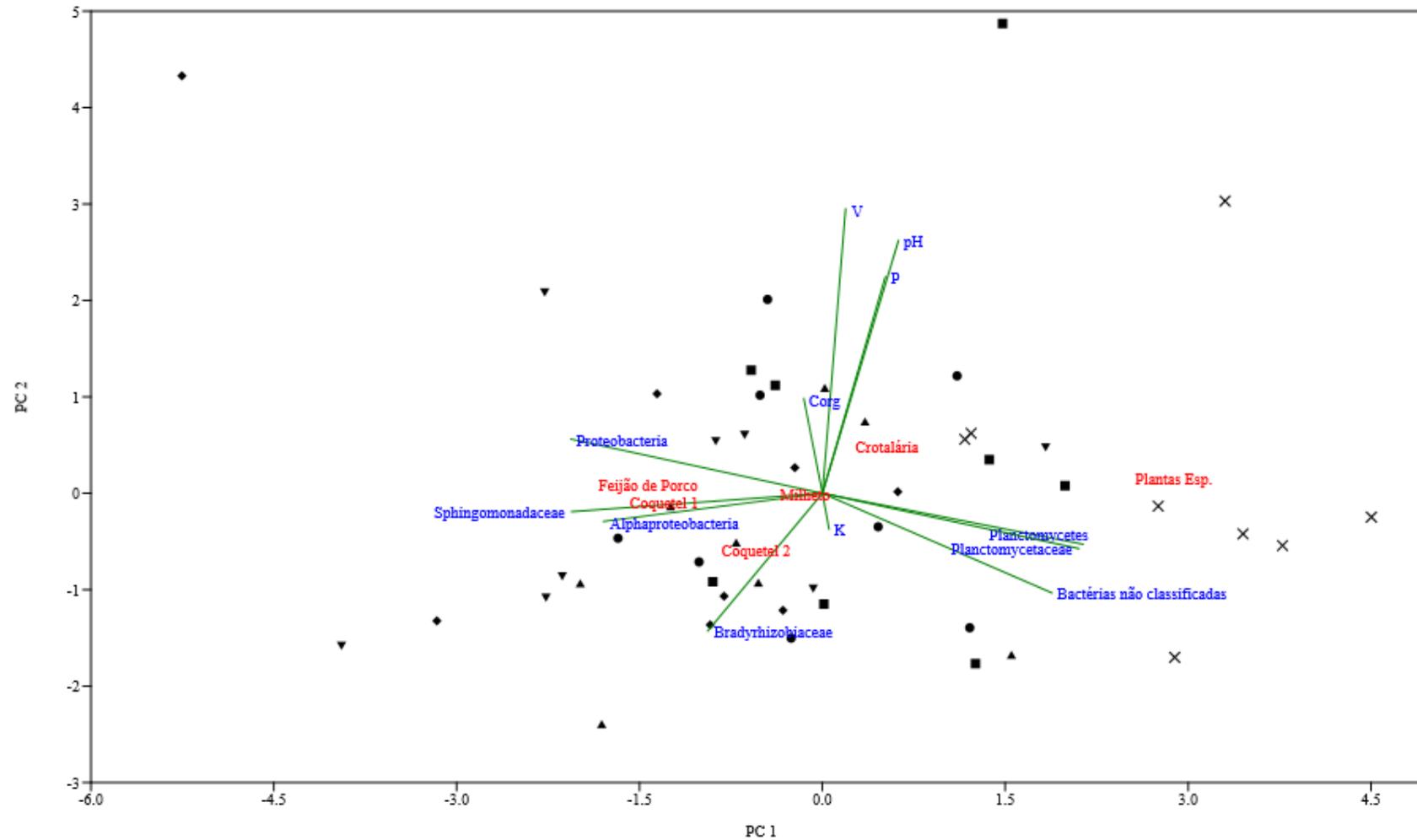


Figura 19. Análise dos Componentes Principais (PCA) do efeito de diferentes plantas de cobertura em Sistema Plantio Direto e Convencional em sucessão ao milho (● = Milheto, ■ = Crotalária, ◆ = Feijão de Porco, ▼ = Coquetel 1, ▲ = Coquetel 2 e × = Plantas Espontâneas).

5. CONCLUSÕES

A conversão de área de pastagem para área de produção agrícola levou ao aumento dos índices de alfa-diversidade de bactérias dos solos. O candidato à divisão WPS-1 teve abundância relativa aumentada e a família Micrococcaceae apresentou queda em sua abundância relativa após a conversão para área agrícola.

Entre os cultivos de milho em SPC e em SPD, não houve diferença nos índices de alfa-diversidade. As famílias não classificadas da classe Spartobacteria e Chitinophagaceae foram mais abundantes no milho em SPD.

Após o cultivo das plantas de cobertura, os diferentes sistemas (SPD e SPC) não promoveram diferenças nos índices de alfa-diversidade. No SPD houve maior abundância relativa das famílias não classificadas da classe Spartobacteria e Flavobacteriaceae e menor abundância relativa das famílias Gaiellaceae e Gemmatimonadaceae em relação ao SPC.

As plantas espontâneas promoveram maior índices de alfa-diversidade bacteriana em relação à crotalaria. O feijão de porco e os coquetéis 1 e 2 promoveram maior abundância relativa das famílias Sphingomonadaceae e Bradyrhizobiaceae enquanto as plantas espontâneas resultaram em maior abundância relativa das bactérias não classificadas e da família Planctomycetaceae.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Espera-se que nos próximos ciclos, os efeitos das diferentes plantas de cobertura manejadas no SPC e SPD nas características físico-químicas e nas características da comunidade bacteriana sejam mais evidentes, uma vez que, até o presente momento foram avaliados seus efeitos após o cultivo.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ACOSTA-MARTÍNEZ, V.; DOWD, S. E.; BELL, C. W.; LASCANO, R.; BOOKER, J. D.; ZOBECK, T. M.; UPCHURCH, D. R. Microbial Community Composition as Affected by Dryland Cropping Systems and Tillage in a Semiarid Sandy Soil. **Diversity**, v. 2, p. 910-931, 2010.
- ACOSTA-MARTINEZ, V.; DOWD, S.; SUN, Y.; ALLEN, V. Tag-encoded pyrosequencing analysis of bacterial diversity in a single soil type as affected by management and land use. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 40, n. 11, p. 2762-2770, 2008.
- ADKINS, N. L.; HALL, J. A.; GEORGEL, P. T. The use of quantitative agarose gel electrophoresis for rapid analysis of the integrity of protein–DNA complexes. **Journal of biochemical and biophysical methods**, v. 70, n. 5, p. 721-726, 2007.
- AHN, J. H., LEE, S. A., KIM, J. M., KIM, M. S., SONG, J., WEON, H. Y. Dynamics of bacterial communities in rice field soils as affected by different long-term fertilization practices. **Journal of Microbiology**, v. 54, p. 724-731, 2016.
- AISLABIE, J., DESLIPPE, J. R. Soil microbes and their contribution to soil services. *In*: Dymond, J. R., **Ecosystem Services in New Zealand e Conditions and Trends**. Manaaki Whenua Press, Lincoln, New Zealand, 2013. p. 143-161.
- AITA, C. BASSO, C. J.; CERETTA, C. A.; GONÇALVES, C. N.; DA ROS, C. O. Plantas de cobertura de solo como fonte de nitrogênio ao milho. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 25, p. 157-165, 2001.
- AITA, C.; GIACOMINI, S. J. Decomposição e liberação de nitrogênio de resíduos culturais de plantas de cobertura de solo solteiras e consorciadas. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v.27, p.601-612, 2003.
- ALBUQUERQUE, L.; FRANCA, L.; RAINEY, F. A.; SCHUMANN, P.; NOBRE, M. F.; DA COSTA, M. S. *Gaiella occulta* gen. nov. sp. nov., a novel representative of a deep branching phylogenetic lineage within the class Actinobacteria and proposal of *Gaiellaceae* fam. nov. and *Gaiellales* ord. nov. **Systematic and Applied Microbiology**, v. 34, n. 8, p. 595–599, 2011.
- AMADO, T. J. C.; MIELNICZUK, J.; FERNANDES, S. B. V.; BAYER, C. Culturas de cobertura, acúmulo de nitrogênio total no solo e produtividade de milho. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 23, n. 3, p.679-686, 1999.
- ANDRADE, Juliano Gomes de. **Perdas de água por evaporação de um solo cultivado com milho nos sistemas de plantio direto e convencional**. 2008. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2008.
- ARCHANJO, L. R., BRITO, K. F. W., SAUERBECK, S. Os alimentos orgânicos em Curitiba: consumo e significado. **Cadernos de Debate**, v. 8, p. 1-6, 2001.
- BACCOCCINA, D. O dilema dos orgânicos. **Plant Project**, ed. 05, p. 28-35, jul./ago. 2017.

BAILEY, V. L.; FANSLER, S. J.; STEGEN, J. C.; MCCUE, L. A. Linking microbial community structure to β -glucosidic function in soil aggregates. **The ISME Journal**, London, v. 7, n. 10, p. 2044–2053, 2013.

BALBINOT JR., A. A.; MORAES, A.; BACKES, R. L. Efeito de coberturas de inverno e sua época de manejo sobre a infestação de plantas daninhas na cultura de milho. **Planta Daninha**, v.25, n. 3, p. 473-480, 2007.

BARDGETT, R. D.; COOK, R. Functional aspects of soil animal diversity in agricultural grasslands. **Applied Soil Ecology**, v. 10, n. 3, p. 263–276, 1998.

BEGON, Michael; HARPER, John L.; TOWNSEND, Colin R. **Ecology: individuals, populations and communities**. 3. ed. Oxford: Blackwell Science, 1996. 1068p.

BENDER, S. F.; WAGG, C.; VAN DER HEIJDEN, M. G. A. An underground revolution: biodiversity and soil ecological engineering for agricultural sustainability. **Trends in ecology & evolution**, v. 31, n. 6, p. 440-452, 2016.

BERGMANN, G. T.; BATES, S. T.; EILERS, K. G.; LAUBER, C. L.; CAPORASO, J. G.; WALTERS W. A.; KNIGHT, R.; FIERER, N. The under-recognised dominance of Verrucomicrobia in soil bacterial communities. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 43, n. 7, p. 1450–1455, 2011.

BERNARDO, G. R. B. **Atividade antifúngica de actinobactérias da rizosfera de *Terminalia fagifolia* (Bioma Caatinga) ativas contra *Candida* spp.** Trabalho de Conclusão de Curso - Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2012.

BERTIN, E. G.; ANDRIOLI, I.; CENTURION, J. F. Plantas de cobertura em pré-safra ao milho em plantio direto. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v. 27, n. 3, p. 379-386, 2005.

BERTOL, I.; COGO, N. P.; SCHICK, J. GUDAGNIN, J. C.; AMARAL, A. J. Aspectos financeiros relacionados às perdas de nutrientes por erosão hídrica em diferentes sistemas de manejo do solo. **Revista Brasileira de Ciências do Solo**. v. 31, p. 133-142, 2007.

BRASIL, Lei N°. 10.831, de 23 de dezembro de 2003. Dispõe sobre a agricultura orgânica e dá outras providências. Disponível em: <http://planalto.gov.br/ccivil_03/leis/2003/L10.831.htm>. Acesso em: 12 jul. 2018.

BUCKLEY, D. H.; SCHMIDT, T. M. Diversity and dynamics of microbial communities in soils from agro-ecosystems. **Environmental Microbiology**, v. 5, n. 6, p. 441-452, 2003.

BUCKLING, A.; KASSEN, R.; BELL, G.; RAINEY, P. B. Disturbance and diversity in experimental microcosms. **Nature**, v. 408, p. 961-964, 2000.

BUSARI, M. A.; KUKAL, S. S.; KAUR, A.; BHATT, R.; DULAZI, A. A. Conservation tillage impacts on soil, crop and the environment. **International Soil and Water Conservation Research**, v. 3, n. 2, p. 119-129, 2015.

BUYER, J. S.; TEASDALE, J. R.; ROBERTS, D. P.; ZASADA, I. A.; MAUL, J. E. Factors affecting soil microbial community structure in tomato cropping systems. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 42, n. 5, p. 831-841, 2010.

CARBONETTO, B.; RASCOVAN, N.; ÁLVAREZ, R.; MENTABERRY, A.; VÁZQUEZ, M. P. Structure, composition and metagenomic profile of soil microbiomes associated to agricultural land use and tillage systems in Argentine Pampas. **PLoS One**, v. 9, n. 6, 2014. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4055693/>. Acesso em: 08 set. 2020.

CARVALHO, T. S.; JESUS, E. C.; BARLOW, J.; GARDNER, T. A.; SOARES, I. C.; TIEDJE, J. M.; MOREIRA, F. M. S. 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.

CASTRO, C. M.; ALMEIDA, D. L.; RIBEIRO, R. L. D.; CARVALHO, J. F. Plantio direto, adubação verde e suplementação com esterco de aves na produção orgânica de berinjela. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 40, n. 5, p. 495-502, mai. 2005.

CHAO, A. Estimating the population size for capture-recapture data with unequal catchability. **Biometrics**, p. 783-791, 1987.

CHAO, A. Nonparametric estimation of the numbers of classes in a population. **Scandinavian Journal of Statistics**, v. 11, p. 265-270, 1984.

COLE, J. R.; WANG, Q.; CARDENAS, E.; FISH, J.; CHAI, B.; FARRIS, R. J.; KULAM-SYED-MOHIDEEN, A. S.; MCGARRELL, D. M.; MARSH, T.; GARRITY, G. M.; TIEDJE, J. M. The Ribosomal Database Project: Improved alignments and new tools for rRNA analysis. *Nucleic Acids Research*, v. 37, p. 141-145, 2009.

COMPANT, S.; CLÉMENT, C.; SESSITSCH, A. Plant growth-promoting bacteria in the rhizo- and endosphere of plants: their role, colonization, mechanisms involved and prospects for utilization. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 42, n. 5, p. 669-678, 2010.

CONNELL, J. H. Diversity in tropical rain forests and coral reefs. **Science**, v. 199, p. 1302-1310, 1978.

CORRÊA, Manuel Pio. **Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas**. Rio de Janeiro: S/A, 1974.

CORREA-GALEOTE, D.; BEDMAR, E. J.; FERNÁNDEZ-GONZÁLEZ, A. J.; FERNÁNDEZ-LÓPEZ, M.; ARONE, G. J. Bacterial communities in the rhizosphere of amilaceous maize (*Zea mays L.*) as assessed by pyrosequencing. **Frontiers in Plant Science**, v. 7, 2016.

COSTA, F. S.; ALBUQUERQUE, J. A.; BAYER, C.; FONTOURA, S. M. V.; WOLBETO, C. Propriedades de um Latossolo Bruno afetadas pelos sistemas plantio direto e preparo convencional. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 27, n. 3, p. 527-535, 2003.

CRUZ, F. A. **Instalação e calibração de lisímetro de pesagem e determinação da evapotranspiração de referência para a região de Seropédica - RJ.** 2005. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia). Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2005.

CUBILLA, M.; REINERT, D. J.; AITA, C.; REICHERT, J. M.; RANNO, S. K. Plantas de cobertura do solo: uma alternativa para aliviar a compactação em sistema plantio direto. **Revista Plantio Direto**, v. 71, p. 29-32, 2002.

DAROLT, Moacir Roberto. **As dimensões da sustentabilidade: um estudo da agricultura orgânica na região metropolitana de Curitiba, Paraná.** 2000. Tese (Doutorado em Meio Ambiente e Desenvolvimento) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2000.

DAVIS, K. E. R.; JOSEPH, S. J.; JANSSEN, P. H. Effects of growth medium, inoculum size, and incubation time on culturability and isolation of soil bacteria. **Applied Environmental Microbiology**, v. 71, n. 2, p. 826-834, 2005.

DE BOER, W.; LEVEAU, J. H. J.; KOWALCHUK, G. A.; KLEIN GUNNEWIEK, P. J. A.; ABELN, E. C. A.; FIGGE, M. J.; SJOLLEMA, K.; JANSE, J. D.; VAN VEEN, J. A. *Collimonas fungivorans* gen. nov., sp. nov., a chitinolytic soil bacterium with the ability to grow on living fungal hyphae. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 54, n. 3, p. 857-864, 2004.

DE VRIES, F. T.; HOFFLAND, E.; VAN EEKEREN, N.; BRUSSAARD, L.; BLOEM, J. Fungal/bacterial ratios in grasslands with contrasting nitrogen management. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 38, p. 2092–2103, 2006.

DEBRUYN, J. M., NIXON, L. T., FAWAZ, M. N., JOHNSON, A. M., RADOSEVICH, M. Global biogeography and quantitative seasonal dynamics of Gemmatimonadetes in soil. **Applied Environmental Microbiology**, v.77, p. 6295-6300, 2011.

DEGRUNE, F.; THEODORAKOPOULOS, N.; COLINET, G.; HIEL, M. P.; BODSON, B.; TAMINIAU, B.; DAUBE, G.; VANDENBOL, M.; HARTMANN, M. Temporal dynamics of soil microbial communities below the seedbed under two contrasting tillage regimes. **Frontiers in microbiology**, v. 8, p. 1127, 2017.

DERAKHSHANI, H.; DE BUCK, J.; MORTIER, R.; BARKEMA, H. W.; KRAUSE, D. O.; KHAFIPOUR, E. The features of fecal and ileal mucosa-associated microbiota in dairy calves during early infection with *Mycobacterium avium* subspecies paratuberculosis. **Frontiers in Microbiology**, v. 7, n. 426, 2016.

DERPSCH, R.; ROTH, C.; SIDIRAS, N.; KOPE, U. Controle da erosão no Paraná, Brasil: Sistemas de cobertura do solo, plantio direto e preparo conservacionista do solo. IAPAR/GTZ, Londrina, 1991.

DERPSCH, R.; SIDIRAS, N. & HEINZMANN, F.X. Manejo do solo com coberturas verdes de inverno. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 20, n. 7, p. 671-773, 1985.

DEVOS, D. P.; REYNAUD E. G. Evolution. Intermediate steps. **Science**, v. 330, p. 1187-1188, 2010.

DONEDA, Alexandre. **Plantas de cobertura de solo consorciadas e em cultivo solteiro: decomposição e fornecimento de nitrogênio ao milho**. 2010. Dissertação (Mestrado em Ciência do Solo) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2010.

DORR DE QUADROS, P.; ZHALNINA, K.; DAVIS-RICHARDSON, A.; FAGEN, J. R.; DREW, J.; BAYER, C.; CAMARGO, F. A.; TRIPLETT, E. W. The Effect of Tillage System and Crop Rotation on Soil Microbial Diversity and Composition in a Subtropical Acrisol. **Diversity**, v. 4, n. 4, p. 375-395, 2012.

EHLERS, E. Por que Sir. Albert Howard é considerado o "pai" da Agricultura Orgânica? Disponível em: <http://creatio-agro.blogspot.com/2017/01/porque-que-sir-albert-howard-e.html>. Acesso em: 10 jul. 2008.

EILERS, K. G.; LAUBER, C. L.; KNIGHT, R.; FIERER, N. Shifts in bacterial community structure associated with inputs of low molecular weight carbon compounds to soil. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 42, n. 6, p. 896-903, 2010.

EO, J.; PARK, K.C.; KIM, M. H. Plant-specific effects of sunn hemp (*Crotalaria juncea*) and sudex (*Sorghum bicolor* × *Sorghum bicolor* var. *sudanense*) on the abundance and composition of soil microbial community. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v. 213, p. 86–93, 2015.

FARIA, C. M. B.; COSTA, N. D.; FARIA, A. F. Atributos químicos de um Argissolo e rendimento de melão mediante o uso de adubos verdes, calagem e adubação. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.31, n.2, p.299-307, 2007.

FENG, Y.; MOTTA, A. C.; REEVES, D. W.; BURMESTER, C. H.; VAN SANTEN, E.; OSBORNE, J.A. Soil microbial communities under conventional-till and no-till continuous cotton systems. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 35, p. 1693-1703, 2003.

FERREIRA, Tabajara Nunes; SCHWARZ, R. A.; STRECK, Edmar Valdir. **Manejo integrado e ecológico: Elementos básicos**. Porto Alegre: Emater/RS, 2000.

FIERER, N.; BRADFORD, M. A.; JACKSON, R. B. Toward an ecological classification of soil bacterial. **Ecology**, v. 88, n. 6, p. 1354–1364, 2007.

FIERER, N.; JACKSON, R. The diversity and biogeography of soil bacterial communities. **PNAS**, v. 103, n. 3, p. 626–631, 2006.

FINNEY, D. M.; BUYER, J. S.; KAYE, Jason Philip. Living cover crops have immediate impacts on soil microbial community structure and function. **Journal of Soil and Water Conservation**, v. 72, n. 4, p. 361-373, 2017.

FREIRE, Luiz Rodrigues. **Manual de Calagem e Adubação do Estado do Rio de Janeiro**. Brasília, DF: Embrapa; Seropédica, RJ: Editora Universidade Rural, 2013.

FUKUNAGA, Y.; KURAHACHI, M.; SAKIYAMA, Y.; OHUCHI, M.; YOKOTA, A.; HARAYAMA, S. *Phycisphaera mikurensis* gen. nov., sp. nov., isolated from a marine alga, and proposal of *Phycisphaeraceae* fam. nov., *Phycisphaerales* ord. nov. and *Phycisphaerae*

classis nov. in the phylum Planctomycetes. **The Journal of general and applied microbiology**, v. 55, n. 4, p. 267-275, 2009.

GIACOMINI, S. J.; AITA, C.; VENDRUSCOLO, E. R. O.; CUBILLA, M.; NICOLOSO, R. S.; FRIES, M. R. Matéria seca, relação C/N e acúmulo de nitrogênio, fósforo e potássio em misturas de plantas de cobertura de solo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 27, n. 2, p. 325-334, 2003.

GOLDFARB, K. C., KARAOZ, U., HANSON, C. A., SANTEE, C. A.; BRADFORD, M. A.; TRESEDER, K. K.; WALLENSTEIN, M. D.; BRODIE, E. L. Differential growth responses of soil bacterial taxa to carbon substrates of varying chemical recalcitrance. **Frontiers in Microbiology**, v. 2, n. 94, 2011.

GROVER, S. P.; BUTTERLY, C. R.; WANG, X.; TANG, C. The short-term effects of liming on organic carbon mineralisation in two acidic soils as affected by different rates and application depths of lime. **Biology and fertility of soils**, v. 53, n. 4, p. 431-443, 2017.

HABTE, M. A.; ALEXANDER, M. Protozoa as agents responsible for the decline of *Xanthomonas campestris* in soil. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 29, p. 159-164, 1975.

HAICHAR, F. Z.; MAROL C.; BERGE, O.; RANGEL-CASTRO J. I.; PROSSER, J. I.; BALESIDENT, J.; HEULIN T.; ACHOUAK W. Plant host habitat and root exudates shape soil bacterial community structure. **The ISME Journal**, p. 2, p. 1221-1230, 2008.

HARDOIM, P. R.; VAN OVERBEEK, L. S.; VAN ELSAS, J. D. Properties of bacterial endophytes and their proposed role in plant growth. **Trends in microbiology**, v. 16, n. 10, p. 463-471, 2008.

HEINRICHS, R.; AITA, C.; AMADO, T. J. C.; FANCELLI, A. L. Cultivo consorciado de aveia e ervilhaca: relação C/N da fitomassa e produtividade do milho em sucessão. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 25, n. 2, p. 331-340, 2001.

HERNANDEZ FORTE, I.; GARCÍA, N.; GENQUI, R.; HERNÁNDEZ, G. P.; GORDILLO, R. B.; PEDROSO, J. F. R. Selección de aislados de Rizobios provenientes de nódulos de la leguminosa forrajera *Canavalia ensiformis*. **Cultivos Tropicales**, La Habana, v. 33, n. 3, p. 27-33, 2012.

HERNANI, L. C.; FREITAS, P. D.; PRUSKI, F. F.; DE MARIA, I. C.; CASTRO FILHO, C. D.; LANDERS, J. N. A erosão e seu impacto. **Uso agrícola dos solos brasileiros**. Rio de Janeiro: Embrapa Solos, p. 47-60, 2002.

HERNANI, L. C.; KURIHARA, C. H.; SILVA, W. M. Sistemas de manejo de solo e perdas de nutrientes e matéria orgânica por erosão. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 23, n. 1, p. 145-154, 1999.

HERZOG, S.; WEMHEUER, F.; WEMHEUER, B.; DANIEL, R. Effects of Fertilization and Sampling Time on Composition and Diversity of Entire and Active Bacterial Communities in German Grassland Soils. **PLoS ONE**, v. 10, n. 12, 2015. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4687936/>. Acesso em: 08 set. 2020.

HOLMES, A. J.; BOWYER, J.; HOLLEY, M. P.; O'DONOGHUE, M.; MONTGOMERY, M.; GILLINGS, M. R. Diverse, yet-to-be-cultured members of the *Rubrobacter* subdivision of the *Actinobacteria* are widespread in Australian arid soils. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 33, n. 2, p. 111-120, 2000.

HOOPER, D. U.; CHAPIN, F. S.; EWEL, J. J.; HECTOR, A.; INCHAUSTI, P.; LAVOREL, S.; LAWTON, J. H.; LODGE, D. M.; LOREAU, M.; NAEEM, S.; SHMID, B.; SETALA, H.; SYMSTAD, A. J. VANDERMEER, J.; WARDLE, D. A. Effects of biodiversity on ecosystem functioning: a consensus of current knowledge. **Ecological Monographs**, v. 75, n. 1, p. 3-35, 2005.

HUGENHOLTZ, P.; PITULLE, K. L.; PACE, N. R. Novel division level bacterial diversity in a Yellowstone hot spring. **Journal of Bacteriology**, v. 180, n. 02, p. 366-376, 1998.

HUMBERT, S.; TARNAWSKI, S.; FROMIN, N.; MALLET, M. P.; ARAGNO, M.; ZOPFI, J. Molecular detection of anammox bacteria in terrestrial ecosystems: distribution and diversity. **The ISME Journal**, v. 4, p. 450-454, 2010.

HUNGRIA, M.; CAMPO, R.; CHUEIRE, L.; GRANGE, L.; MEGIAS, M. Symbiotic effectiveness of fast-growing rhizobial strains isolated from soybean nodules in Brazil. **Biology and fertility of soils**, v. 33, n. 5, p. 387-394, 2001.

HUNGRIA, M.; VARGAS, M. A. T. Environmental factors affecting N₂ fixation in grain legumes in the tropics, with an emphasis on Brazil. **Field crops research**, v. 65, n. 2-3, p. 151-164, 2000.

HURLBERT, S. H. The nonconcept of species diversity: a critique and alternative parameters. **Ecology**, v. 52, n. 4, p. 577-586, 1971.

JACOBS, A.; RAUBER, R.; LUDWIG, B. Impact of reduced tillage on carbon and nitrogen storage of two Haplic Luvisols after 40 years. **Soil and Tillage Research**, v. 102, n. 1, p. 158-164, 2009.

JANSSEN, P. H. Identifying the dominant soil bacterial taxa in libraries of 16S rRNA and 16S rRNA genes. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 72, p. 1719-1728, 2006.

JONES, R. T.; ROBESON, M. S.; LAUBER, C. L.; HAMADY, M.; KNIGHT, R.; FIERER, N. A comprehensive survey of soil acidobacterial diversity using pyrosequencing and clone library analyses. **The ISME Journal**, v. 3, p. 442-453, 2009.

KASEM, S.; RICE, N.; HENRY R. J. DNA Extraction from Plant Tissue. *In: Plant Genotyping II: SNP Technology*, p. 219-271, 2008.

LAUBER, C. L.; HAMADY, M.; KNIGHT, R.; FIERER, N. Pyrosequencing-based assessment of soil pH as a predictor of soil bacterial community structure at the continental scale. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 75, p. 5111-5120, 2009.

LEBEIS, S. L. The potential for give and take in plant-microbiome relationships. **Frontiers in plant science**, v. 5, p. 287, 2014.

LI, R.; KHAFIPOUR, E.; KRAUSE, D.O.; ENTZ, M. H.; DE KIEVIT, T. R.; FERNANDO, W. G. Pyrosequencing reveals the influence of organic and conventional farming systems on bacterial communities. **PLoS One**. v. 7, n. 12, 2012. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3526490/>. Acesso em: 10 mar. 2020.

LIENHARD, P.; TERRAT, S.; PRÉVOST-BOURÉ, N. C.; NOWAK, V.; RÉGNIER, T.; SAYPHOUMMIE, S.; PANYASIRI, K.; TIVET, F.; MATHIEU, O.; LEVÊQUE, J.; MARON, P. A.; RANJARD, L. Pyrosequencing evidences the impact of cropping on soil bacterial and fungal diversity in Laos tropical grassland. **Agronomy for Sustainable Development**. v. 34, p. 525-533, 2014.

LÓPEZ, R. E. S. *Canavalia ensiformis* (L.) DC (Fabaceae). **Revista Fitos**, v. 7. n. 3. p. 146-154, 2012.

LUEDERS, T.; KINDLER, R.; MILTNER, A.; FRIEDRICH, M.; KAESTNER, M. Identification of bacterial micropredators distinctively active in a soil microbial food web. **Applied Environmental Microbiology**, v. 72, n. 8, p. 5342-5348, 2006.

LUPWAYI, N. Z.; ARSHAD, M. A.; AZOOZ, R. H.; SOON, Y. K. Soil microbial response to wood ash or lime applied to annual crops and perennial grass in an acid soil of northwestern Alberta. **Canadian Journal of Soil Science**, v. 89, n. 2, p. 169-177, 2009.

LUPWAYI, N. Z.; LARNEY, F. J.; BLACKSHAW, R. E., KANASHIRO, D. A.; PEARSON, D. C.; PETRI, R. M. Phospholipid fatty acid biomarkers show positive soil microbial community responses to conservation soil management of irrigated crop rotations. **Soil and Tillage Research**, v. 168, p. 1-10, 2017.

MADIGAN, Michael T.; MARTINKO, John M.; BENDER, Kelly; BUCKLEY, Daniel; STAHL, David. **Microbiologia de Brock**. 14. ed. São Paulo: Pretice Hall, 2016.

MAGURRAN, Anne E. **Medindo a diversidade biológica**. Curitiba, Editora da UFPR, 2011.

MARSCHNER, Horst. **Mineral Nutrition of Higher Plants**. 2 ed. London: Academic Press, 1995.

MEDEIROS, R. B. **Formação e manejo de pastagens para a região do Planalto Médio e Missões**. Porto Alegre: Governo do Estado do Rio Grande do Sul. Secretaria de Agricultura, 1977.

MEDICI, L. O.; ROCHA, H. S. D.; CARVALHO, D. F.; PIMENTEL, C.; AZEVEDO, R. A. Acionador automático para irrigar plantas. **Scientia Agricola**. v. 67, n. 6, p. 727-730, 2010.

MELO, A.S. O que ganhamos 'confundindo' riqueza de espécies e equabilidade em um índice de diversidade? **Biota Neotropica**, v. 8, n. 3, p. 21-27 2008.

MONEGAT, Claudino. **Plantas de cobertura do solo: características e manejo em pequenas propriedades**. Chapecó, 1991.

NAIR, A.; NGOUAJIO, M. Soil microbial biomass, functional microbial diversity, and nematode community structure as affected by cover crops and compost in an organic vegetable production system. **Applied Soil Ecology**, v. 58, p. 45-55, 2012.

NAVARRO-NOYA, Y. E.; GÓMEZ-ACATA, S.; MONTOYA-CIRIACO, N.; ROJAS-VALDEZ, A.; SUÁREZ-ARRIAGA, M. C.; VALENZUELA-ENCINAS, C.; JIMÉNEZ-BUENO, N.; VERHULST, N.; GOVAERTS, B.; DENDOOVEN, L. Relative impacts of tillage, residue management and crop-rotation on soil bacterial communities in a semi-arid agroecosystem. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 65, 86-95, 2013.

NEMERGUT, D. R.; CLEVELAND, C. C.; WIEDER, W. R.; WASHENBERGER, C. L.; TOWNSEND, A. R. Plot-scale manipulations of organic matter inputs to soils correlate with shifts in microbial community composition in a lowland tropical rain forest. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 42, n. 12, p. 2153-2160, 2010.

NEMERGUT, D. R.; TOWNSEND, A. R.; SATTIN, S. R.; FREEMAN, K. R.; FIERER, N.; NEFF, J. C.; BOWMAN, W. D.; SCHADT, C. W.; WEINTRAUB, M. N.; SHMIDT, S. K. The effects of chronic nitrogen fertilization on alpine tundra soil microbial communities: implications for carbon and nitrogen cycling. **Environmental microbiology**, v. 10, n. 11, p. 3093-3105, 2008.

NIELSEN, S.; MINCHIN, T.; KIMBER, S.; VAN ZWIETEN, L.; GILBERT, J.; MUNROE, P.; JOSEPH, S.; THOMAS, T. Comparative analysis of the microbial communities in agricultural soil amended with enhanced biochars or traditional fertilisers. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, v. 191, p. 73-82, 2014.

NIMER, E. Clima. In: **Geografia do Brasil**. Rio de Janeiro, IBGERJ. p.35-38. 1977.

NOGALES, B.; MOORE, E. R. B.; LLOBET-BROSSA, E.; ROSSELLO-MORA, R.; AMANN, R.; TIMMIS, K. N. Combined use of 16S ribosomal DNA and 16S rRNA to study the bacterial community of polychlorinated biphenylpolluted soil. **Applied Environmental Microbiology**, v. 67, p. 1874-1884, 2001.

OLEXOVÁ, L.; DOVICOVICOVÁ, L.; KUCHTA, T. Comparison of three types of methods for the isolation of DNA from flours, biscuits and instant paps. **European Food Research and Technology**, v. 218, p. 390-393, 2004.

OLIVEIRA, A. S.; ALMEIDA JÚNIOR, J. F. Proposta de um produto alimentício orgânico e avaliação comparativa de sua aceitação e preferência sensorial. In: ENCONTRO LATINO-AMERICANO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 12., 2008, São José dos Campos. **Anais [...]**. 2008.

OLIVEIRA, Eva Adriana Gonçalves de. **Formulações do tipo “bokashi” como fertilizantes orgânicos no cultivo de hortaliças**. 2015. Tese. (Doutorado em Fitotecnia) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2015.

PEET, R. K. The measurement of species diversity. **Annual Review of Ecology and Systematics**, v. 5, n. 1, p. 285-307, 1974.

PENNING de VRIES, E. W. T.; JANSEN, D. M.; TEM BERGE, H. F. M.; BAKEMA, A. H. **Simulation of ecophysiological processes of growth in several annual crops**. Wageningen: PUDOC, 1989. 271 p.

PEREIRA FILHO, Israel Alexandre; FERREIRA, Alexandre da Silva; COELHO, Antônio Marco; CASELA, Carlos Roberto; KARAM, Décio; RODRIGUES, José Avelino Santos; CRUZ, José Carlos; WAQUIL, José Magid. **Manejo da cultura do milho**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo. Circular Técnica 29, 2003. 17 p.

PEREIRA, A. J.; GUERRA, J. G. M.; MOREIRA, V. F.; TEIXEIRA, M. G.; URQUIAGA, S.; POLIDORO, J. C.; ESPINDOLA, J. A. A. **Desempenho agrônomo de *Crotalaria juncea* em diferentes arranjos populacionais e épocas do ano**. Seropédica: Embrapa Agrobiologia, 2005.

PERRY, D. A.; AMARANTHUS, M. P.; BORCHERS, J. G.; BORCHERS, S. L.; BRAINERD, R.E. **Bootstrapping in ecosystems**, Washington, v. 39, n. 4, p. 230-237, 1989.

POLHILL, R. M. *Crotalaria*. In: **Flora of Tropical East Africa**. Royal Botanic Gardens, Kew. 1971.

QUAST, C.; PRUESSE, E.; YILMAZ, P.; GERKEN, J.; SCHWEER, T.; YARZA, P.; PEPLIES J.; GLOCKNER, F. O. The SILVA ribosomal RNA gene database project: improved data processing and web-based tools. *Nucleic Acids Research*, v. 41, p. 590–596, 2013.

QUEIROZ, L. R.; GALVÃO, J. C. C.; CRUZ, J. C.; OLIVEIRA, M. F. E.; TARDIN, F. D. Supressão de plantas daninhas e produção de milho-verde orgânico em sistema de plantio direto. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 28, n. 2, p. 263-270, 2010.

RATHORE, Ridhdhi. **Investigating the impact of soil tillage and crop rotation on the bacterial microbiome associated with winter oilseed rape under Irish agronomic conditions**. 2018. Tese (Doutorado). Institute of Technology Carlow, 2018.

RISSI, Daniel Vasconcelos. **Análise metagnômica de solos sob floresta semidecidual e sistema plantio direto**. 2015. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Biotecnologia) – Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais, Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados, 2015.

RIZZI, Sabrina Penz. **Caracteres morfo-fisiológicos e produtividade de cultivares de aveia branca**. 2004. Mestrado (Mestrado em Agronomia) - Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo, 2004.

ROUSK, J.; BÅÅTH, E.; BROOKES, P. C.; LAUBER, C. L.; LOZUPONE, C.; CAPORASO, J. G.; KNIGHT, R.; FIERER, N. Soil bacterial and fungal communities across a pH gradient in an arable soil. **The ISME Journal**, v. 4, p. 1340-1351, 2010.

ROUSK, J.; BROOKES, P. C.; BÅÅTH, E. Contrasting soil pH effects on fungal and bacterial growth suggest functional redundancy in carbon mineralization. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 75, p. 1589-1596, 2009.

SÁ, J. C. M. **Manejo do nitrogênio na cultura do milho no sistema plantio direto**. Passo Fundo: Aldeia Norte. 24 p. 1996.

SALTON, J.C. O plantio direto no Brasil. *In: SEMINÁRIO INTERNACIONAL SOBRE PLANTIO DIRETO NOS TRÓPICOS SUL-AMERICANOS*, 1., 2001, Dourados. **Anais [...]** Dourados: Embrapa Agropecuária Oeste, 2001. p.13-15.

SÁNCHEZ-MARAÑÓN, M., MIRALLES, I., AGUIRRE-GARRIDO, J. F.; ANGUITA-MAESO, M.; MILLÁN, V.; ORTEGA, R.; GARCÍA-SALCEDO, J. A.; MARTÍNEZ-ABARCA, F.; SORIANO, M. Changes in the soil bacterial community along a pedogenic gradient. **Scientific Reports**, v. 7, n. 14593, 2017. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41598-017-15133-x>. Acesso em: 10 mai. 2020.

SANTOS, D. R.; GATIBONI, L. C.; KAMINSKI, J. Fatores que afetam a disponibilidade do fósforo e o manejo da adubação fosfatada em solos sob sistema plantio direto. **Ciência Rural**, v. 38, n. 2, p. 576-586, 2008.

SANYAL, S. K.; DE DATTA, S. K. Chemistry of phosphorus transformations in soil. **Advances in Soil Science**, New York, v. 16, p. 1-120, 1991.

SCHLATTER, D. C.; PAUL, N. C.; SHAH, D. H.; SCHILLINGER, W. F.; BARY, A. I.; SHARRATT B.; PAULITZ T. C. Biosolids and Tillage Practices Influence Soil Bacterial Communities in Dryland Wheat. **Microbial Ecology**, v. 78, p. 737-752, 2019.

SCHLOSS, P. D.; WESTCOTT, S. L.; RYABIN, T.; HALL, J. R.; HARTMANN, M.; HOLLISTER, E. B.; LESNIEWSKI, R. A.; OAKLEY, B. B.; PARKS, D. H.; ROBINSON, C. J.; SAHL, J. W.; STRES, B.; THALLINGER, G. G.; VAN HORN, D. J.; WEBER, C. F. Introducing MOTHUR: open-source, platform-independent, community-supported software for describing and comparing microbial communities. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 75, p. 7537-7541, 2009.

SCHMIDT, R.; GRAVUER, K.; BOSSANGE, A. V.; MITCHEL, J.; SCOW, K. Long-term use of cover crops and no-till shift soil microbial community life strategies in agricultural soil. **PLoS One**, v. 13, n. 2, 2018.

SCHULTZ, N.; JUNIOR, C. R. P.; RODRIGUES, G. C. S.; COSTA, E. S. P.; PEREIRA, M. G.; AMARAL SOBRINHO, N. M. B. Produção de couve-flor em sistema plantio direto e convencional com aveia preta como planta de cobertura do solo. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 5, p. 30107-30122, 2020.

SENGUPTA, A.; DICK, W. A. Bacterial community diversity in soil under two tillage practices as determined by pyrosequencing. **Microbial ecology**, v. 70, n. 3, p. 853-859, 2015.
SHANNON, C. E. A mathematical theory of communication. **Bell System Technical Journal**, v. 27, p. 379-423, 1948.

SILVA, Desirée Maria Esmeraldino da. **Influência dos sistemas de exploração agrícola convencional e orgânico em cana-de-açúcar**. Tese (Doutorado) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2007.

SILVA, Fabio Cesar da. **Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes**. 2. ed. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica; Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 2009. 627 p.

SILVA, J. A. A.; DONADIO, L. C.; CARLOS, J. A. D. **Adubação verde em citros**. Jaboticabal: FUNEP, 1999.

SILVA, P. R. F.; ARGENTA G.; SANGOI L.; STRIEDER M. L.; SILVA A. A. Estratégias de manejo de coberturas de solo no inverno para cultivo do milho em sucessão no sistema semeadura direta. **Ciência Rural**, v. 36, n. 3, p. 1011-1020, 2006.

SIMPSON, E. H. Measurement of diversity. **Nature**, London, v. 163, p. 688, 1949.

SIX, J.; ELLIOTT, E. T.; PAUSTIAN, K. Aggregate and soil organic matter dynamics under conventional and no-tillage systems. **Soil Science Society of America Journal**, v. 63, n. 5, p. 1350-1358, 1999.

SMITH, C. R.; BLAIR, P. L.; BOYD, C.; CODY, B.; HAZEL, A.; HEDRICK, A.; KATHURIA, H.; KHURANA, P.; KRAMER, B.; MUTERSPAW, K.; PECK, C.; SELLS, E.; SKINNER, J.; TELEGER, C.; WOLFE, Z. Microbial community responses to soil tillage and crop rotation in a corn/soybean agroecosystem. **Ecology and Evolution**, v. 6, n. 22, 2016.

SOUZA, J. L. **Cultivo orgânico de hortaliça**: sistema de produção. Viçosa: CPT, 1999.

SOUZA, R. C.; CANTÃO, M. E.; VASCONCELOS, A. T. R.; NOGUEIRA, M. A.; HUNGRIA, M. Soil metagenomics reveals differences under conventional and no-tillage with crop rotation or succession. **Applied Soil Ecology**, v. 72, p. 49-61, 2013.

SOUZA, R. F.; FIGUEIREDO, C. C.; MADEIRA, N. R.; ALCÂNTARA, F. A. Effect of management systems and cover crops on organic matter dynamics of soil under vegetables. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 38, n. 3, p. 923-933, 2014.

SPADOTTI, G. A. C.; COSTA, C. H. M.; FERRARI NETO, J. Ecofisiologia da aveia branca. **Scientia Agraria Paranaensis**, v. 11, p. 1-15, 2012.

SRIDEVI, M.; MALLAIAH, K. V.; YADAV, N. C. S. Phosphate solubilization by Rhizobium isolates from Crotalaria species. **Journal of Plant Sciences**, v. 2, p. 635-639, 2007.

TERRA-LOPES M. L.; CARVALHO P. C. F.; ANGHINONI I.; SANTOS D. T.; AGUINAGA A. A. Q.; FLORES J. P. C.; MORAES A. Sistema de integração lavoura-pecuária: efeito do manejo da altura em pastagem de aveia preta e azevém anual sobre o rendimento da cultura da soja. **Ciência Rural**, n. 39, p. 1499-1506, 2009.

TIAN, Y.; LIU, J.; GAO, L. Carbon mineralization in the soils under different cover crops and residue management in an intensive protected vegetable cultivation. **Scientia horticulturae**, v. 127, n. 3, p. 198-206, 2011.

TIMBÓ, Ana Luiza de Oliveira. **Obtenção de protoplastos de híbridos triplóides entre o capim-elefante e o milheto**. 2007. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2007.

TRIPATHI, B. M.; KIM, M.; SINGH, D.; LEE-CRUZ, L.; LAI-HOE, A.; AINUDDIN, A. N.; GO, R.; RAHIM, R. A.; HUSNI, M. H. A.; CHUN, J.; ADAMS, J. M. Tropical soil bacterial communities in Malaysia: pH dominates in the equatorial tropics too. **Microbial Ecology**, v. 64, n. 2, p. 474-484, 2012.

TURNER, T. R.; RAMAKRISHNAN, K.; WALSHAW, J.; HEAVENS, D.; ALSTON, M.; SWARBRECK, D.; OSBOURN, A.; GRANT, A.; POOLE, P. Comparative metatranscriptomics reveals kingdom level changes in the rhizosphere microbiome of plants. **The ISME journal**, v. 7, n. 12, p. 2248-2258, 2013.

UROZ, S.; CALVARUSO, C.; TURPAULT, M. P.; PIERRAT, J. C.; MUSTIN, C.; FREY-KLETT, P. Effect of the mycorrhizosphere on the genotypic and metabolic diversity of the bacterial communities involved in mineral weathering in a forest soil. **Applied Environmental Microbiology**, v. 73, n. 9, p. 3019-3027, 2007.

VALLADARES, G. S.; PEREIRA, M. G.; ANJOS, L. H. C. Adsorção de fósforo em solos de argila de atividade baixa. **Bragantia**, Campinas, v. 62, n. 1, p. 111-118, 2003.

VAN WYK, B. A review of the Tribe Crotalariae (Fabaceae). **Contributions from the Bolus Herbarium**, v. 13, p. 265-288, 1991.

VAN WYK, B.; SCHUTTE, A. L. Phylogenetic Relationship in the Tribes Podalyrieae, Liparieae and Crotalariae. In: **Advances in Legume Systematics Part 7: Phylogeny**. Royal Botanic Gardens, Kew. 1995.

VENTER, Z. S.; JACOBS, K.; HAWKINS, H. The impact of crop rotation on soil microbial diversity: A meta-analysis. **Pedobiologia**, v. 59, n. 4, p. 215-223, 2016.

VERMA, P.; YADAV, A. N.; KHANNAM, K. S.; KUMAR, S.; SAXENA, A. K.; SUMAN, A. Molecular diversity and multifarious plant growth promoting attributes of bacilli associated with wheat (*Triticum aestivum* L.) rhizosphere from six diverse agro-ecological zones of India: diversity and plant growth promoting attributes of bacilli. **Journal of Basic Microbiology**, v. 56, p. 44-58, 2016.

VOLK, L. B. S.; COGO, N. P.; STRECK, E. V. Erosão hídrica influenciada por condições físicas de superfície e subsuperfície do solo resultantes do seu manejo, na ausência de cobertura vegetal. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, p. 763-774, 2004.

WANG, K.; ZHANG, L.; LI, J.; PAN, Y.; MENG, L.; XU, T.; ZHANG, C.; LIU, H.; HONG, S.; HUANG, H.; JIANG, J. *Planococcus dechangensis* sp. nov., a moderately halophilic bacterium isolated from saline and alkaline soils in Dechang Township, Zhaodong City, China. **Antonie Van Leeuwenhoek**, v. 107, p. 1075-1083, 2015.

WANG, Y.; TU, C.; CHENG, L.; LI, C.; GENTRY, L.F.; HOYT, G.D.; ZHANG, X.; HU, S. Long-term impact of farming practices on soil organic carbon and nitrogen pools and microbial biomass and activity. **Soil and Tillage Research**, v. 117, p. 8-16, 2011.

WARD, N. L.; CHALLACOMBE, J. F.; JANSSEN, P. H.; HENRISSAT, B.; COUTINHO, P. M.; WU, M.; XIE, G.; HAFT, D. H.; SAIT, M.; BADGER, J.; BARABOTE, R. D.; BRADLEY, B.; BRETTIN, T. S.; BRINKAC, L. M.; BRUCE, D.; CREASY, T.;

DAUGHERTY, S. C.; DAVIDSEN, T. M.; DEBOY, R. T.; DETTER, J. C.; DODSON, R. J.; SCOTT, DURKIN A.; GANAPATHY, A.; GWINN-GIGLIO, M.; HAN, C. S.; KHOURI, H.; KISS, H.; KOTHARI, S. P.; MADUPU, R.; NELSON, K. E.; NELSON, W. C.; PAULSEN, I.; PENN, K.; REN, Q.; ROISOVITZ, M. J.; SELENGUT, J. D.; SHRIVASTAVA, S.; SULLIVAN, S. A.; TAPIA, R.; SUE THOMPSON, L.; WATKINS, K. L.; YANG, Q.; YU, C.; ZAFAR, N.; ZHOU, L.; KUSKE, C. R. Three genomes from the phylum Acidobacteria provide insight into the lifestyles of these microorganisms in soils. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 75, p. 2046-2056, 2009.

WHITEHEAD, T. R.; JOHNSON, C. N.; PATEL, N. B.; COTTA, M. A.; MOORE, E. R. B.; LAWSON, P. A. *Savagea faecisuis* gen. nov., sp. nov., a tylosin and tetracycline-resistant bacterium isolated from a swine-manure storage pit. **Antonie Van Leeuwenhoek**, v. 108, p. 151-161. 2015.

WILLER, H.; SCHLATTER, B.; TRÁVNÍČEK, J.; KEMPER L.; LERNOUD J. **The world of organic agriculture: statistics and emerging trends**. Bonn: Research Institute of Organic Agriculture (FiBL); IFOAM – Organics International, 2020.

YEOMANS, J. C.; BREMNER, J. M. A rapid and precise method for routine determination of organic carbon in soil. **Communications in soil science and plant analysis**, v. 19, n. 13, p. 1467-1476, 1988.

YIN, C.; MUETH, N.; HULBERT, S.; SCHLATTER, D.; PAULITZ, T. C.; SCHROEDER, K.; PRESCOTT A.; DHINGRA, A. Bacterial Communities on Wheat Grown Under Long-Term Conventional Tillage and No-Till in the Pacific Northwest of the United States. **Phytobiomes**, v. 1, n. 2, p. 83-90, 2017.

YOUNG, I. M.; RITZ, K. Tillage, habitat space and function of soil microbes. **Soil and Tillage Research**, v. 53, n. 3-4, p. 201-213, 2000.

YU, Z.; WANG, G.; JIN, J.; LIU, J.; LIU, X. Soil microbial communities are affected more by land use than seasonal variation in restored grassland and cultivated Mollisols in Northeast China. **European Journal of Soil Biology**, v. 47, n. 6, p. 357-363, 2011.

ZAK, D. R., HOLMES, W. E., WHITE, D. C., PEACOCK, A. D., TILMAN, D. Plant diversity, soil microbial communities, and ecosystem function: are there any links? **Ecology**, v. 84, p. 2042-2050, 2003.

ZHOU, Y.; ZHU, H.; YAO, Q. Improving soil fertility and soil functioning in cover cropped agroecosystems with symbiotic microbes. *In: Agro-Environmental Sustainability*. Springer, Cham, 2017. p. 149-171.

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

8. ANEXOS

8.1. Anexo A – Atributos Químicos e Quantificação do DNA Extraído do Solo

Tabela 12. Valores dos atributos químicos e quantificação do DNA extraído do solo por espectrofotômetro (Nano Drop ND-1000 Spectrophotometer - Thermo Fisher Scientific).

Amostra	Na	Ca	Mg	K	H+Al	Al	S	T	V	m	n	pH _{água}	MO	P	K	Corg	Ácidos Nucléicos	A _{260/280}
	----- cmol _c .dm ⁻³ -----						----- % -----					1:2,5	%	--- mg.L ⁻¹ --	%	ng.µL ⁻¹		
Inicial 1	0,05	1,2	1,1	0,01	1,9	0,3	2,41	4,31	56	12,04	1	5,3	4,38	2,00	55	2,54	6,5	2,14
Inicial 2	0,05	1,1	1,3	0,01	4,0	0,2	2,49	6,49	38	8,46	1	5,6	4,12	2,00	55	2,39	6,6	2,20
Inicial 3	0,03	2,4	1,6	0,01	2,8	0,0	4,02	6,82	59	0,00	0	5,9	3,83	3,00	55	2,22	12,0	1,35
Aveia 1	0,08	3,0	1,6	0,01	0,4	0,0	4,69	5,10	92	0,00	2	6,3	2,99	25,22	56	1,73	7,4	1,85
Aveia 2	0,07	3,2	1,4	0,02	2,7	0,0	4,67	7,37	63	0,00	1	5,7	3,67	47,39	69	2,13	9,6	2,02
Aveia 3	0,08	3,2	1,8	0,02	1,0	0,0	5,10	6,07	84	0,00	1	6,0	2,88	49,77	68	1,67	8,3	1,98
Milho SPC 1	0,11	4,0	2,2	0,03	2,0	0,0	6,36	8,36	76	0,00	1	5,5	2,12	23,32	81	1,23	9,2	1,98
Milho SPC 2	0,14	4,3	2,4	0,03	0,7	0,0	6,79	7,46	91	0,00	2	6,1	2,20	73,40	102	1,28	6,8	1,92
Milho SPD 1	0,16	4,0	2,3	0,02	1,1	0,0	6,40	7,50	85	0,00	2	5,9	3,67	58,53	115	2,13	9,0	1,73
Milho SPD 2	0,18	4,6	2,0	0,01	0,8	0,0	6,78	7,58	89	0,00	2	6,0	2,65	-	124	1,54	8,4	2,02
Milho SPD 3	0,16	3,7	2,5	0,01	2,3	0,0	6,35	8,65	73	0,00	2	5,9	2,33	69,68	63	1,35	9,7	1,94
Milho SPC 3	0,15	3,3	2,4	0,02	1,7	0,0	5,88	7,58	78	0,00	2	5,8	2,32	88,27	48	1,35	5,7	2,02
Milho SPD 4	0,14	3,7	2,4	0,02	1,5	0,0	6,21	7,71	81	0,00	2	5,9	2,21	32,51	61	1,28	9,8	1,90
Milho SPC 4	0,15	3,6	2,6	0,03	0,9	0,0	6,29	7,19	87	0,00	2	5,8	2,20	31,76	87	1,28	7,6	1,91
Coquetel 1 SPC 1	0,08	3,07	2,33	0,02	2,85	0,00	5,50	8,36	66	0,00	1	5,94	3,54	25,59	59	2,06	7,3	2,12
Milheto SPC 1	0,08	3,38	0,99	0,02	2,71	0,00	4,47	7,18	62	0,00	1	5,87	2,26	34,14	59	1,31	10,0	1,68
Crotalaria SPC 1	0,09	2,65	2,36	0,02	2,48	0,00	5,12	7,60	67	0,00	1	5,94	2,67	25,59	58	1,55	7,0	2,06
Feijão de P. SPC 1	0,10	2,94	1,66	0,02	2,48	0,00	4,72	7,20	66	0,00	1	5,79	2,08	11,60	69	1,21	7,7	1,91
Coquetel 2 SPC 1	0,11	2,95	2,13	0,02	2,19	0,00	5,21	7,40	70	0,00	1	5,75	2,32	11,60	48	1,34	7,7	1,86
Plantas Esp. SPC 1	0,11	3,34	1,62	0,02	2,08	0,00	5,09	7,17	71	0,00	2	5,85	2,74	20,92	48	1,59	7,1	1,86
Feijão de P. SPD 1	0,13	3,60	2,22	0,02	2,23	0,00	5,97	8,20	73	0,00	2	5,76	2,91	27,92	56	1,69	8,7	1,88
Coquetel 1 SPD 1	0,11	3,45	2,07	0,03	2,08	0,00	5,66	7,74	73	0,00	1	5,96	5,20	27,14	82	3,02	8,3	2,29

Continua...

Continuação da Tabela 12.

Amostra	Na	Ca	Mg	K	H+Al	Al	S	T	V	m	n	pH _{água}	MO	P	K	Corg	Ácidos Nucléicos	A _{260/280}
	----- cmolc.dm ⁻³ -----					----- % -----						1:2,5	%	--- mg.L ⁻¹ --		%	ng.µL ⁻¹	
Plantas Esp. SPD 1	0,12	3,71	2,52	0,02	1,63	0,00	6,37	8,00	80	0,00	1	6,06	3,59	51,24	50	2,08	8,5	1,93
Coquetel 2 SPD 1	0,13	3,43	2,17	0,02	1,67	0,00	5,75	7,42	78	0,00	2	5,80	2,58	17,04	63	1,50	9,3	1,71
Milheto SPD 1	0,13	3,04	2,44	0,02	2,03	0,00	5,63	7,66	74	0,00	2	5,85	2,93	19,37	68	1,70	10,1	1,85
Crotalária SPD 1	0,12	3,90	2,02	0,02	2,21	0,00	6,06	8,27	73	0,00	1	5,76	3,48	13,93	56	2,02	8,9	1,57
Plantas Esp. SPD 2	0,12	3,06	2,59	0,02	2,54	0,00	5,79	8,34	70	0,00	1	5,50	2,54	56,68	68	1,47	9,6	1,80
Coquetel 2 SPD 2	0,13	2,81	2,39	0,02	2,05	0,00	5,35	7,40	72	0,00	2	5,28	2,83	22,48	50	1,64	7,5	2,08
Coquetel 1 SPD 2	0,11	3,22	1,98	0,02	2,85	0,00	5,33	8,19	65	0,00	1	5,13	2,57	21,70	58	1,49	12,0	1,88
Milheto SPD 2	0,10	3,36	2,18	0,02	1,85	0,00	5,66	7,51	75	0,00	1	5,55	3,16	24,81	50	1,83	8,4	1,76
Feijão de P. SPD 2	0,13	3,36	2,64	0,02	3,32	0,00	6,15	9,47	65	0,00	1	5,41	3,58	34,14	64	2,08	8,2	1,71
Crotalária SPD 2	0,13	3,58	2,24	0,02	1,85	0,00	5,97	7,82	76	0,00	2	5,42	3,06	20,92	50	1,78	8,5	1,75
Milheto SPC 2	0,08	2,85	2,36	0,02	2,76	0,00	5,31	8,07	66	0,00	1	5,35	2,86	3,82	53	1,66	8,1	1,93
Crotalária SPC 2	0,12	3,03	1,71	0,02	2,59	0,00	4,88	7,47	65	0,00	2	5,29	3,02	5,38	53	1,75	7,6	1,92
Feijão de P. SPC 2	0,04	2,93	2,55	0,02	2,87	0,00	5,54	8,41	66	0,00	0	4,98	2,54	17,04	55	1,47	7,6	1,82
Coquetel 1 SPC 2	0,08	4,10	2,75	0,02	2,19	0,00	6,95	9,14	76	0,00	1	5,60	2,04	29,47	52	1,18	7,1	1,74
Plantas Esp. SPC 2	0,12	3,27	1,97	0,01	2,62	0,00	5,37	8,00	67	0,00	2	5,60	2,32	33,36	54	1,35	7,2	1,81
Coquetel 2 SPC 2	0,11	3,88	1,50	0,01	2,87	0,00	5,50	8,37	66	0,00	1	5,46	3,39	13,15	42	1,97	9,1	1,77
Milheto SPD 3	0,11	3,62	1,90	0,04	2,59	0,00	5,67	8,26	69	0,00	1	5,47	3,22	13,15	130	1,87	7,9	1,84
Crotalária SPD 3	0,12	3,50	1,96	0,03	3,25	0,00	5,61	8,86	63	0,00	1	5,37	3,09	13,15	97	1,79	7,5	1,78
Coquetel 2 SPD 3	0,12	3,02	2,34	0,02	2,51	0,00	5,50	8,01	69	0,00	1	5,39	3,14	19,37	80	1,82	6,3	2,14
Feijão de P. SPD 3	0,12	2,82	2,28	0,01	3,20	0,00	5,23	8,43	62	0,00	1	5,18	2,65	7,71	53	1,54	6,8	1,63
Plantas Esp. SPD 3	0,12	4,04	2,16	0,02	3,25	0,00	6,34	9,59	66	0,00	1	5,73	3,45	36,47	88	2,00	8,2	1,62
Coquetel 1 SPD 3	0,12	3,25	2,11	0,02	2,71	0,00	5,50	8,21	67	0,00	1	5,46	3,20	13,15	87	1,86	9,4	1,90
Coquetel 2 SPD 4	0,12	3,07	2,13	0,03	3,20	0,00	5,35	8,55	63	0,00	1	5,31	2,95	25,59	106	1,71	7,7	2,17
Milheto SPD 4	0,10	3,01	2,26	0,02	2,21	0,00	5,39	7,60	71	0,00	1	5,42	2,55	20,92	68	1,48	9,8	1,72
Plantas Esp. SPD 4	0,11	3,41	1,83	0,01	2,00	0,00	5,36	7,36	73	0,00	1	5,60	3,05	12,37	55	1,77	10,0	1,72
Feijão de P. SPD 4	0,10	4,13	2,31	0,03	2,71	0,00	6,57	9,27	71	0,00	1	5,67	3,38	27,92	97	1,96	8,1	1,96
Crotalária SPD 4	0,14	3,00	2,36	0,01	2,00	0,00	5,51	7,51	73	0,00	2	5,60	2,60	30,25	57	1,51	10,1	1,71
Coquetel 1 SPD 4	0,16	3,30	2,48	0,01	2,71	0,00	5,95	8,66	69	0,00	2	5,55	3,50	31,03	53	2,03	10,4	1,75

Continua...

Continuação da Tabela 12.

Amostra	Na	Ca	Mg	K	H+Al	Al	S	T	V	m	n	pH _{água}	MO	P	K	Corg	Ácidos Nucléicos	A _{260/280}
	----- cmolc.dm ⁻³ -----							----- % -----			1:2,5	%	--- mg.L ⁻¹ --		%	ng.µL ⁻¹		
Coquetel 2 SPC 3	0,10	3,42	0,39	0,02	2,59	0,00	3,93	6,52	60	0,00	2	5,48	2,77	7,71	73	1,61	7,6	1,74
Feijão de P. SPC 3	0,10	2,95	2,11	0,02	2,57	0,00	5,18	7,76	67	0,00	1	5,42	2,35	7,71	86	1,36	8,9	1,85
Coquetel 1 SPC 3	0,10	3,47	2,03	0,03	2,71	0,00	5,63	8,33	68	0,00	1	5,41	3,10	1,00	109	1,80	9,5	1,57
Crotalária SPC 3	0,10	3,35	2,40	0,02	3,07	0,00	5,87	8,94	66	0,00	1	5,45	2,95	1,00	90	1,71	6,7	1,62
Plantas Esp. SPC 3	0,10	3,32	1,96	0,03	2,71	0,00	5,41	8,12	67	0,00	1	5,64	2,26	8,49	118	1,31	10,2	1,78
Milheto SPC 3	0,09	3,52	1,48	0,04	3,07	0,00	5,13	8,20	63	0,00	1	5,59	2,84	3,05	133	1,65	5,1	1,89
Coquetel 1 SPC 4	0,08	3,10	1,68	0,03	2,71	0,00	4,89	7,60	64	0,00	1	5,56	2,84	2,27	119	1,65	9,6	1,66
Plantas Esp. SPC 4	0,09	4,08	2,12	0,05	2,21	0,00	6,34	8,55	74	0,00	1	5,76	2,59	20,92	180	1,50	11,2	1,89
Coquetel 2 SPC 4	0,10	4,16	2,33	0,04	1,88	0,00	6,63	8,51	78	0,00	1	5,95	3,25	20,92	146	1,88	11,3	1,77
Milheto SPC 4	0,09	4,48	2,25	0,04	1,55	0,00	6,86	8,41	82	0,00	1	6,05	2,33	15,48	149	1,35	11,3	1,81
Crotalária SPC 4	0,10	6,81	2,06	0,02	0,89	0,00	8,99	9,89	91	0,00	1	6,78	2,92	34,14	94	1,70	9,5	1,86
Feijão de P. SPC 4	0,59	4,85	2,68	0,01	1,83	0,00	8,13	9,96	82	0,00	6	6,22	3,30	45,80	32	1,91	17,8	1,82

A_{260/280} = Razão entre as leituras da absorvância a 260 nm e 280 nm.

8.2. Anexo B – Eletroforese em Gel de Agarose a 0,8%

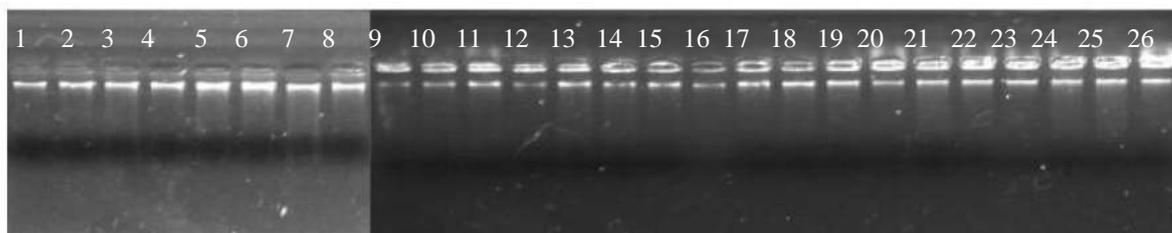


Figura 20. Eletroforese em gel de agarose 0,8% do DNA total extraído das amostras de solos. (1: Inicial 1, 2: Inicial 2, 3: Inicial 3, 4: Aveia 1, 5: Aveia 2, 6: Aveia 3, 7: Milho SPC 1, 8: Milho SPC 2, 9: Milho SPD 1, 10: Milho SPD 2, 11: Milho SPD 3, 12: Milho SPC 3, 13: Milho SPD 4, 14: Milho SPC 4, 15: Coquetel 1 SPC 1, 16: Milheto SPC 1, 17: Crotalária SPC 1, 18: Feijão de P. SPC 1, 19: Coquetel 2 SPC 1, 20: Plantas Esp. SPC 1, 21: Feijão de P. SPD 1, 22: Coquetel 1 SPD 1, 23: Plantas Esp. SPD 1, 24: Coquetel 2 SPD 1, 25: Milheto SPD 1, 26: Crotalária SPD 1).



Figura 21. Eletroforese em gel de agarose 0,8% do DNA total extraído das amostras de solos. (1: Plantas Esp. SPD 2, 2: Coquetel 2 SPD 2, 3: Coquetel 1 SPD 2, 4: Milheto SPD 2, 5: Feijão de P. SPD 2, 6: Crotalária SPD 2, 7: Milheto SPC 2, 8: Crotalária SPC 2, 9: Feijão de P. SPC 2, 10: Coquetel 1 SPC 2, 11: Plantas Esp. SPC 2, 12: Coquetel 2 SPC 2, 13: Milheto SPD 3, 14: Crotalária SPD 3, 15: Coquetel 2 SPD 3, 16: Feijão de P. SPD 3, 17: Plantas Esp. SPD 3, 18: Coquetel 1 SPD 3, 19: Coquetel 2 SPD 4, 20: Milheto SPD 4, 21: Plantas Esp. SPD 4, 22: Feijão de P. SPD 4, 23: Crotalária SPD 4, 24: Coquetel 1 SPD 4, 25: Coquetel 2 SPC 3, 26: Feijão de P. SPC 3, 27: Coquetel 1 SPC 3, 28: Crotalária SPC 3, 29: Plantas Esp. SPC 3, 30: Milheto SPC 3, 31: Coquetel 1 SPC 4, 32: Plantas Esp. SPC 4, 33: Coquetel 2 SPC 4, 34: Milheto SPC 4, 35: Crotalária SPC 4, 36: Feijão de P. SPC 4).

8.3. Anexo C – Dados Brutos de Alfa-Diversidade por Amostra

Tabela 13. Dados brutos de alfa-diversidade microbiana por amostra.

	OTUs	Chao1	Ace	Shannon	Simpson
Inicial 1	3049	4282	4701	5,43	0,036
Inicial 2	2981	4336	5748	5,86	0,017
Inicial 3	2754	3820	4141	5,77	0,023
Aveia 1	3752	4894	5466	6,49	0,007
Aveia 2	3229	4692	6251	5,85	0,018
Aveia 3	3286	4599	5122	6,06	0,015
Milho SPC 1	4229	5440	5915	6,82	0,005
Milho SPC 2	3827	5044	5525	6,72	0,004
Milho SPC 3	3503	4798	5282	6,53	0,006

Continua...

Continuação da Tabela 13.

	OTUs	Chao1	Ace	Shannon	Simpson
Milho SPC 4	4035	5442	5890	6,83	0,004
Milho SPD 1	3961	5261	5636	6,70	0,006
Milho SPD 2	3477	4752	5250	6,24	0,010
Milho SPD 3	3419	4629	5061	6,59	0,004
Milho SPD 4	4036	5633	6074	6,77	0,004
Milheto SPC 1	4708	7380	9463	7,19	0,0023
Milheto SPC 2	4590	7204	9547	7,10	0,0030
Milheto SPC 3	5206	8087	10810	7,32	0,0024
Milheto SPC 4	4387	6546	8624	7,08	0,0026
Milheto SPD 1	3960	6380	8512	6,90	0,0034
Milheto SPD 2	4077	6334	8464	6,91	0,0030
Milheto SPD 3	4481	6956	7522	7,11	0,0027
Milheto SPD 4	4363	7012	9723	6,99	0,0030
Crotalária SPC 1	4742	7656	10219	7,27	0,0020
Crotalária SPC 2	4480	7307	9992	6,98	0,0033
Crotalária SPC 3	4425	6760	8934	7,00	0,0032
Crotalária SPC 4	4191	5988	6566	7,03	0,0028
Crotalária SPD 1	4356	7153	9642	6,97	0,0034
Crotalária SPD 2	4324	7048	9376	6,93	0,0033
Crotalária SPD 3	4207	6622	8393	7,01	0,0027
Crotalária SPD 4	3625	6031	8313	6,20	0,0139
F. de Porco SPC 1	4182	6778	9050	6,94	0,0033
F. de Porco SPC 2	4578	7090	9540	7,06	0,0031
F. de Porco SPC 3	4421	7267	9912	7,02	0,0028
F. de Porco SPC 4	3762	5976	8078	6,64	0,0054
F. de Porco SPD 1	4109	6534	8784	6,94	0,0029
F. de Porco SPD 2	4767	7897	10776	7,21	0,0022
F. de Porco SPD 3	4605	7495	10656	6,95	0,0044
F. de Porco SPD 4	4694	7893	10656	7,05	0,0035
Coquetel 1 SPC 1	4704	7456	9665	7,21	0,0022
Coquetel 1 SPC 2	4549	6983	9150	7,17	0,0025
Coquetel 1 SPC 3	4281	7193	10050	6,83	0,0051
Coquetel 1 SPC 4	4219	6606	8807	6,87	0,0044
Coquetel 1 SPD 1	4402	7218	9927	7,09	0,0025
Coquetel 1 SPD 2	4026	6426	8759	6,82	0,0040
Coquetel 1 SPD 3	4814	7636	10365	7,15	0,0028
Coquetel 1 SPD 4	3877	6303	8442	6,86	0,0034
Coquetel 2 SPC 1	4363	7184	9631	7,03	0,0028
Coquetel 2 SPC 2	4322	6888	9163	6,87	0,0044
Coquetel 2 SPC 3	3907	6059	7800	6,73	0,0047
Coquetel 2 SPC 4	4673	7045	9357	7,23	0,0022
Coquetel 2 SPD 1	4300	6807	8989	7,06	0,0027
Coquetel 2 SPD 2	4367	6686	7156	7,06	0,0028
Coquetel 2 SPD 3	4521	6983	9459	7,03	0,0034
Coquetel 2 SPD 4	4976	7817	10690	7,23	0,0027
Plantas esp. SPC 1	4590	7034	9283	7,25	0,0019
Plantas esp. SPC 2	5283	8292	11013	7,40	0,0019
Plantas esp. SPC 3	5222	8099	11161	7,26	0,0027
Plantas esp. SPC 4	4758	7162	9445	7,21	0,0025
Plantas esp. SPD 1	4481	6916	8950	6,96	0,0062
Plantas esp. SPD 2	4549	7316	9801	7,10	0,0027
Plantas esp. SPD 3	4605	7243	9578	7,17	0,0022
Plantas esp. SPD 4	5131	8030	10632	7,32	0,0023