

**Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”**

Estruturação do microbioma do solo por meio de culturas de cobertura

Caio César Gomes Freitas

Dissertação apresentada para obtenção do título de Mestre em Ciências. Área de concentração: Solos e Nutrição de Plantas

**Piracicaba
2020**

Caio César Gomes Freitas
Engenheiro Agrônomo

Estruturação do microbioma do solo por meio de culturas de cobertura
versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 6018 de 2011

Orientador:
Prof. Dr. **FERNANDO DINI ANDREOTE**

Dissertação apresentada para obtenção do título de Mestre
em Ciências. Área de concentração: Solos e Nutrição de
Plantas

Piracicaba
2020

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
DIVISÃO DE BIBLIOTECA – DIBD/ESALQ/USP

Freitas, Caio César Gomes
Estruturação do microbioma do solo por meio de culturas de cobertura / Caio César Gomes Freitas. -- versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 6018 de 2011. -- Piracicaba, 2020.

78 p.

Dissertação (Mestrado) -- USP / Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz".

1. Atividade enzimática 2. Genes funcionais 3. Sucessões 4. Produtividade da soja I. Título

*A minha professora, orientadora, conselheira, incentivadora, amiga e grande exemplo de vida, **Júlia Kuklinsky-Sobral**, em memória.*

DEDICO

*Ao meu pai, **José Lucinaldo**, grande incentivador e exemplo para seguir trilhando este caminho, e a minha mãe, **Maria do Socorro**, grande responsável em deixar essa vida cheia de desafios mais leve, com todo seu carinho e ternura.*

OFEREÇO

AGRADECIMENTOS

À Deus, pela saúde e por proporcionar o encontro com pessoas muito especiais, desde sempre, que são fundamentais na caminhada.

À minha família, meu pai José Lucinaldo, por sempre educar da maneira mais precisa e atenciosa, que é através do exemplo, minha mãe Maria do Socorro, uma pessoa com uma luz muito especial, que exala amor e bondade, de maneira simples e cativante, aos meus irmãos, Caique e Catarine, por toda uma infância e a certeza de um sorriso e abraço fraterno na volta para casa, a Tatiane, uma nova irmã, que entrou em nossa família com valores muito nobres e com o nosso maior presente, o pequeno Davi, meu xodó, que com tão pouca idade, demonstra a sua maneira, o que é de mais precioso na vida. Amo vocês!

Ao professor Fernando Dini Andreote, pela ajuda, pela confiança, pelos ensinamentos e por todos os subsídios para o desenvolvimento deste trabalho.

Aos técnicos do Laboratório de Microbiologia do Solo, Denise Mescolotti, Luiz Fernando Baldesin e Sonia Pires por toda a disponibilidade, paciência e suporte para os trabalhos no laboratório.

Aos amigos e colegas de laboratório, Alessandra Rigotto, Alexandre Pedrinho, Ana Luiza, Antônio Marcos, Armando Dias, Arthur Prudêncio, Bruna Arruda, Bruna Bacco, Caio Vinícius, Cátia Simon, Danielle Santos, Felipe Bozza, Felipe Martins, Henrique Feiler, Julia Capozzi, Kelly Alves, Luana Bresciane, Luiz Gustavo, Maiele Cintra, Marcos Teixeira, Simone Cotta, Victor Lucas e Yasmin Florentino, pelo apoio e convívio.

Aos amigos Yasmin (Jasmin), por todos os conselhos e disponibilidade, Felipe “negão”, por toda a parceria e ajuda inestimável na condução do experimento, Antônio (Tony) pela precisa ajuda com as análises estatísticas, Sonia, por toda disponibilidade e imensurável ajuda com as análises moleculares, Fernandinho por toda disponibilidade e suporte, resolvendo tudo o que se pode imaginar. Vocês foram fundamentais para este trabalho.

Aos amigos da querida UAG, Adijailton (Dijinha) e Pedro (Pepeu), além da minha nação PETzeira, Marcos (Marco John), Marcio “negão”, João Pedro, Luciane, Shilton e Jasmin, por toda a troca que sempre proporcionou bons momentos, mantendo vivo o espírito que nos trouxe até aqui.

Ao DVATCOM pela oportunidade de moradia na Vila Estudantil “melhor lugar de Piracicaba”, onde morei em praticamente todas as casas, sempre ao lado do fiel escudeiro Marco John, grande amigo de toda uma jornada, que sempre se fez presente, além do convívio com outras pessoas muito queridas, como o grande Netinho (Negão), Marcio “negão”, Lukas (Mano), além de Diana, Yajahaira, Brenda e Mariana (As Panteras). De todos guardo uma bela amizade.

Aos amigos feitos em Piracicaba, sejam eles da Esalq, da Vila, do futebol, do vôlei, das festas latinas, em especial a querida Lina, sempre alegre e atenciosa com os seus.

Aos “encontros e desencontros”, dos quais guardo imenso carinho, proporcionando um pouco de poesia em bons momentos vividos durante esse período do Metrado.

Por fim, fica o agradecimento, em memória, à querida Professora Júlia, amiga, incentivadora, conselheira. Um grande exemplo de vida, que se foi no dia 10 de setembro de 2020, deixando muita saudade e um enorme legado que vai muito, muuito, muuuuuuito além do que se pode verificar no lattes. Ficam todos os momentos vividos e a certeza de ter sido um privilegiado em ter trocado com um ser humano tão especial. Me tornarei uma pessoa realizada se algum dia conseguir fazer pelo menos para alguns, o que a professora Júlia conseguiu fazer por tantos.

*Don't worry about a thing
'Cause every little thing
Gonna be all right*

Bob Marley - "Three Little Birds"

SUMÁRIO

RESUMO	8
ABSTRACT	9
1 INTRODUÇÃO	11
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	13
2.1 CULTIVO DA SOJA	13
2.2 CULTURAS DE COBERTURA	14
2.3 MICROBIOMA DOS SOLOS AGRÍCOLAS	15
2.3.1 FIXAÇÃO BIOLÓGICA DO NITROGÊNIO (FBN)	16
2.3.2 SOLUBILIZADORES DE P	17
3 HIPÓTESES	19
4 OBJETIVOS	21
4.1 OBJETIVO GERAL	21
4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	21
5 MATERIAL E MÉTODOS	23
5.1 AMBIENTE EXPERIMENTAL	23
5.2 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E TRATAMENTOS	23
5.3 CONDUÇÃO DO EXPERIMENTO E AMOSTRAGEM	24
5.4 ANÁLISES QUÍMICAS DO SOLO	25
5.5 COMPONENTES DE RENDIMENTO NA PRODUTIVIDADE DA SOJA	25
5.6 ANÁLISES DE ATIVIDADE BIOLÓGICA	26
5.6.1 ATIVIDADE DA ENZIMA B-GLUCOSIDASE EM AMOSTRAS DE SOLO	26
5.6.2 ATIVIDADE DA FOSFATASE ÁCIDA EM AMOSTRAS DE SOLO	26
5.6.3 ATIVIDADE DA ARILSULFATASE EM AMOSTRAS DE SOLO	27
5.7 METODOLOGIAS MOLECULARES	27
5.7.1 EXTRAÇÃO DE DNA TOTAL	27
5.7.2 ABUNDÂNCIA DO GENE <i>NIFH</i>	27
5.7.3 ABUNDÂNCIA DO GENE <i>PHOD</i>	28
5.7.4 ESTRUTURA DA COMUNIDADE BACTERIANA	28
5.7.5 ESTRUTURA DA COMUNIDADE FÚNGICA	29
5.8 ANÁLISE DOS DADOS	30
6 RESULTADOS E DISCUSSÃO	31
6.1 ATIVIDADE DA ENZIMA B-GLUCOSIDASE	31
6.2 ATIVIDADE DA ENZIMA FOSFATASE ÁCIDA	35
6.3 ATIVIDADE DA ENZIMA ARILSULFATASE	39

6.4 ABUNDÂNCIA DO GENE <i>NIFH</i>	43
6.5 ABUNDÂNCIA DO GENE <i>PHOD</i>	48
6.6 COMPONENTES DE RENDIMENTO NA PRODUTIVIDADE DA SOJA	51
6.7 ESTRUTURA DA COMUNIDADE BACTERIANA.....	54
6.8 ESTRUTURA DA COMUNIDADE FÚNGICA.....	56
7 CONSIDERAÇÕES FINAIS	59
REFERÊNCIAS	61
APÊNDICES	77

RESUMO

Estruturação do microbioma do solo por meio de culturas de cobertura

As culturas de cobertura têm potencial para moldar a estruturação do microbioma do solo. No entanto, este aspecto do uso de plantas de cobertura carece de estudos para que tenhamos uma melhor compreensão das formas que estas plantas atuam sobre a estruturação do microbioma e sua capacidade em promover maior abundância e atividade microbiana no solo. A partir daí, buscamos avaliar modificações na microbiota do solo, em resposta a sucessões de cultivo com culturas de cobertura. Para tanto, foi realizado experimento em casa de vegetação, com solo coletado em área subdividida em dois tipos de manejo, com características distintas, no qual um deles é composto por um solo sob vegetação nativa e o outro consiste num solo submetido ao manejo agrícola, o que fez com que os tratamentos fossem analisados em duas diferentes situações. O experimento compreendeu 12 tratamentos distribuídos em três ciclos, onde nos oito primeiros tratamentos dos dois ciclos iniciais, houve uma sucessão entre as seguintes espécies de plantas de cobertura: Trigo mourisco (*Fagopyrum esculentum*), *Crotalaria juncea*, *Crotalaria spectabilis*, Milheto (*Pennisetum glaucum*) e *Urochloa ruziziensis*. As *Crotalarias* e o trigo mourisco compuseram o primeiro ciclo. O segundo ciclo foi composto pelo milheto, *U. ruziziensis* e trigo mourisco. Neste segundo ciclo, as gramíneas sucederam todas as coberturas e o trigo mourisco sucedeu os tratamentos do qual ele não fez parte no primeiro ciclo. Os demais tratamentos foram o MIX, que contou com um consórcio de plantas de cobertura nos dois ciclos iniciais, e os tratamentos SC, VE e SJ, que compreenderam os tratamentos com solo sem cobertura, vegetação espontânea e plantas de soja, respectivamente, nos dois primeiros ciclos. No terceiro ciclo, os vasos de todos os tratamentos foram cultivados com a cultura da soja, no intuito de verificar um provável efeito das coberturas dos ciclos anteriores na produtividade da cultura. As mudanças na microbiota do solo foram avaliadas por meio da atividade das enzimas β -glucosidase, fosfatase ácida e arilsulfatase, ao final de cada ciclo. A abundância dos genes funcionais *nifH* (atribuído aos fixadores de N) e *phoD* (atribuído aos solubilizadores de Po) foram avaliadas por meio da PCR quantitativa em tempo real (qPCR) ao final dos dois primeiros ciclos. Mudanças na estrutura da comunidade bacteriana e fúngica foram acessadas por meio da análise de T-RFLP ao final do segundo ciclo. No término do terceiro ciclo foram avaliadas características quantitativas quanto ao desempenho agrônomo das plantas de soja quando atingiram o estágio fenológico R8. As sucessões de culturas de cobertura proporcionaram maiores atividades da β -glucosidase, fosfatase ácida e arilsulfatase no solo. As plantas de cobertura contribuíram para maior abundância dos genes funcionais, com destaque para o tratamento MIX que promoveu um efeito acumulado que proporcionou valores superiores de log de *nifH* por grama de solo em relação aos demais tratamentos. As sucessões com plantas de cobertura modificaram a estrutura da comunidade bacteriana e fúngica do solo. A estruturação diferencial no microbioma do solo proporcionada pelas sucessões de culturas de cobertura, contribuíram com o desenvolvimento das plantas de soja, com destaque na estimativa de produtividade para o tratamento com a sucessão de *C. juncea* e milheto no solo advindo de área com vegetação nativa, e para os tratamentos com a sucessão de *C. juncea* e trigo mourisco, *C. juncea* e milheto, *C. spectabilis* e *U. ruziziensis* e MIX no solo advindo de área submetida ao manejo agrícola. Se bem manejadas, as culturas de cobertura têm capacidade de moldar o microbioma do solo, melhorando seus atributos, com potencial para incrementar a produtividade da soja.

Palavras-chave: Atividade enzimática; Genes funcionais; Sucessões; Produtividade da soja

ABSTRACT

Structuring the soil microbiome using cover crops

Cover crops have the potential to shape the structure of the soil microbiome. However, this aspect of the use of cover crops needs studies so that we have a better understanding of the ways that these plants act on the structuring of the microbiome and its ability to promote greater abundance and microbial activity in the soil. From there, we sought to evaluate changes in the soil microbiota, in response to cultivation successions with cover crops. For this purpose, an experiment was carried out in a greenhouse, with soil collected in an area divided into two types of management, with different characteristics, in which one is composed of soil under native vegetation and the other consists of soil subjected to agricultural management, which caused the treatments to be analyzed in two different situations. The experiment comprised 12 treatments distributed in three cycles, where in the first eight treatments of the initial two cycles, there was a succession between the following species of cover plants: Buckwheat (*Fagopyrum esculentum*), *Crotalaria juncea*, *Crotalaria spectabilis*, Millet (*Pennisetum glaucum*) and *Urochloa ruziziensis*. *Crotalaria*s and buckwheat comprised the first cycle. The second cycle was composed of millet, *U. ruziziensis* and buckwheat. In this second cycle, the grasses followed all coverages and the buckwheat followed the treatments of which he was not part of the first cycle. The other treatments were MIX, which had a consortium of cover plants in the two initial cycles, and the treatments SC, VE and SJ, which comprised treatments with soil without cover, spontaneous vegetation and soy plants, respectively, in the two first cycles. In the third cycle, the pots of all treatments were grown with the soybean crop, in order to verify a likely effect of the coverages from the previous cycles on the crop productivity. The changes in the soil microbiota were evaluated through the activity of the enzymes β -glucosidase, acid phosphatase and arylsulfatase, at the end of each cycle. The abundance of the functional genes *nifH* (assigned to N fixers) and *phoD* (assigned to Po solubilizers) were evaluated using real-time quantitative PCR (qPCR) at the end of the first two cycles. Changes in the structure of the bacterial and fungal community were accessed through the analysis of T-RFLP at the end of the second cycle. At the end of the third cycle quantitative characteristics were evaluated regarding the agronomic performance of soybean plants when they reached the phenological stage R8. The succession of cover crops provided greater activities of β -glucosidase, acid phosphatase and arylsulfatase in the soil. Coverage plants contributed to a greater abundance of functional genes, with emphasis on the MIX treatment, which promoted an accumulated effect that provided higher values of *nifH* log per gram of soil compared to the other treatments. The succession with cover crops modified the structure of the bacterial and fungal community of the soil. The differential structure in the soil microbiome provided by the succession of cover crops, contributed to the development of soybean plants, with emphasis on the estimate of productivity for the treatment with the succession of *C. juncea* and millet in the soil coming from an area with native vegetation, and for treatments with the succession of *C. juncea* and buckwheat, *C. juncea* and millet, *C. spectabilis* and *U. ruziziensis* and MIX in the soil coming from an area subjected to agricultural management. If properly managed, cover crops are able to shape the soil microbiome, improving its attributes, with the potential to increase soybean productivity.

Keywords: Enzymatic activity; Functional genes; Successions; Soybean productivity

1 INTRODUÇÃO

O setor agrícola é uma das atividades mais importantes da economia brasileira (BARROS; CASTRO, 2017). Atualmente todas as regiões do Brasil têm um percentual de sua produção destinada à exportação, com destaque para commodities como a soja, o que colabora para balança comercial do país (FARIAS, ALMEIDA, 2020). Contudo, parte desta produção está atrelada ao modelo de agricultura convencional, que tem como uma de suas características a monocultura ou a sucessão de culturas (CERQUEIRA, 2018; FARIAS, ALMEIDA, 2020). Este sistema de produção exerce uma pressão sobre o uso da terra, tendo como consequência a longo prazo um declínio na produtividade, além de promover uma exacerbada exploração dos recursos naturais (DJAGBA et al., 2019). Tal agricultura é caracterizada por práticas intensivas, as quais afetam serviços ecossistêmicos essenciais aos seres humanos e ao meio ambiente (BEULE et al., 2019).

Diante deste cenário, é necessária a transição do modo de se produzir convencionalmente para manejos alternativos, que contribuam para a melhoria ou manutenção da qualidade do solo, de forma que incremente a produtividade agrícola e diminua os efeitos negativos para o ambiente como um todo. Nesse sentido, um componente de manejo que vem sendo estudado é o uso de plantas de cobertura, as quais são promissoras para promoverem um melhor equilíbrio do solo (SHARMA et al., 2018).

Plantas de cobertura em sistemas de rotação e sucessão de culturas estão sendo utilizadas em grandes centros agrícolas (DO NASCIMENTO BENDINI et al., 2019). Essas plantas apresentam benefícios em vários âmbitos, tendo seus efeitos atrelados diretamente a melhorias nos aspectos físicos e químicos do solo (ARBUCKLE; ROESCH-MCNALLY, 2015). Contudo, supõe-se que os resultados na melhoria da qualidade do solo proporcionado pelas culturas de cobertura está diretamente ligado a capacidade destas em moldar o microbioma em que estão inseridas, tanto pelo efeito da decomposição destas plantas quanto por seus exsudatos radiculares (FINNEY; BUYER; KAYE, 2017; SIMON et al., 2019).

A microbiota do solo é importante para manter a estrutura física e fundamental nos processos químicos do solo (CARRILLO-SAUCEDO; GAVITO, 2020; JIA et al., 2020). Os serviços prestados pelos micro-organismos do solo são determinantes para obtenção de êxito na agricultura, estando diretamente relacionados a uma boa condução do sistema agrícola. Neste sentido, alguns indicadores microbianos são altamente sensíveis a mudanças no manejo, como é o caso da atividade enzimática, que pode ter sua quantificação totalmente associada a um bioindicador de qualidade do solo (SILVA ARAGÃO et al., 2020). A sensibilidade das comunidades microbianas a mudanças no manejo provoca rearranjos da microbiota do solo que

podem ser detectadas através de técnicas de fingerprinting, como o T-RFLP, que descreve diferenças na estruturação da comunidade microbiana (THIES, 2007).

As funções desempenhadas pelos micro-organismos têm impacto direto na disponibilidade de nutrientes, contribuindo significativamente com a fertilidade do solo (MAHAWAR; PRASANNA, 2018). O Nitrogênio (N) e o fósforo (P) são elementos essenciais para as plantas e ambos precisam ser bem manejados no ambiente agrícola (KANTER; BROWNLIE, 2019). Grupos específicos de micro-organismos são eficazes na liberação destes nutrientes no solo, cada grupo com sua particularidade e mecanismo, apresentando genes característicos. O *nifH* é o gene funcional que codifica a enzima nitrogenase, presente em grupos microbianos que atuam no ciclo biogeoquímico do N. O *phoD* é um gene específico presente em bactérias que secretam enzimas denominadas fosfatases, as quais atuam na mineralização do elemento P, tornando-o solúvel (FRASER et al., 2015; GLACIELA KASCHUK, 2017).

Diante do exposto, foi realizado um experimento em casa de vegetação para verificar o efeito do cultivo de plantas de cobertura sobre o microbioma do solo, acessando diferenciações em suas estruturações, atividade enzimática e flutuações na abundância sobre grupos microbianos ligados a disponibilização de N e P. Por fim, buscou-se observar o impacto destas alterações sobre o desenvolvimento e a produtividade da cultura da soja.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Cultivo da soja

A cultura da soja (*Glycine max* (L.) Merrill) é uma das principais commodities produzidas no mundo (MASUDA; GOLDSMITH, 2009). O Brasil se destaca por ser um dos maiores produtores desse grão, com produção estimada em 120,3 milhões de toneladas para a safra 2019/2020 (CONAB, 2020). A sojicultura se consolidou como um dos mercados mais influentes do agronegócio brasileiro, algo que se deve a sua versátil utilização, que permite tanto um consumo humano, como animal, além do seu potencial uso na produção de biocombustível (CÂMARA, 2015).

O protagonismo da soja no agronegócio estimulou sua produção em alta escala, com o uso das mais variadas técnicas de produção, promovendo uma agricultura de alta intensidade, característica do cultivo convencional, centrada principalmente na produtividade, tendo a monocultura ou a sucessão de culturas como uma de suas principais características (OLIVEIRA; HECHT, 2016). A longo prazo, este tipo de prática promove um intensivo uso do solo, comprometendo a qualidade deste, provocando erosão, compactação e depleção da matéria orgânica, comprometimento dos fluxos de C e N, e dificuldade no controle de pragas e doenças. Isto leva ao uso exagerado de pesticidas e fertilizantes minerais, provocando assim, a degradação do solo tanto nos aspectos químicos, físicos, como biológicos (TANVEER et al., 2017; DEUSCHLE et al., 2019; STROM et al., 2019).

Como a soja não pode ser produzida ao longo de todo o ano, os grandes centros brasileiros que trabalham com sojicultura aplicam na maioria de seus sistemas de produção um modelo pouco diversificado, com a sucessão soja/milho, soja/algodão ou soja/trigo, usando das ferramentas providas pela agricultura convencional, intensificando o uso da terra (YOKOYAMA et al., 2019; RICHETTI; LAMAS, 2019). Para uma maior sustentabilidade no sistema agropecuário, uma perspectiva mais conservacionista deve ser aplicada na sojicultura, de modo que técnicas e tecnologias preservem ou recuperem recursos naturais promovendo um maior equilíbrio no sistema e qualidade nos atributos do solo.

O uso de plantas de cobertura em manejos de rotação, sucessão e ou consorciação de culturas é uma prática conservacionista promissora (PEREIRA et al., 2017; SANCHEZ et al., 2019). No decorrer dos anos, as plantas de cobertura passaram a ser incrementadas nos sistemas agrícolas, sendo implantadas em janelas de entressafra, fazendo parte do calendário agrícola em grandes centros de produção que se destacam na sojicultura, como no Sul e no Cerrado brasileiro (BENDINI et al., 2019).

É necessário compreender como as culturas de cobertura influenciam nos atributos do solo, para que se possa desenhar um manejo integrado que proporcione tanto equilíbrio no sistema quanto aumento na produtividade da soja.

2.2 Culturas de cobertura

Os relatos dos cultivos de culturas de cobertura vêm desde a antiguidade. Segundo Martin (2012), as plantas de cobertura vinham sendo cultivadas nas antigas China e Índia a mais de 3.000 anos, e sua devida importância foi estabelecida no século 1, em Roma, quando o então escritor agrônomo, Columella, relatou em seus trabalhos que a planta de cobertura tremoço, do gênero *Lupinus*, poderia ser usada para melhorar a fertilidade dos solos considerados pobres.

As culturas de cobertura são plantas que têm a finalidade inicial de cobrir o solo (HAIDER; CHEEMA; FAROOQ, 2019). Ferreira e colaboradores (2000) afirmaram que em se tratando de funcionalidade, qualquer espécie vegetal pode ser determinada como uma planta de cobertura. Entretanto, para estas serem prioritárias em sistemas de produção, devem seguir alguns requisitos que conceitualmente passaram a caracterizar as espécies reconhecidas como plantas de cobertura. Alguns desses requisitos são: rusticidade e agressividade; sistema radicular profundo; elevada produção de massa seca; velocidade de crescimento e cobertura do solo; resistência a maioria dos patógenos causadores de problemas radiculares nas plantas de interesse econômico; baixo custo e facilidade na produção.

São diversas as espécies de culturas de cobertura, as quais são cultivadas nas mais diferentes regiões. Com o propósito de classificação, as plantas de cobertura são agrupadas conforme a época de cultivo, em plantas de primavera/verão e plantas de outono/inverno (CALEGARI, 2016). Em linhas gerais, pode-se dizer que as culturas de cobertura protegem o solo contra a erosão, aumentam a capacidade de infiltração de água, promovem a reciclagem de nutrientes em camadas mais profundas, contribuem no controle de ervas daninhas, aumentam a CTC, a soma de bases e o teor de matéria orgânica do solo, além de quebrarem ciclos de propagação de agentes causais de danos às plantas cultivadas (NOURI et al., 2019; ANTOSH et al., 2020; BOWERS et al., 2020; BÜCHI et al., 2020).

O uso das plantas de cobertura nos sistemas agrícolas está atrelado as práticas de rotação, sucessão e ou consorciação de culturas (SCOPEL et al., 2013). Nestes manejos, a colheita das plantas de cobertura não é o objetivo, e o investimento nestas tem como propósito melhorar as propriedades do solo, para que a cultura comercial que será cultivada em sequência ou de maneira consorciada, usufrua da melhoria no solo proporcionado pelas culturas de cobertura (HAIDER; CHEEMA; FAROOQ, 2019).

Algumas características são comuns para as culturas de cobertura, contudo, muitas destas apresentam peculiaridades que podem se sobressair em quesitos mais específicos. As leguminosas, por exemplo, que são da família das Fabáceas, contribuem para uma redução na utilização de insumos nitrogenados, por atuarem em simbiose com bactérias fixadoras de N (ORDÓÑEZ-FERNÁNDEZ et al., 2018). As poáceas são excelentes para estruturação do solo, devido seu extenso e volumoso sistema radicular, além de aumentarem significativamente o aporte de matéria orgânica no solo, o que contribui para os níveis de biomassa microbiana no sistema (TANAKA et al., 2019; HUANG et al., 2020). Essas particularidades são determinantes na escolha de que espécie utilizar num sistema produtivo.

As culturas de cobertura apresentam grande potencial na modulação da comunidade microbiana do solo (BRENNAN; ACOSTA-MARTINEZ, 2017). Segundo Yang e colaboradores (2019a) essa capacidade está atrelada em decorrência do que é liberado na decomposição dessas plantas, além do efeito de seus exsudados radiculares, que são ricos em aminoácidos, ácidos carboxílicos, compostos fenólicos, entre outras fontes de carbono, que influenciam diretamente a composição das comunidades microbianas do solo. Essa capacidade das culturas de cobertura em moldar o microbioma do solo potencializa ainda mais seu uso nos sistemas agrícolas, devido os diversos serviços agroecossistêmico prestados pelos micro-organismos do solo.

No entanto, este aspecto do uso de plantas de cobertura carece de estudos para que tenhamos uma melhor compreensão das formas que estas plantas atuam sobre esta melhor estruturação e atividade do microbioma dos solos agrícolas.

2.3 Microbioma dos solos agrícolas

Microbioma é um termo do século XXI, que veio a ser usado inicialmente pela comunidade científica para retratar as comunidades de micro-organismos presentes no corpo humano (LEDERBERG; MCCRAY, 2001). Com o passar do tempo, o termo foi se explanando para além de um determinado hospedeiro, sendo aplicado para ambientes e tomando como partida não só questões taxonômicas, mas as funções que podem ser desempenhadas pela microbiota presente neste hospedeiro ou ambiente, levando em consideração o conjunto de genes encontrados nos microbiomas (BOON et al., 2014).

O microbioma do solo se caracteriza como um ambiente complexo com alta diversidade e funcionalidade, que faz do seu estudo algo desafiador (CARDOSO; ANDREOTE, 2016). Contudo, a busca por sua compreensão é importante para entender os processos que acontecem

no ambiente edáfico, de maneira que possa direcionar perspectivas no manejo agrícola, na busca de maiores produtividades de maneira sustentável (MISRA et al., 2017).

A biodiversidade microbiana presente no solo apresenta uma vasta pluralidade genética, onde a composição estrutural da comunidade microbiana e a maneira com que ela interage tem impacto direto no funcionamento ecossistêmico. Altos níveis de diversidade microbiana estão correlacionados com a melhoria na funcionalidade do sistema, a partir da complementariedade comportamental entre os organismos presentes nesse habitat, o que acarreta num pleno aproveitamento dos recursos disponíveis, proporcionando o bom funcionamento do solo (CREAMER et al., 2016; FOO et al., 2017).

As bactérias e os fungos representam os principais grupos de micro-organismos presentes no solo, atuando diretamente em diversos processos deste ambiente, tais como no intemperismo, nos ciclos biogeoquímicos, na biorremediação de poluentes, na decomposição de xenobióticos e moléculas orgânicas, entre outros (MALIK et al., 2019; SCHULZE et al., 2019; FINLAY et al., 2020). Boa parte da funcionalidade presente no microbioma do solo está atrelado a grupos específicos, os quais por características genéticas proporcionam determinadas funções que podem trazer um ótimo retorno pensando no manejo agrícola e na interação solo-microrganismos-plantas (ASHMITA GHOSH, 2019; CHEN et al., 2019b; RANDALL et al., 2019).

2.3.1 Fixação biológica do nitrogênio (FBN)

As comunidades microbianas são responsáveis pelas principais transformações do nitrogênio (N) (KUYPERS; MARCHANT; KARTAL, 2018). Na fixação biológica de nitrogênio, o gás N_2 é reduzido a amônia (NH_3), entrando no sistema solo por ação das bactérias fixadoras, usando a enzima nitrogenase, que tem uma de suas subunidades principais codificada pelo gene *nifH*, o que intensifica os estudos deste gene como marcador para esta função (PEREG et al., 2018). Tal capacidade é atribuída a bactérias diazotróficas de vida livre, associativa ou simbióticas, contribuindo significativamente para incrementos de N nos sistemas agrícolas (XU et al., 2019).

A comunidade microbiana fixadora de N é modulada em seu tamanho e estrutura, conforme as propriedades do solo e suas características, como textura, nível de pH, teor de matéria orgânica e principalmente, pela influência de espécies de plantas, em destaque para as leguminosas, que atuam em simbiose com bactérias fixadoras de N_2 , onde estas ficam alojadas em nódulos que são estruturas radiculares especiais, características nesse tipo de relação (WANG et al., 2018; TORABIAN; FARHANGI-ABRIZ; DENTON, 2019).

As culturas de cobertura têm potencial de aumentar o aporte de nitrogênio no solo, principalmente por abranger várias plantas da família das leguminosas (CALEGARI, 2016). Ainda, plantas de outras famílias podem atuar em outros pontos de benefícios ao sistema, resultando numa ação combinada de ganhos exercidos por diferentes plantas. Com base nisso, no sentido de otimizar os níveis de nitrogênio a partir do uso de plantas de cobertura, um manejo eficaz observado por Couëdel e colaboradores (2018), foi a mistura de culturas de cobertura leguminosas e crucíferas, onde além de se proporcionar uma maior fixação de N, conseguiu-se reduzir a lixiviação de nitrato em duas áreas de estudo, localizadas no sudoeste e centro da França.

2.3.2 Solubilizadores de P

Os micro-organismos exercem um importante papel quanto a disponibilidade de fósforo (P) no ambiente agrícola (LIU et al., 2018). As comunidades microbianas, além de serem consumidoras de P, também podem tornar esse elemento disponível, pois os micro-organismos do solo são componentes atuantes no ciclo do fósforo, utilizando de mecanismos de solubilização e mineralização, convertendo o P orgânico e inorgânico, em formas disponíveis para as plantas (BAUM et al., 2018; LEBRUN et al., 2018).

A solubilização inorgânica realizada por micro-organismos solubilizadores de P ocorre quando há ocorrência de um grupo fosfato complexado, sendo comum principalmente na forma de fosfato de ferro, fosfato de alumínio e fosfato de cálcio. Neste caso, os micro-organismos solubilizadores de P inorgânico, produzem e liberam ácidos orgânicos de baixo peso molecular, que atuam dissolvendo o material fosfatado, ou quelando os cátions que acompanham o ânion fosfato, liberando-o no solo (SWETHA; PADMAVATHI, 2016).

A mineralização de fósforo orgânico (Po) ocorre com íons fosfatos que se encontram complexados na fração orgânica do solo, tornando-os disponíveis pela ação de micro-organismos do solo, através da produção de enzimas que são denominadas fosfatases. Dentre os genes que fazem parte da codificação de fosfatases, encontra-se o sistema do grupo *Pho Regulon*, que produzem fosfatases que são geralmente excretadas em ambientes que apresentam deficiência de P (SANTOS-BENEIT, 2015; FRASER et al., 2017).

As plantas de cobertura também têm a capacidade de serem usadas para melhorar a eficiência de fósforo no sistema agrícola, proporcionando um aumento na atividade microbiológica do solo (ZHOU; ZHU; YAO, 2018). O modo de interação entre as culturas de cobertura e a comunidade microbiana se dá de maneira acentuada na rizosfera com a exsudação de moléculas orgânicas, que acarretam no aumento da abundância e atividade microbiológica

(HALLAMA et al., 2018). Um exemplo desse efeito é enfatizado no trabalho realizado por Almeida e colaboradores (2018b), que associaram o aumento da comunidade microbiana solubilizadora de fosfato à liberação de exsudados da cultura de cobertura *Urochloa ruziziensis*.

3 HIPÓTESES

1. O uso de plantas de cobertura, dentro das diferentes sucessões, promoverá uma modificação na estruturação microbiana do solo, uma maior abundância e uma maior atividade microbiana no sistema.

2. As alterações promovidas na comunidade microbiana serão um componente diferenciado dos solos, o que contribuirá para a observação de maior produtividade na cultura da soja.

4 OBJETIVOS

4.1 Objetivo geral

Compreender como as culturas de cobertura podem auxiliar numa melhor estruturação do microbioma do solo.

4.2 Objetivos específicos

1. Avaliar a atividade microbiana do solo, por meio das enzimas β -glucosidase, fosfatase ácida e arilsulfatase, em cada sucessão de culturas de cobertura;
2. Avaliar a abundância das comunidades microbianas fixadoras de N e solubilizadoras de P, através dos genes *nifH* e *phoD*, respectivamente, conforme cada sucessão de culturas de cobertura;
3. Avaliar a estrutura das comunidades bacteriana e fúngica do solo, através da técnica de fingerprinting T-RFLP, considerando o efeito acumulado das sucessões de culturas de cobertura;
4. Determinar a influência da estruturação diferencial no microbioma do solo por meio do uso de culturas de cobertura, sobre o desenvolvimento de plantas de soja.

5 MATERIAL E MÉTODOS

5.1 Ambiente experimental

O experimento foi realizado em casa de vegetação, localizada na Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” (ESALQ/USP), em Piracicaba - SP (22°43’S; 47°38’W, 546 m de altitude). Foi utilizado Latossolo Vermelho Amarelo Distrófico Típico, de textura franco-arenosa, coletado em área experimental da ESALQ/USP. O local de coleta compreende uma área subdividida em dois diferentes tipos de manejo, com solos de características químicas distintas (Tabela 1), no qual um deles é composto por um solo sob vegetação nativa (solo A), advindo de uma área sem interferência antrópica; e o outro consiste num solo submetido ao manejo agrícola (solo B), caracterizado por um cultivo convencional em monocultura da soja, o que fez com que os tratamentos fossem analisados em duas diferentes situações.

Tabela 1. Caracterização química dos solos utilizados no experimento.

Solo	pH	M.O	P	K	Ca	Mg	H+Al	SB	CTC	V
		g.dm ⁻³	mg.dm ⁻³	mmolc.dm ⁻³						%
Solo A	4,6	45	9	1,3	20	7	52	28,3	80,3	35
Solo B	5,4	18	21	1,5	21	11	20	33,5	53,5	63

Solo A: solo advindo de área com vegetação nativa; Solo B: solo advindo de área submetida ao manejo agrícola; pH: potencial hidrogeniônico; M.O: matéria orgânica; P: fósforo; K: potássio; Ca: cálcio; Mg: magnésio; H+Al: acidez potencial; CTC: capacidade de troca catiônica; V: saturação por bases.

5.2 Delineamento experimental e tratamentos

O experimento foi realizado entre fevereiro e dezembro de 2019 e contou com 12 tratamentos em cada um dos solos, com cinco repetições cada, distribuídos em três ciclos. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado (DIC), onde houve uma sucessão de espécies de plantas de cobertura, analisadas nos dois tipos de solo. A sucessão entre as culturas de cobertura aconteceu nos dois primeiros ciclos, o terceiro ciclo de todos os tratamentos teve como cultivo a cultura da soja (Figura 1).

Os oito primeiros tratamentos, compreenderam nos dois ciclos iniciais uma sucessão entre as seguintes espécies de plantas de cobertura: Trigo mourisco (*Fagopyrum esculentum*), *Crotalaria juncea*, *Crotalaria spectabilis*, Milheto (*Pennisetum glaucum*) e *Urochloa ruziziensis*. O trigo Mourisco é uma espécie de ciclo curto, que vem sendo estudada por apresentar potencial para ser utilizada em sistemas de cultivo, no intuito de melhorar propriedades do solo (CROTTY; STOATE, 2019; ADAMI et al., 2020). As *Crotalarias* são leguminosas que proporcionam efeitos benéficos a atributos do solo, principalmente se tratando

do aporte de nitrogênio no sistema (MENDONÇA et al., 2017; XAVIER et al., 2019). O milho e a *Urochloa ruziziensis* são gramíneas que aportam uma grande quantidade de biomassa no solo, aumentando a porção de carbono no sistema, elevando os níveis de biomassa microbiana (ASCARI et al., 2018; TANAKA et al., 2019).

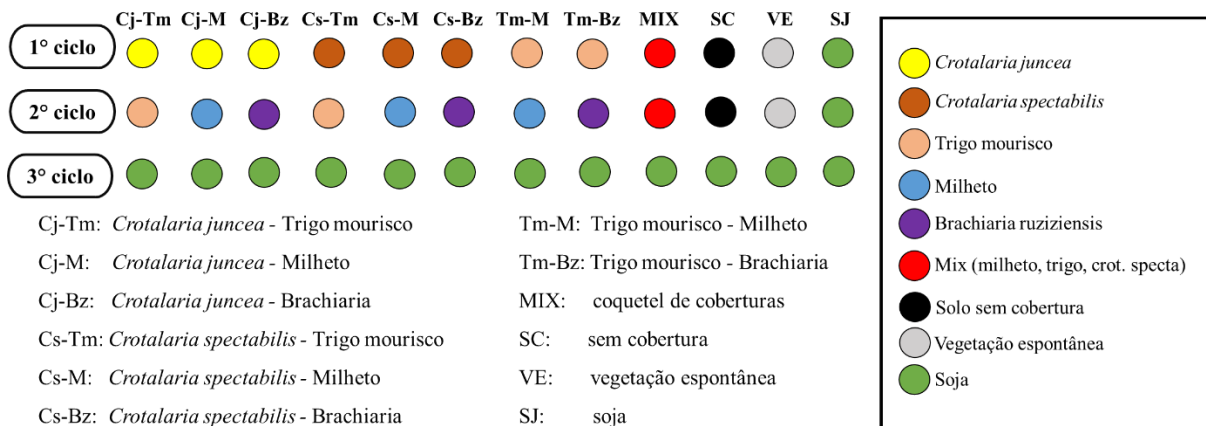


Figura 1. Croqui do desenho experimental

O tratamento MIX foi composto de um consórcio de culturas de cobertura, onde foram semeadas a *Crotalaria spectabilis*, o trigo mourisco e o milho no mesmo vaso (CALEGARI, 2016). Esses consórcios de plantas de cobertura, se bem manejados, podem resultar numa cobertura de solo mais próxima da ideal, juntando as características das plantas de cobertura de diferentes famílias, o que traria um melhor efeito para os atributos do solo (FILHO et al., 2016; WANG et al., 2020a).

Os três últimos tratamentos não compreenderam culturas de cobertura nos dois ciclos iniciais. No tratamento SC os vasos ficaram sem nenhum tipo de vegetação, que foi controlada manualmente; no tratamento VE permitiu-se que a vegetação espontânea crescesse sem interferência; e o tratamento SJ contou com a cultura da soja nos três ciclos do experimento.

No terceiro ciclo, os vasos de todos os tratamentos foram cultivados com a cultura da soja da cultivar M6410 IPRO, com o principal objetivo de verificar um provável efeito das coberturas dos ciclos anteriores na produtividade da soja.

5.3 Condução do experimento e amostragem

O experimento foi conduzido em vasos, sendo padronizado a massa de solo de 7,5 Kg por vaso. Todos os tratamentos tiveram uma única adubação, com fontes de fósforo e de potássio, que aconteceu antes da implantação do primeiro ciclo (solo A: 0,568 g de Superfosfato

triplo por vaso e 0,301 g de KCl por vaso; solo B: 0,353 g de Superfosfato triplo por vaso e 0,301 g de KCl por vaso). A semeadura das culturas foi feita de uma maneira a preencher todo o vaso, no intuito das raízes das plantas tomarem totalmente o solo. A irrigação foi conduzida diariamente, de forma manual, mantendo aproximadamente 70% da capacidade de campo do solo.

O primeiro ciclo durou cerca de 60 dias após a emergência das plantas, nesse momento o solo foi coletado para as análises laboratoriais, em seguida houve o corte das plantas de forma manual, com o auxílio de alicates e tesouras de poda. Seguido ao corte, toda a massa vegetal foi triturada manualmente e espalhada de forma a cobrir todo o vaso, após esse procedimento, toda a massa triturada provida das plantas permaneceu sobre o solo de cada vaso por um período de 30 dias. Dado este período, as culturas do segundo ciclo foram semeadas, e após aproximadamente 60 dias, ocorreu a coleta do solo e o corte das plantas, seguindo os mesmos moldes do ciclo anterior.

O terceiro ciclo, que compreendeu a cultura da soja em todos os tratamentos, teve um manejo diferente. A cultura foi semeada nos vasos e após a emergência foi realizado o desbaste de forma a estabelecer duas plantas por vaso. A soja foi conduzida até o estágio fenológico R8, quando foi realizado a amostragem do solo para análises laboratoriais do último ciclo e a coleta da soja para análise dos componentes de rendimento na produtividade da cultura.

5.4 Análises químicas do solo

Foram realizadas quatro análises químicas do solo. Amostras dos dois solos foram coletadas previamente a instalação do experimento e encaminhadas para o Departamento de Ciência do Solo da ESALQ para serem quantificados os principais elementos químicos do solo.

Ao final de cada um dos três ciclos do experimento, foram coletadas amostras de solo de cada tratamento e encaminhadas para o Departamento de Ciência do Solo da ESALQ para quantificar os principais elementos químicos do solo afim de complementar os resultados enzimáticos e moleculares do presente estudo.

5.5 Componentes de rendimento na produtividade da soja

Foram avaliadas oito características quantitativas quanto ao desempenho agrônômico das plantas de soja cultivadas no terceiro ciclo de cultivo, as quais foram determinadas quando estas atingiram o estágio fenológico R8. Tais componentes foram: altura da planta (AP); massa seca da parte aérea (MSPA); altura de inserção da primeira vagem (AIPV); número de vagens por planta (NV); número de grãos por planta (NG); massa de grãos fresca por planta (MGF);

massa de grãos seca por planta (MGS); e rendimento de grãos, com padronização a 13% de umidade, a fim de obter uma estimativa de produtividade (EP).

5.6 Análises de atividade biológica

5.6.1 Atividade da enzima β -glucosidase em amostras de solo

Para avaliar a atividade da β -glucosidase, que é um indicador ligado ao ciclo do carbono, foi utilizado o método proposto por Tabatabai (1994) adaptado, que consiste na extração e determinação colorimétrica da atividade da enzima. Em tubos de ensaio de 10 mL, foram adicionados 0,5 g de solo, 2 mL do tampão MUB pH 0,6 e 1 mL da solução de p-nitrofenil- β -D-glucopiranosídeo (PNG) 50mM, com exceção dos controles. Os tubos foram agitados em vortex e incubados em banho-maria por 1 h a 37 °C. Após o período de incubação foi adicionado 1 mL de solução CaCl_2 0,5 M e 2,0 mL de solução NaOH 0,5 M. Aos tubos controle foi adicionado 1 mL da solução substrato descrita anteriormente. Os tubos foram agitados em vortex e a solução filtrada em papel filtro C42 (faixa azul). A quantidade de p-nitrofenol presente no filtrado foi determinado colorimetricamente quanto a sua absorbância em um espectrofotômetro regulado para o comprimento de onda de 410 nm. A quantidade de p-nitrofenol foi determinada pela correlação com uma curva padrão construída com quantidades conhecidas de p-nitrofenol.

5.6.2 Atividade da fosfatase ácida em amostras de solo

A avaliação da atividade da fosfatase ácida, que é um indicador ligado as transformações do fósforo no solo, foi feita pelo método colorimétrico proposto por Tabatabai (1994) adaptado. Foram adicionados 0,5 g de solo em tubos de ensaio, seguido da adição de 4 mL de tampão acetato de sódio 0,1 M e pH 5,4, e 1 mL de solução do substrato p-nitrofenil fosfato de sódio 30 mM, com exceção dos controles procedendo-se com agitação em vortex e incubação em banho-maria a 37°C por 1 hora. Após a incubação foi adicionado 1 mL de CaCl_2 0,5 M e 4 mL de NaOH 0,5 M. Aos tubos controle foi adicionado 1 mL da solução substrato descrita anteriormente. Os tubos serão agitados em vortex e a solução filtrada em papel filtro C42 (faixa azul). O filtrado foi analisado quanto a absorbância em espectrofotômetro regulado ao comprimento de onda de 410 nm. A quantidade de p-nitrofenol foi determinada pela correlação com uma curva padrão construída com quantidades conhecidas de p-nitrofenol.

5.6.3 Atividade da arilsulfatase em amostras de solo

A avaliação da atividade da arilsulfatase, associada ao ciclo do enxofre, foi realizada conforme Tabatabai (1994) adaptado. Em tubos de ensaio de 10 mL foram adicionados 0,5 g de solo, 4ml de tampão acetato pH 5,8 e 1ml de PNS a todos os frascos menos os controles. Os tubos foram agitados em vortex e incubados em banho-maria por 1 h a 37 °C. Após o período de incubação foi adicionado 1 mL de solução CaCl₂ 0,5 M e 4,0 mL de solução NaOH 0,5 M. Aos tubos controle foi adicionado 1 mL da solução substrato descrita anteriormente. Os tubos foram agitados em vortex e a solução filtrada em papel filtro C42 (faixa azul). A quantidade de p-nitrofenol presente no filtrado foi determinado colorimetricamente quanto a sua absorbância em um espectrofotômetro regulado para o comprimento de onda de 420 nm. A quantidade de p-nitrofenol foi determinada pela correlação com uma curva padrão construída com quantidades conhecidas de p-nitrofenol.

5.7 Metodologias Moleculares

5.7.1 Extração de DNA total

O DNA total das amostras coletadas foi extraído a partir de 0,4 g de solo, utilizando o kit comercial DNeasy PowerSoil (QIAGEN Laboratories, Carlsbad, CA, USA), seguindo as instruções do fabricante. O volume extraído (aproximadamente 100µL) foi avaliado por meio de análise de alíquota de 5 µL em eletroforese em gel de agarose a 1%, numa corrida de 100 V por 30 minutos, em tampão TBE 0,5x (Tris, Borato, EDTA) adicionado ao corante Sybr[®] Gold (Invitrogen, Breda, The Netherlands).

5.7.2 Abundância do gene *nifH*

A abundância do gene *nifH* foi estimada por qPCR (quantitative polymerase chain reaction), utilizando o aparelho StepOne™ Real-Time PCR System (Applied Biosystems, Life Technologies). O conjunto de indicadores foi FGHP19 (5' – TAC GGC AAR GGT GGN ATH G – 3') (SIMONET et al., 1991) e POLR (5' – ATS GCC ATC ATY TCR CCG GA – 3') (POLY et al., 2001). A reação de PCR foi realizada com 1µL de DNA total (aproximadamente 20 ng), 12,5µL Sybr™ Green PCR Master mix (Applied Biosystems), 0,3µL (10 mg mL⁻¹) de albumina de soro bovino (BSA) e 0,4µL (0,04mM) de cada indicador, onde o volume final foi ajustado com água deionizada esterilizada para 25µL.

As condições de amplificação foram de uma desnaturação inicial a 95°C durante 15 minutos, seguido de 40 ciclo a 94°C durante 1 minuto, 55°C durante 27 segundos e 72°C por 1 minuto. A curva de *melting* (desnaturação) foi realizada no final de cada quantificação com as

seguintes condições: 95°C durante 15 segundos, 60°C durante 1 minuto e 95°C durante 15 segundos, para verificar a especificação da amplificação. A estimativa do número de cópias do gene *nifH* por grama de solo foi calculada interpolando o valor dos ciclos por amostra (CT = threshold cycles) na regressão linear gerada da curva padrão com cinco ordens de grandeza (104 a 108) de cópias do gene *nifH*.

5.7.3 Abundância do gene *phoD*

A abundância do gene *phoD* foi estimada por qPCR, utilizando o aparelho StepOne™ Real-Time PCR System (Applied Biosystems, Life Technologies). Foram utilizados os indicadores ALPS-F730 (5'- CAG TGG GAC GAC CAC GAG GT - 3') (SAKURAI et al., 2008) e ALPS-R1101 (5'- GAG GCC GAT CGG CAT GTC G - 3') (SAKURAI et al., 2008). A reação de PCR foi realizada com 2µL (aproximadamente 50ng) de DNA total, 12,5µL de Sybr™ Green PCR Master mix (Applied Biosystems), 0,5µL (10mg mL⁻¹) de albumina de soro bovino (BSA) e 0,2 µL (0,02mM) de cada iniciador, onde o volume final foi ajustado com água deionizada esterilizada para 25µL.

As condições de amplificação foram uma desnaturação inicial a 95°C durante 10 minutos, seguido de 40 ciclos a 95 °C durante 30 segundos, 57°C durante 1 minuto e 72°C durante 30 segundos. A curva de Melt (desnaturação) foi realizada no final de cada quantificação com as seguintes condições: 95°C durante 15 segundos, 60°C durante 1 minuto e 95°C durante 15 segundos, para verificar a especificação da amplificação. A estimativa do número de cópias do gene *phoD* por grama de solo foi calculada interpolando o valor dos ciclos por amostra (CT = threshold cycles) na regressão linear gerada da curva padrão com cinco ordens de grandeza (104 a 108) de cópias do gene *phoD*.

5.7.4 Estrutura da comunidade bacteriana

A análise por T-RFLP foi empregada para determinar variações na estrutura da comunidade bacteriana, acessando o gene 16s RNAr. A amplificação do gene alvo foi realizada usando os indicadores 8-FM (5'- AGA CTT TGA TCM TGG CTC AG - 3') marcado com 6-carboxyfluorescein (6-FAM) (SCHÜTTE et al., 2009) e 926r (5'- CCG TCA ATT CCT TTR AGT TT - 3') (SCHÜTTE et al., 2009) .As condições dos ciclos de reações foram: desnaturação inicial a 95°C por 4 minutos, 30 ciclos de desnaturação a 95°C por 30 segundos, anelamento a 57°C por 30 segundos, extensão a 72°C por 45 segundos e uma extensão final de 72°C por 10 minutos. O volume final das reações foi 50µL, contendo 6µL de MgCl₂ (concentração final de Mg²⁺ de 3mM), 0,2µL (equivalente a 1U) de Taq polimerase, 5µL do tampão livre de Mg²⁺

(Sinapse Inc, São Paulo, Brasil), 4 μ L de desoxinucleosídeo trifosfato (dNTP) (0,2mM de cada base nitrogenada) (Invitrogen Corporation, Carlsbad, CA, EUA), 0,1 μ L (0,01mM) de cada primer e 1 μ L de DNA molde, completando com 33,6 μ L de água ultrapura autoclavada.

Os produtos de PCR foram clivados com a enzima HhaI (5U) (Invitrogen Corporation, Carlsbad, CA, EUA) e precipitados com EDTA 125 mM e acetato de sódio 3M. As amostras foram ressuspensas usando formamida Hi-Di™ (Applied Biosystems, Life Technologies) com marcador GeneScan™ 1200 LIZ® (Applied Biosystems, Life Technologies) e analisadas em um sequenciador automático ABI Prism 3500 (Applied Biosystems, Life Technologies).

Os resultados foram processados usando o programa gene GeneMapper® 4.1 (Applied Biosystems, Life Technologies), considerando os parâmetros alelos, tamanho, altura e área de picos, diferenciando grupos ao nível de 0,5 pares de base. A partir deste procedimento foram obtidas matrizes que foram a base estatística para análises posteriores.

5.7.5 Estrutura da comunidade fúngica

A análise por T-RFLP da estrutura da comunidade fúngica foi realizada, acessando a região intergênica (Internal transcribed spacer – ITS), acessada pelo emprego dos indicadores ITS1 (5`- CTT GGT CAT TTA GAG GAA GTA A - 3`) marcado com 5-carboxyfluorescein (5-FAM) (GARDES; BRUNS, 1993) e ITS4 (5`- TCC TCC GCT TAT TGA TAT C – 3`) (WHITE et al., 1990). As condições dos ciclos de reações foram: 94°C por 90 segundos, 13 ciclos de 94°C por 35 segundos, 55°C por 55 segundos, 72°C por 45 segundos, 13 ciclos de 94°C por 35 segundos, 55°C por 2 minutos, 72°C por 45 segundos, 9 ciclos de 94°C por 35 segundos, 55°C por 3 minutos, 72°C por 45 segundos e uma extensão final de 72°C por 10 minutos. O volume final das reações será de 50 μ L, contendo 6 μ L de MgCl₂ (concentração final de Mg²⁺ de 3mM), 0,5 μ L (equivalente a 2,5U) de Taq polimerase, 5 μ L do tampão livre de Mg²⁺ (Sinapse Inc, São Paulo, Brasil), 4 μ L de desoxinucleosídeo trifosfato (dNTP) (0,2mM de cada base nitrogenada) (Invitrogen Corporation, Carlsbad, CA, EUA), 0,2 μ L (0,02mM) de cada primer, 1,5 μ L (10 mg mL⁻¹) de albumina de soro bovino (BSA) e 2 μ L de DNA molde, completando com 30,6 μ L de água ultrapura autoclavada.

Os produtos de PCR foram clivados com a enzima HaeIII (5U) (Thermo Scientific) e precipitados com EDTA 125Mm e acetato de sódio 3M. As amostras foram ressuspensas usando formamida Hi-Di™ (Applied Biosystems, Life Technologies) com marcador GeneScantm 1200 LIZ® (Applied Biosystems, Life Technologies) e analisadas em um sequenciador automático ABI Prism 3500 (Applied Biosystems, Life Technologies).

Os resultados foram processados usando o programa gene GeneMapper[®] 4.1 (Applied Biosystems, Life Technologies), considerando os parâmetros alelos, tamanho, altura e área de picos, diferenciando grupos ao nível de 0,5 pares de base. A partir deste procedimento foram obtidas matrizes que foram a base estatística para análises posteriores.

5.8 Análise dos dados

Todas as análises estatísticas e figuras foram realizadas no programa R versão 3.6.1. Os dados foram submetidos ao teste de normalidade por meio do teste de Shapiro-Wilk, seguido pelo teste de homocedasticidade da variância por meio do teste de Levene. Para as variáveis que atenderam os critérios (normalidade e homocedasticidade) da análise de variância (ANOVA), obtendo F significativo, foram executadas análises por comparativo ao teste Scott-Knott 5%, com o auxílio do pacote estatístico *agricolae*. Para as variáveis que não atenderam os critérios de normalidade e/ou homocedasticidade, algo que pode ser constatado devido a complexidade dos dados por se tratarem de análises biológicas, seguiu-se com o método não paramétrico, sendo realizado análises por comparativo ao teste Kruskal-Wallis 5%, também com o auxílio do pacote estatístico *agricolae*.

Para análise dos dados de T-RFLP, calculou-se a abundância relativa das áreas de pico dos fragmentos de restrição terminal (T-RFs). A abundância relativa foi tomada como sendo a porcentagem de cada T-RF na soma de todas as áreas de picos do perfil de T-RFLP. Verificamos os T-RFs por análise de ordenação, utilizando o Escalonamento Multidimensional Não Métrico (NMDS). O teste Adonis foi realizado para verificar a separação significativa dos diferentes grupos de análise de NMDS tanto para comunidade bacteriana quanto fúngica. Foi realizado uma análise PERMANOVA para verificar a correlação dos tratamentos em as comunidades microbianas, onde o índice de Bray-Curtis foi usado para calcular as distâncias aos pares entre os T-RFs de cada tratamento. Foi usado 999 permutações para todas as análises PERMANOVA. Todo o procedimento da análise de dados do T-RFLP foi com o auxílio do pacote *vegan*.

6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1 Atividade da enzima β -glucosidase

No primeiro ciclo do experimento no solo advindo da área com vegetação nativa (A) houve maior atividade da β -glucosidase ($p \leq 0,05$) nos tratamentos com culturas de cobertura em relação aos tratamentos SC e SJ, com destaque para o MIX (Figura 2A).

A atividade enzimática é um indicador sensível às práticas de manejo (TYLER, 2020). As culturas de cobertura têm por característica aportar matéria orgânica ao sistema (UDOM; BENWARI, 2019), o que estimula a comunidade microbiana do solo a atuar nesse substrato, secretando a enzima extracelular β -glucosidase que age na despolimerização da matéria orgânica do solo, atuando na hidrólise da celobiose, convertendo-a em açúcares simples (YANG et al., 2019b). A falta de vegetação no tratamento SC é o que provavelmente foi determinante para ter sido inferior em relação aos outros tratamentos com cobertura.

Ainda, as culturas de cobertura têm por característica uma quantidade maior de biomassa em relação as culturas consideradas comerciais, aportando maiores quantias de carbono ao sistema (GARCÍA-GONZÁLEZ et al., 2018), o que pode justificar a superioridade dos tratamentos com plantas de cobertura em relação ao tratamento composto pela cultura da soja (SJ). Outro fator que deve ser levado em consideração, é que a soja é uma cultura que passou pelo processo de domesticação, o que conseqüentemente impacta nas relações microrganismo-planta, principalmente no ambiente rizosfera, com uma modificação dos exsudatos radiculares das plantas oriundas do processo de domesticação (LIU et al., 2019a; SPOR et al., 2020).

O tratamento MIX conta com um consórcio de culturas de cobertura, que quando bem manejado, resulta numa cobertura do solo próxima da ideal, integrando as características das plantas de cobertura de diferentes famílias, o que traz um melhor efeito para os atributos do solo (WANG et al., 2020a). Em experimento realizado nos EUA, Nevins et al. (2020) verificaram que a atividade da β -glucosidase foi superior em área cultivada sob o consórcio de ervilhaca peluda (*Vicia villosa*) com centeio (*Secale cereale*), em relação ao cultivo isolado da ervilhaca.

No solo advindo da área submetida ao manejo agrícola (B), houve maior atividade da β -glucosidase ($p \leq 0,05$) nos tratamentos com *C. juncea* e com o MIX em relação aos tratamentos que contaram com o trigo mourisco, juntamente com o tratamento SC (Figura 2B).

O maior aporte de biomassa da *Crotalaria* ao solo, é o que provavelmente proporcionou a maior atividade da β -glucosidase em relação ao trigo mourisco. A *C. juncea* é uma cobertura que tem um sistema radicular bem ramificado e profundo, de crescimento inicial rápido e alta

produção de biomassa, com potencial para produzir um teor de matéria seca em torno de 10 a 15 t ha⁻¹, bem superior ao trigo mourisco, com potencial de produção de matéria seca entre 6 e 10 t ha⁻¹ (CALEGARI, 2016).

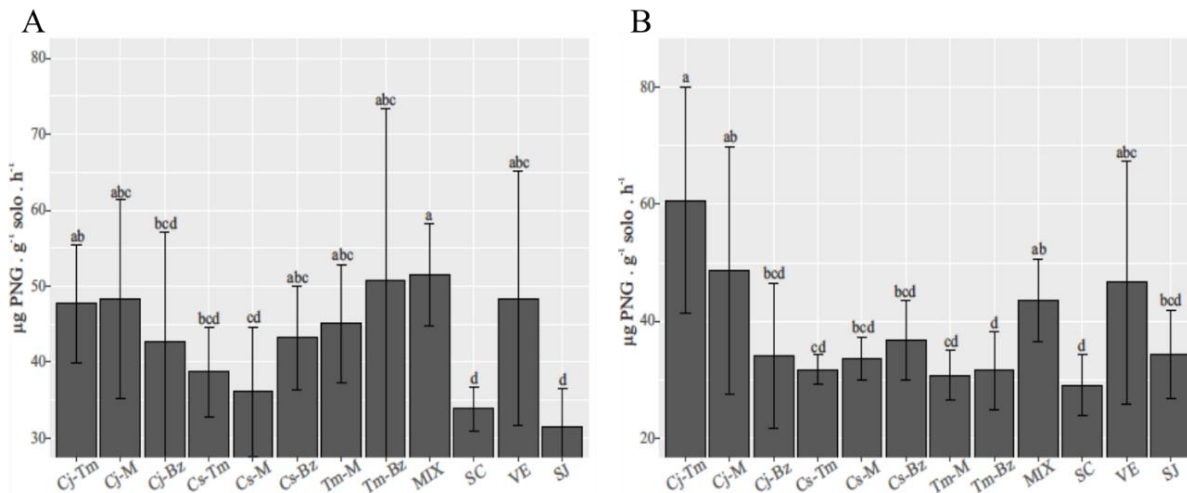


Figura 2. Atividade da β -glucosidase no primeiro ciclo da sucessão de culturas no solo advindo de área com vegetação nativa (A) e no solo advindo de área submetida ao manejo agrícola (B) nos tratamentos com a sucessão culturas *Crotalaria juncea* e Trigo mourisco (Cj-Tm), *Crotalaria juncea* e Milheto (Cj-M), *Crotalaria juncea* e *Urochloa ruziziensis* (Cj-Bz), *Crotalaria spectabilis* e Trigo mourisco (Cs-Tm), *Crotalaria spectabilis* e Milheto (Cs-M), *Crotalaria spectabilis* e *Urochloa ruziziensis* (Cs-Bz), consórcio de coberturas (MIX), solo sem cobertura (SC), vegetação espontânea (VE) e sucessão de soja (SJ). As médias seguidas pela mesma letra não diferiram (Kruskal-Wallis, 5%).

No solo B, a falta de vegetação no tratamento SC é o que provavelmente influenciou para que fosse inferior a maioria dos tratamentos, assim como observado no solo A.

No segundo ciclo, as gramíneas milheto e *U. ruziziensis* sucederam todas as coberturas do ciclo anterior e o trigo mourisco sucedeu um tratamento de cada *Crotalaria*, havendo agora, um efeito acumulado na análise da atividade biológica.

No solo A, a atividade da β -glucosidase nos tratamentos com coberturas continuou a ser superior ao tratamento SC, com destaque novamente para o MIX e para os tratamentos que contaram com a *U. ruziziensis* (Figura 3A).

No solo B é notória a maior atividade dos tratamentos com *U. ruziziensis* no segundo ciclo (Figura 3B), ascendendo inclusive o tratamento que contava com o trigo mourisco, que teve uma atividade enzimática menor em relação as outras coberturas do primeiro ciclo.

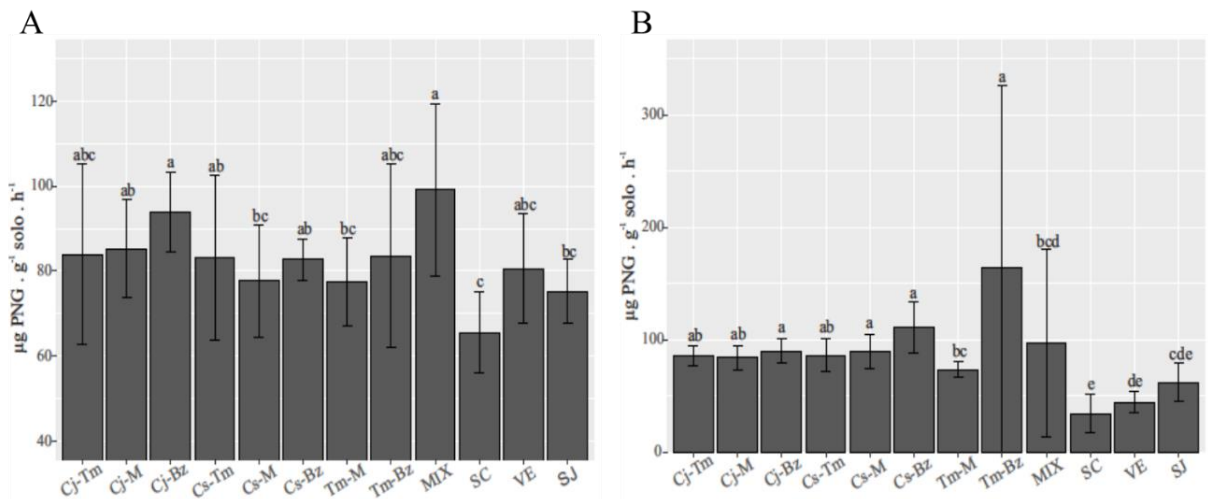


Figura 3. Atividade da β -glucosidase no segundo ciclo da sucessão de culturas no solo advindo de área com vegetação nativa (A) e no solo advindo de área submetida ao manejo agrícola (B) nos tratamentos com a sucessão culturas *Crotalaria juncea* e Trigo mourisco (Cj-Tm), *Crotalaria juncea* e Milheto (Cj-M), *Crotalaria juncea* e *Urochloa ruziziensis* (Cj-Bz), *Crotalaria spectabilis* e Trigo mourisco (Cs-Tm), *Crotalaria spectabilis* e Milheto (Cs-M), *Crotalaria spectabilis* e *Urochloa ruziziensis* (Cs-Bz), consórcio de coberturas (MIX), solo sem cobertura (SC), vegetação espontânea (VE) e sucessão de soja (SJ). As médias seguidas pela mesma letra não diferiram (Kruskal-Wallis, 5%).

A *U. ruziziensis* é uma cultura de cobertura que tem potencial para melhorar os atributos do solo, sendo amplamente usada em consórcio ou intercalada a culturas comerciais no calendário agrícola (NASCENTE et al., 2016; MAKINO et al., 2019).

A *U. ruziziensis* é uma gramínea com hábito de crescimento cespitoso e com sistema radicular fasciculado que abrange grande área do solo, contribuindo com um elevado aporte de matéria orgânica ao sistema (CALEGARI, 2016), o que pode justificar o aumento da atividade enzimática, por uma possível maior aquisição de carbono pelos microrganismos nos tratamentos que continham a *U. ruziziensis* em seu segundo ciclo, o que demonstra que níveis maiores de biomassa podem influenciar a atividade metabólica das comunidades microbianas do solo (NEVINS; LACEY; ARMSTRONG, 2020).

No terceiro ciclo, a cultura da soja foi comum a todos os tratamentos, contudo, a sucessão de culturas dos ciclos anteriores permitiram verificar níveis da atividade enzimática diferentes entre os tratamentos, que variam durante o período de crescimento da cultura comercial subsequente, como observado por Nevins et al. (2020), que constatou esse

comportamento em experimento realizado nos EUA com a cultura do milho e as plantas de cobertura *Vicia villosa* e *Secale cereale*.

No solo A é possível constatar que a atividade da β -glucosidase foi menor nos tratamentos que tinham o trigo mourisco no segundo ciclo comparado aos outros tratamentos de sucessão de coberturas (Figura 4A).

O trigo mourisco é a planta detentora de uma menor quantidade de biomassa em relação as outras coberturas analisadas no estudo (CALEGARI, 2016), o que possivelmente resultou numa menor quantidade de matéria orgânica depositada no solo no terceiro ciclo em relação aos demais tratamentos de plantas de cobertura, o que provavelmente foi determinante para a menor atividade da β -glucosidase nos tratamentos Cj-Tm e Cs-Tm em relação as demais sucessões com plantas de cobertura.

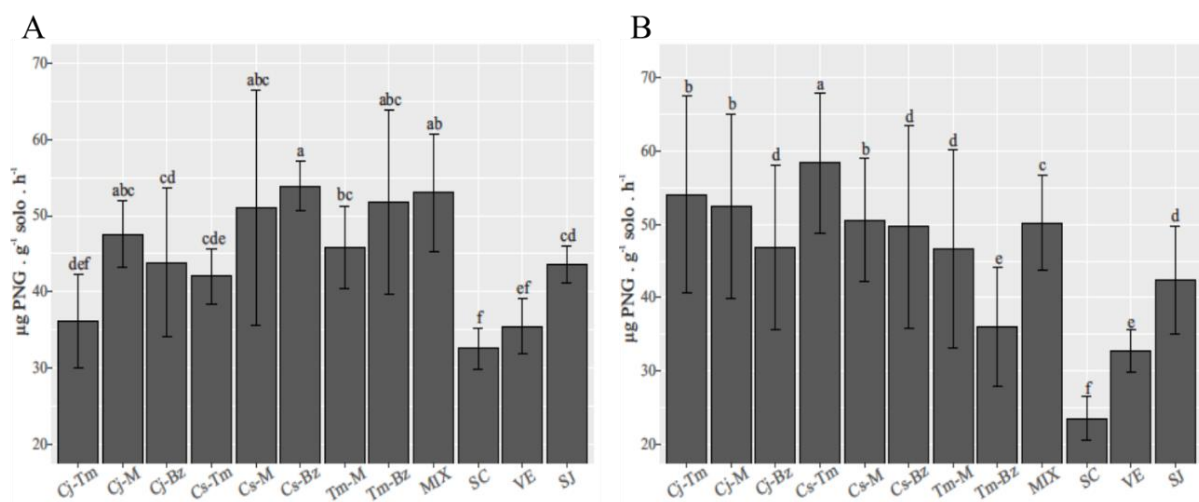


Figura 4. Atividade da β -glucosidase no terceiro ciclo da sucessão de culturas no solo advindo de área com vegetação nativa (A) e no solo advindo de área submetida ao manejo agrícola (B) nos tratamentos com a sucessão culturas *Crotalaria juncea* e Trigo mourisco (Cj-Tm), *Crotalaria juncea* e Milheto (Cj-M), *Crotalaria juncea* e *Urochloa ruziziensis* (Cj-Bz), *Crotalaria spectabilis* e Trigo mourisco (Cs-Tm), *Crotalaria spectabilis* e Milheto (Cs-M), *Crotalaria spectabilis* e *Urochloa ruziziensis* (Cs-Bz), consórcio de coberturas (MIX), solo sem cobertura (SC), vegetação espontânea (VE) e sucessão de soja (SJ). No solo A as médias seguidas pela mesma letra não diferiram (Kruskal-Wallis, 5%). No solo B as médias seguidas pela mesma letra não diferiram (Scott e Knott, 5%).

No solo B, a atividade da β -glucosidase foi contrária ao que aconteceu no solo A em relação aos tratamentos Cs-Tm e Cj-Tm, havendo uma superioridade desses tratamentos em relação a maioria das outras coberturas. Nesse terceiro ciclo do solo B também se observa a

queda dos tratamentos que continham *U. ruziziensis* em seu segundo ciclo na comparação com os outros tratamentos de plantas de cobertura (Figura 4B).

6.2 Atividade da enzima fosfatase ácida

No primeiro ciclo do experimento, no solo advindo da área com vegetação nativa (A) os tratamentos não diferiram ($p \leq 0,05$) (Figura 5A), o que indica que para este solo, um ciclo de cultivo com plantas de cobertura não é o suficiente para distinguir a atividade da fosfatase ácida entre coberturas na condição a qual o experimento foi submetido.

No solo advindo da área submetida ao manejo agrícola (B), a *C. juncea* se destacou na atividade da fosfatase ácida, o trigo mourisco e o MIX apresentaram os menores valores dentre as coberturas. O tratamento SC apresentou a menor atividade da enzima neste primeiro ciclo (Figura 5B).

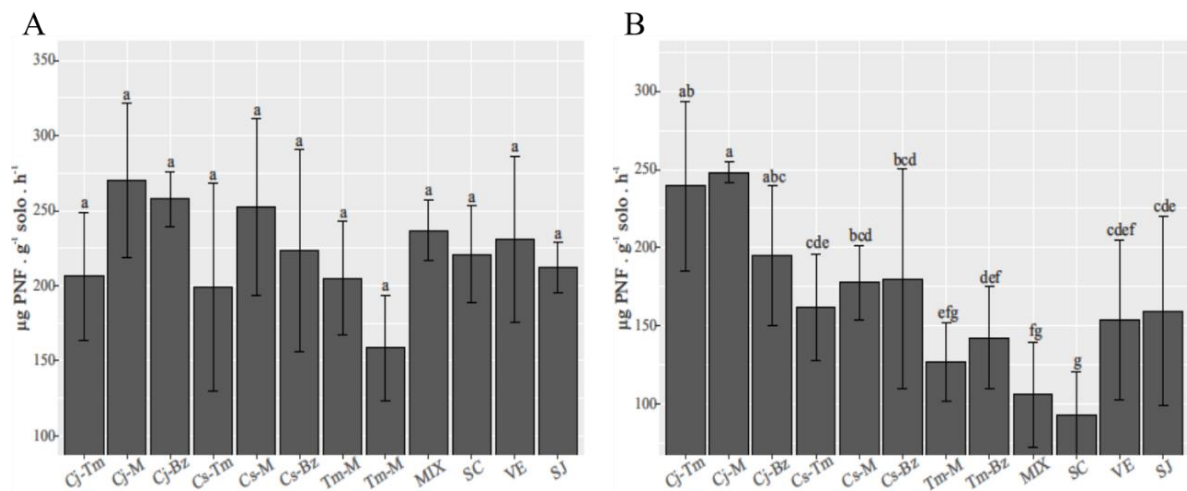


Figura 5. Atividade da fosfatase ácida no primeiro ciclo da sucessão de culturas no solo advindo de área com vegetação nativa (A) e no solo advindo de área submetida ao manejo agrícola (B) nos tratamentos com a sucessão culturas *Crotalaria juncea* e Trigo mourisco (Cj-Tm), *Crotalaria juncea* e Milheto (Cj-M), *Crotalaria juncea* e *Urochloa ruziziensis* (Cj-Bz), *Crotalaria spectabilis* e Trigo mourisco (Cs-Tm), *Crotalaria spectabilis* e Milheto (Cs-M), *Crotalaria spectabilis* e *Urochloa ruziziensis* (Cs-Bz), consórcio de coberturas (MIX), solo sem cobertura (SC), vegetação espontânea (VE) e sucessão de soja (SJ). No solo A as médias seguidas pela mesma letra não diferiram (Scott e Knott, 5%). No solo B as médias seguidas pela mesma letra não diferiram (Kruskal-Wallis, 5%).

A *C. juncea* é uma planta de cobertura que produz exsudatos radiculares com uma grande diversidade de compostos ricos em carbono que são liberados na rizosfera, atraindo os

microrganismos do solo (MONTEIRO et al., 2012). A solubilização de fósforo no ambiente edáfico depende entre outras coisas da interação planta-microrganismo, ao passo que a atividade enzimática da fosfatase ácida pode ser modulada com a composição dos exsudatos radiculares (MASSENSINI et al., 2015). Kunze et al. (2011) relatou altos níveis de atividade da fosfatase ácida em área cultivada em consórcio de plantas de cobertura que incluía a *C. juncea*.

Neste primeiro ciclo é possível fazer uma relação entre a atividade enzimática da β -glucosidase e da fosfatase ácida. Em ambos os casos os tratamentos com *C. juncea* tiveram a atividade dessas enzimas maior em relação aos tratamentos com trigo mourisco. Isso pode ser atribuído a maior quantidade de matéria orgânica depositada nos tratamentos com *C. juncea* (APÊNDICE B), que provavelmente ocasionou um aporte de diferentes fontes de carbono ao sistema, o que pode ter promovido comunidades microbianas que proporcionaram uma maior atividade dessas enzimas (BHAT et al., 2017).

A comunidade microbiana secreta fosfatase ácida de acordo com o fósforo disponível na solução do solo, geralmente numa relação inversa (NANNIPIERI et al., 2011), o que pode explicar a menor atividade do tratamento MIX em relação as outras coberturas (APÊNDICE B).

A falta de vegetação no tratamento SC, que tende a acarretar numa menor atividade microbiana, é o que provavelmente foi determinante para uma menor atividade da fosfatase ácida em relação aos outros tratamentos.

No segundo ciclo do solo A, ao contrário do que aconteceu no primeiro ciclo, os tratamentos apresentaram diferença (Figura 6A). A disposição dos tratamentos mostra o efeito acumulado das coberturas dentro dos ciclos, pois a não predominância de nenhuma cobertura dentre as utilizadas no segundo ciclo na atividade da fosfatase ácida demonstra a influência das coberturas do primeiro ciclo, apesar de não terem apresentado diferença quando foram analisadas a primeiro momento, o que evidencia o efeito que é causado no solo conforme cada sucessão.

A atividade da fosfatase ácida foi maior ($p \leq 0,05$) no tratamento Cj-M ($627,89 \mu\text{g PNF}\cdot\text{g}^{-1}\text{ solo}\cdot\text{h}^{-1}$). A *C. juncea*, cobertura do primeiro ciclo neste tratamento, é uma planta com potencial de aportar quantidades elevadas de matéria orgânica no solo (CALEGARI, 2016), o que provavelmente proporciona diferentes fontes de carbono ao sistema, o que pode ter propiciado o início da estabilização de comunidades microbianas secretoras da enzima fosfatase ácida, que vieram a se estabelecer com o cultivo do ciclo seguinte.

O milheto, cobertura do segundo ciclo no tratamento Cj-M, é uma gramínea que é geralmente utilizada na agricultura intercalada ou em consórcio com culturas comerciais, pois apresenta potencial para melhorar os atributos do solo (NASCENTE et al., 2016; ASCARI et al., 2019) aportando grande quantidade de matéria orgânica ao sistema (CALEGARI, 2016).

Simon et al. (2019) consideraram que o solo cultivado com milheto apresentou maiores valores médios da fosfatase ácida em relação a outras coberturas, em experimento realizado num Latossolo Vermelho Distrófico. Contudo, os altos valores da fosfatase ácida encontrados no presente estudo no tratamento Cj-M podem ser atribuídos justamente ao efeito acumulado na sucessão das culturas de cobertura.

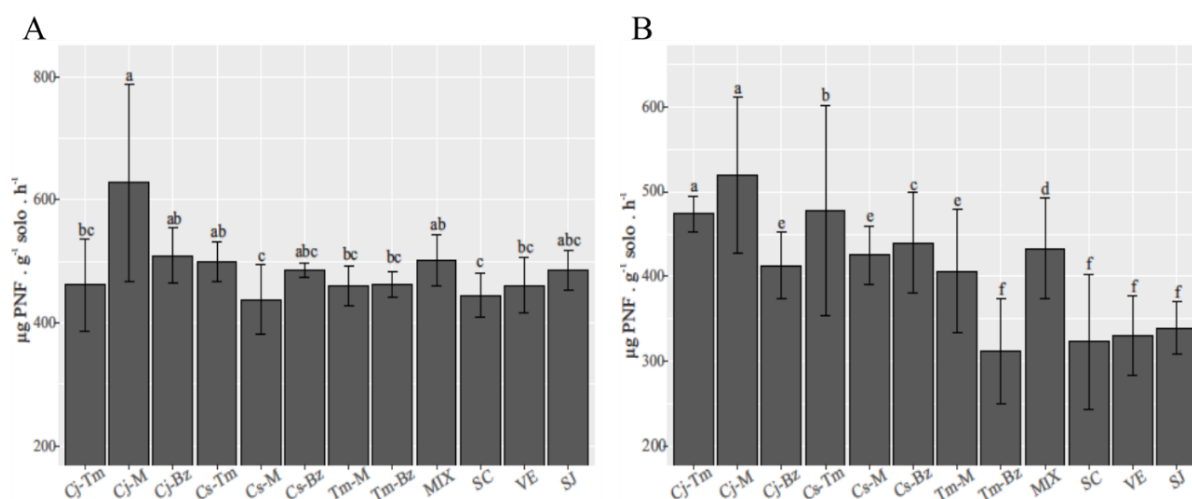


Figura 6. Atividade da fosfatase ácida no segundo ciclo da sucessão de culturas no solo advindo de área com vegetação nativa (A) e no solo advindo de área submetida ao manejo agrícola (B) nos tratamentos com a sucessão culturas *Crotalaria juncea* e Trigo mourisco (Cj-Tm), *Crotalaria juncea* e Milheto (Cj-M), *Crotalaria juncea* e *Urochloa ruziziensis* (Cj-Bz), *Crotalaria spectabilis* e Trigo mourisco (Cs-Tm), *Crotalaria spectabilis* e Milheto (Cs-M), *Crotalaria spectabilis* e *Urochloa ruziziensis* (Cs-Bz), consórcio de coberturas (MIX), solo sem cobertura (SC), vegetação espontânea (VE) e sucessão de soja (SJ). No solo A as médias seguidas pela mesma letra não diferem (Kruskal-Wallis, 5%). No solo B as médias seguidas pela mesma letra não diferem (Scott e Knott, 5%).

No solo B o tratamento Tm-Bz demonstrou um efeito acumulado inferior ($p \leq 0,05$) as outras sucessões de culturas neste segundo ciclo. Junto a este tratamento, tivemos todos os tratamentos que não possuíam de plantas de cobertura em suas sucessões (SC, VE e SJ) (Figura 6B).

O tratamento VE é composto pela vegetação espontânea nos dois ciclos. Em experimento realizado em Chapadão do Sul, no estado do Mato Grosso do Sul, Brasil, Simon et al. (2017) constataram que culturas de cobertura apresentaram valores de fosfatase ácida maiores em relação a vegetação espontânea. As culturas de cobertura são plantas que apresentam características peculiares, com capacidade de melhorar os atributos do solo, como a ciclagem de nutrientes, a deposição de matéria orgânica, entre outros, o que justifica sua implantação nas áreas de pousio em detrimento da vegetação espontânea (MEDEIROS et al., 2017).

A falta de vegetação no tratamento SC em ambos os ciclos é o que provavelmente foi determinante para ter sido inferior em relação aos outros tratamentos com cobertura. Quanto ao tratamento SJ, sua inferioridade na atividade da fosfatase ácida pode ser atribuída ao fato desta ser uma planta que passou pelo processo de domesticação (LIU et al., 2019a)(SPOR et al., 2020).

No terceiro ciclo, onde a cultura da soja foi comum a todos os tratamentos, o tratamento Cs-Bz apresentou o maior valor da atividade enzimática ($277,78 \mu\text{g PNF} \cdot \text{g}^{-1} \text{ solo} \cdot \text{h}^{-1}$) no solo A (Figura 7A).

A *C. spectabilis* é uma leguminosa que produz exsudatos radiculares de compostos ricos em carbono que são liberados na rizosfera, com potencial para recrutamento de microrganismos do solo (MORE; SHINDE; KASTURE, 2019). A *U. ruziziensis* é uma planta de cobertura que tem por característica a exsudação de fosfatases por suas raízes, como um mecanismo para hidrolisar o P-orgânico do solo (LOUW-GAUME et al., 2017).

Num sistema de sucessão com culturas de cobertura a atividade enzimática varia durante o crescimento da cultura comercial subsequente, com base nas coberturas que foram cultivadas anteriormente (NEVINS; LACEY; ARMSTRONG, 2020), o que traduz o destaque do efeito acumulado na sucessão das plantas de cobertura na atividade da fosfatase ácida no tratamento Cs-Bz.

No terceiro ciclo do solo B é possível observar o baixo rendimento na atividade da fosfatase ácida dos tratamentos que contaram com a *U. ruziziensis* no segundo ciclo (Figura 7B).

A *U. ruziziensis* é uma gramínea, com crescimento rápido e contínuo, no qual suas raízes abrangem boa parte do solo, explorando-o de maneira eficaz (SALTON; TOMAZI, 2014). Aliado a isso, a *U. ruziziensis* tem a capacidade de secretar ácidos orgânicos que atuam na superfície de óxidos de Fe e Al, levando a dessorção do P, tornando-o lábil (LOUW-GAUME et al., 2017; ALMEIDA et al., 2018a).

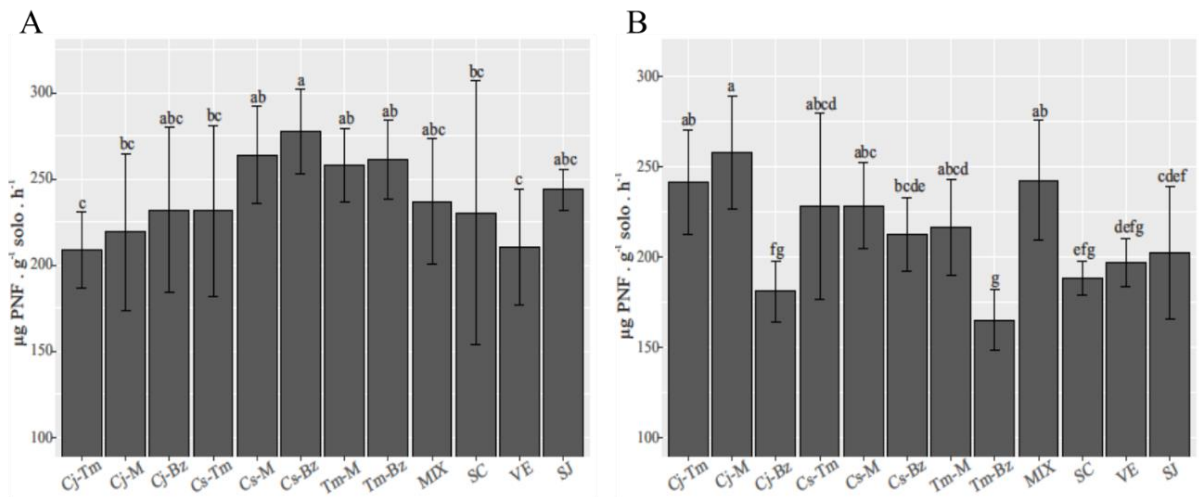


Figura 7. Atividade da fosfatase ácida no terceiro ciclo da sucessão de culturas no solo advindo de área com vegetação nativa (A) e no solo advindo de área submetida ao manejo agrícola (B) nos tratamentos com a sucessão culturas *Crotalaria juncea* e Trigo mourisco (Cj-Tm), *Crotalaria juncea* e Milheto (Cj-M), *Crotalaria juncea* e *Urochloa ruziziensis* (Cj-Bz), *Crotalaria spectabilis* e Trigo mourisco (Cs-Tm), *Crotalaria spectabilis* e Milheto (Cs-M), *Crotalaria spectabilis* e *Urochloa ruziziensis* (Cs-Bz), consórcio de coberturas (MIX), solo sem cobertura (SC), vegetação espontânea (VE) e sucessão de soja (SJ). As médias seguidas pela mesma letra não diferiram (Kruskal-Wallis, 5%).

Essa capacidade da *U. ruziziensis* demonstra seu potencial em promover a ciclagem de P no solo, o que provavelmente ocasionou uma quantidade maior de P disponível no terceiro ciclo do solo B nos tratamentos que continham *U. ruziziensis* (APÊNDICE B). As plantas e microrganismos tendem a secretar fosfatases extracelulares em ambientes com baixa disponibilidade de P (LOUW-GAUME et al., 2017), o que pode explicar os baixos níveis de atividade da fosfatase ácida do terceiro ciclo nos tratamentos compostos pela *U. ruziziensis*.

6.3 Atividade da enzima arilsulfatase

No primeiro ciclo do experimento no solo advindo da área com vegetação nativa (A) houve um comportamento interessante dos tratamentos com *C. spectabilis* (Cs-Tm, Cs-Bz e Cs-M) na atividade da arilsulfatase, apresentando valores altos, baixos e intermediários entre os tratamentos (Figura 8A).

Na prática, no primeiro ciclo, os tratamentos Cs-Tm, Cs-Bz e Cs-M foram iguais, tendo a *C. spectabilis* como cobertura. Apesar disso, o tratamento Cs-Tm detentor da maior atividade da arilsulfatase ($57,32 \mu\text{g PNS} \cdot \text{g}^{-1} \text{ solo} \cdot \text{h}^{-1}$), apresentou a maior quantidade de matéria

orgânica entre os tratamentos (APÊNDICE A), o que provavelmente foi determinante para que este tratamento obtivesse a maior atividade da enzima arilsulfatase.

Em áreas com grande quantidade de carbono orgânico, a microbiota do solo converte os elementos que estão na forma orgânica para a forma lábil (JING et al., 2017). A maior parte do enxofre do solo existe como S orgânico, representando cerca de 90% do S total, destes, o éster sulfato pode compreender até 70% (SCHERER, 2001; CHEN et al., 2019a). A enzima arilsulfatase atua na hidrólise de ésteres de sulfato, sendo fundamental na mineralização do S orgânico do solo (KERTESZ; MIRLEAU, 2004).

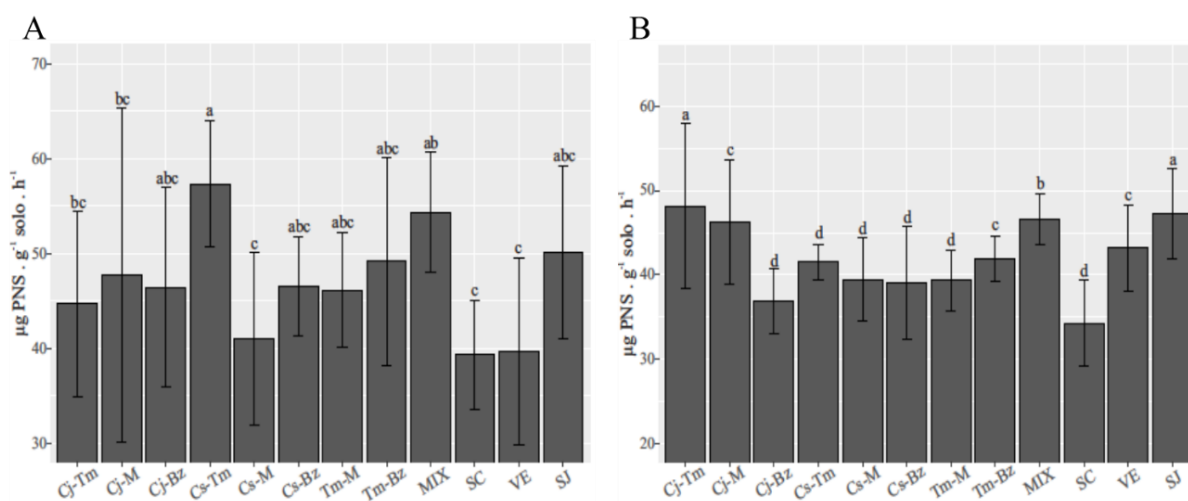


Figura 8. Atividade da arilsulfatase no primeiro ciclo da sucessão de culturas no solo advindo de área com vegetação nativa (A) e no solo advindo de área submetida ao manejo agrícola (B) nos tratamentos com a sucessão culturas *Crotalaria juncea* e Trigo mourisco (Cj-Tm), *Crotalaria juncea* e Milheto (Cj-M), *Crotalaria juncea* e *Urochloa ruziziensis* (Cj-Bz), *Crotalaria spectabilis* e Trigo mourisco (Cs-Tm), *Crotalaria spectabilis* e Milheto (Cs-M), *Crotalaria spectabilis* e *Urochloa ruziziensis* (Cs-Bz), consórcio de coberturas (MIX), solo sem cobertura (SC), vegetação espontânea (VE) e sucessão de soja (SJ). No solo A as médias seguidas pela mesma letra não diferiram (Kruskal-Wallis, 5%). No solo B as médias seguidas pela mesma letra não diferiram (Scott e Knott, 5%).

No solo advindo de área submetida ao manejo agrícola (B), diferente do solo A, os tratamentos com *C. spectabilis* tiveram uma uniformidade em seus resultados, entretanto, com níveis inferiores da atividade da arilsulfatase em relação a maioria dos tratamentos ($p \leq 0,05$) (Figura 8B). Um dos tratamentos com maior atividade da arilsulfatase foi o SJ. Tal resultado traz a peculiaridade de contar com o tratamento da cultura da soja, que até então, levando em

consideração as demais enzimas, não havia se destacado com níveis de atividade enzimática superiores aos demais tratamentos.

No solo A do segundo ciclo, houve maior atividade da arilsulfatase no tratamento MIX ($p \leq 0,05$) (Figura 9A).

O cultivo de plantas de cobertura consorciadas, que compreende o tratamento MIX, proporcionou a maior atividade da arilsulfatase neste segundo ciclo, provavelmente por contar com coberturas de diferentes famílias. A diversificação de culturas de cobertura tende a ocasionar uma maior dinâmica dos microrganismos presentes no solo, acarretando num aumento da atividade biológica em sistemas diversificados (SOUSA et al., 2020).

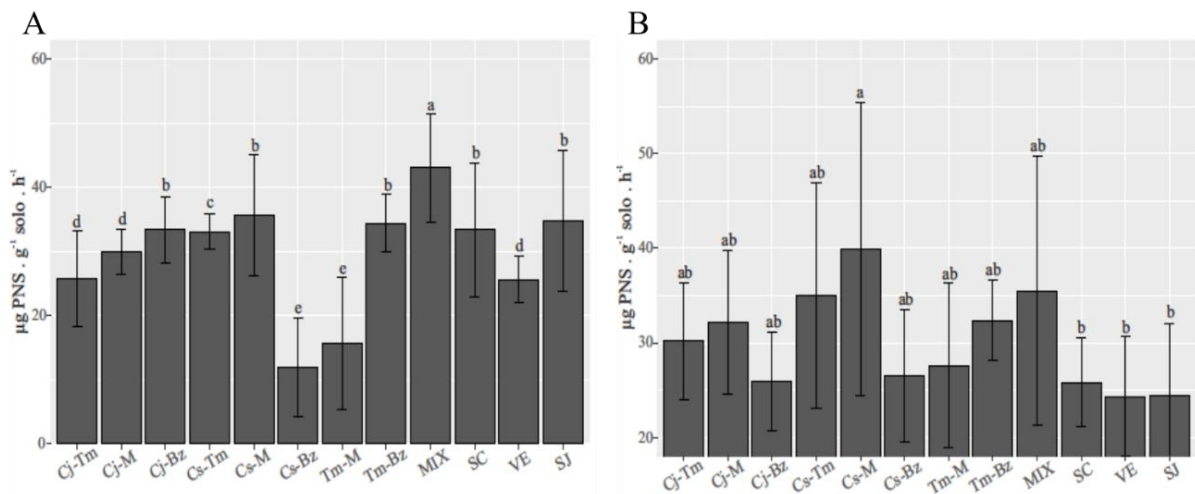


Figura 9. Atividade da arilsulfatase no segundo ciclo da sucessão de culturas no solo advindo de área com vegetação nativa (A) e no solo advindo de área submetida ao manejo agrícola (B) nos tratamentos com a sucessão culturas *Crotalaria juncea* e Trigo mourisco (Cj-Tm), *Crotalaria juncea* e Milheto (Cj-M), *Crotalaria juncea* e *Urochloa ruziziensis* (Cj-Bz), *Crotalaria spectabilis* e Trigo mourisco (Cs-Tm), *Crotalaria spectabilis* e Milheto (Cs-M), *Crotalaria spectabilis* e *Urochloa ruziziensis* (Cs-Bz), consórcio de coberturas (MIX), solo sem cobertura (SC), vegetação espontânea (VE) e sucessão de soja (SJ). No solo A as médias seguidas pela mesma letra não diferiram (Scott e Knott, 5%). No solo B as médias seguidas pela mesma letra não diferiram (Kruskal-Wallis, 5%).

No solo B, o tratamento Cs-M apresentou a maior atividade da arilsulfatase e os tratamentos SC, VE e SJ, apresentaram a menor atividade da enzima entre os tratamentos ($p \leq 0,05$) (Figura 9B).

O tratamento Cs-M não havia se destacado perante as outras coberturas no primeiro ciclo com o efeito da *C. spectabilis*, contudo, o milheto presente no segundo ciclo do tratamento proporcionou seu destaque. O resultado corrobora com pesquisa feita por Choudhary et al. (2019) que observaram que a maior densidade da cultura do milheto esteve correlacionada com a maior atividade da enzima arilsulfatase.

Os tratamentos com menor atividade da arilsulfatase neste segundo ciclo do solo B, compreenderam os tratamentos que não detêm de plantas de cobertura em suas sucessões (SC, VE e SJ). A falta de vegetação no tratamento SC é o que provavelmente foi determinante para baixa atividade enzimática. A inferioridade do tratamento VE confronta os resultados encontrado por Simon et al. (SIMON et al., 2017), que constataram o destaque no tratamento chamado pousio composto pela vegetação espontânea na atividade da arilsulfatase, contudo, provavelmente o tratamento pousio em questão contou com plantas diferentes das que compuseram o tratamento VE do presente estudo.

O tratamento SJ apresentou comportamento diferente do observado no primeiro ciclo, quando foi constatado uma das maiores atividades da arilsulfatase na ocasião. Provavelmente por conta da sucessão entre os ciclos pela mesma cultura neste tratamento, levando em consideração que se trata de uma cultura comercial que passou pelo processo de domesticação, o que possivelmente interferiu na diversidade microbiana do solo (ZHOU; LIU; WU, 2017; GAŁAZKA; GRZADZIEL, 2018), reduzindo a atividade biológica neste tratamento no segundo ciclo.

No terceiro ciclo, onde a cultura da soja foi comum a todos os tratamentos, o tratamento Cs-Bz apresentou a maior atividade da arilsulfatase ($p \leq 0,05$) entre os tratamentos no solo A (Figura 10A).

O tratamento Cs-Bz demonstrou proporcionar um efeito acumulado no solo A, apresentando altos níveis de atividade enzimática para as três enzimas analisadas no terceiro ciclo. Quando uma enzima é liberada no solo ela pode ser imediatamente metabolizada pelos microrganismos ou interagir com as superfícies dos colóides do solo, mantendo sua atividade por períodos de tempo mais estendidos, desde que os locais ativos da enzima permaneçam funcionais (BURNS et al., 2013; ELZOBAIR; STROMBERGER; IPPOLITO, 2016).

No terceiro ciclo do solo B, Cs-Bz também foi o tratamento com maior atividade da arilsulfatase em relação aos demais ($p \leq 0,05$) (Figura 10B), demonstrando seu potencial no efeito acumulado no solo para produção enzimática, interferindo na cultura da soja que compreendeu o terceiro ciclo (NEVINS; LACEY; ARMSTRONG, 2020).

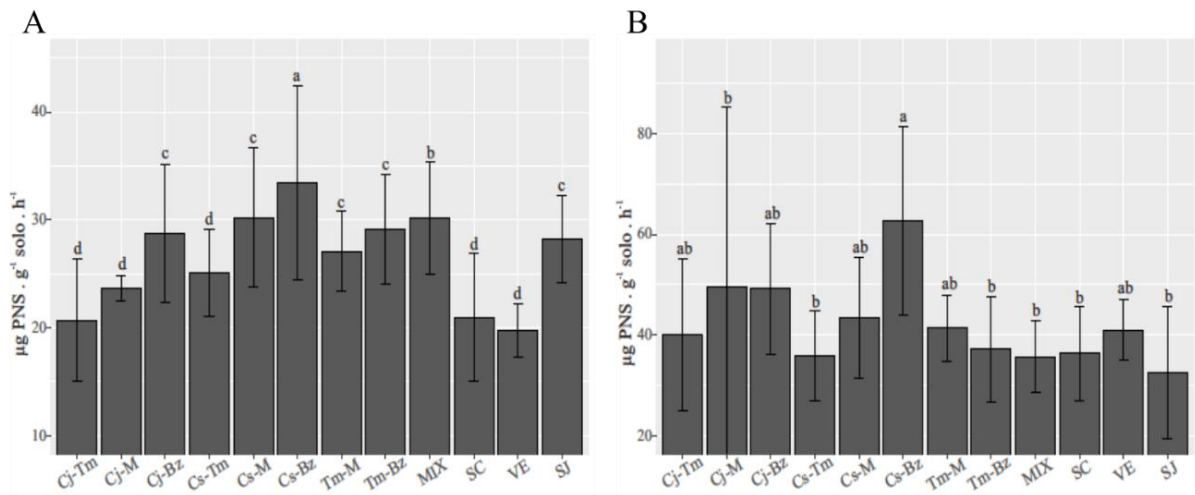


Figura 10. Atividade da arilsulfatase no terceiro ciclo da sucessão de culturas no solo advindo de área com vegetação nativa (A) e no solo advindo de área submetida ao manejo agrícola (B) nos tratamentos com a sucessão culturas *Crotalaria juncea* e Trigo mourisco (Cj-Tm), *Crotalaria juncea* e Milheto (Cj-M), *Crotalaria juncea* e *Urochloa ruziziensis* (Cj-Bz), *Crotalaria spectabilis* e Trigo mourisco (Cs-Tm), *Crotalaria spectabilis* e Milheto (Cs-M), *Crotalaria spectabilis* e *Urochloa ruziziensis* (Cs-Bz), consórcio de coberturas (MIX), solo sem cobertura (SC), vegetação espontânea (VE) e sucessão de soja (SJ). No solo A as médias seguidas pela mesma letra não diferiram (Scott e Knott, 5%). No solo B as médias seguidas pela mesma letra não diferiram (Kruskal-Wallis, 5%).

A *U. ruziziensis* demonstra papel importante na sucessão, pois os outros tratamentos que compreenderam a *C. spectabilis* no primeiro ciclo não tiveram uma atividade da arilsulfatase tão alta quanto, corroborando com Simon et al. (2017), que constatou níveis superiores na atividade da arilsulfatase em solo com *U. ruziziensis* em detrimento a outras coberturas. Vale salientar que nos outros tratamentos que tiveram a *U. ruziziensis* no segundo ciclo, se obteve níveis menores na atividade da arilsulfatase, evidenciando também a importância da *C. spectabilis* no efeito acumulado do tratamento Cs-Bz.

6.4 Abundância do gene *nifH*

No primeiro ciclo do solo A o tratamento Cj-M apresentou a maior abundância do gene *nifH*, enquanto o tratamento SC apresentou a menor abundância do gene ($p \leq 0,05$) (Figura 11A).

A *C. juncea* é uma cultura de cobertura amplamente utilizada na agricultura, difundida em cultivos conservacionistas para melhorar atributos do solo e elevar a produtividade

(COLLIER et al., 2018; DA SILVA et al., 2020). O nitrogênio é um fator limitante na agricultura, sendo fundamental a implantação de manejos que incrementem e otimizem N no sistema (ROSOLEM et al., 2017).

Índices elevados na abundância do gene *nifH* no solo são importantes nos cultivos agrícolas (LIU et al., 2019b). A relação leguminosa-microrganismos na rizosfera é algo consolidado, determinante para aumentar o aporte de nitrogênio no sistema (MORE; SHINDE; KASTURE, 2019). O destaque da *C. juncea* com valores superiores de log de *nifH* por grama de solo dentre as demais coberturas, provavelmente está atrelado ao fato desta ser uma leguminosa, capaz de fixar N associado com bactérias diazotróficas (MENDONÇA et al., 2017).

O menor valor de log de *nifH* por grama de solo no tratamento SC provavelmente foi proporcionado pela falta de vegetação no tratamento, que tende a empobrecer a diversidade da comunidade microbiana no solo que é influenciada pelo tipo de vegetação, muitas vezes intimamente, na relação planta-microrganismo acentuada na rizosfera (ZHAO et al., 2019; WANG et al., 2020b).

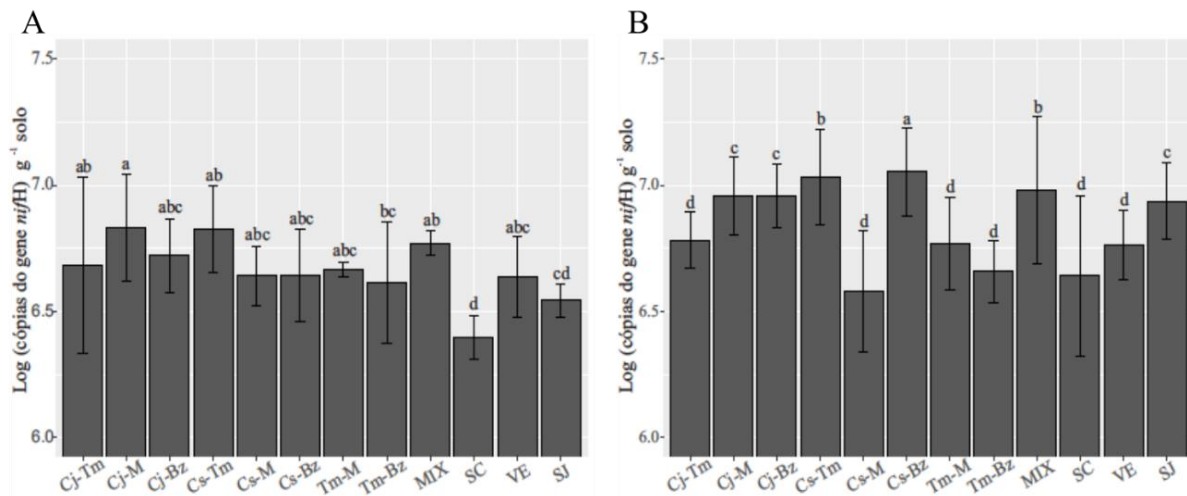


Figura 11. Abundância do gene *nifH* no primeiro ciclo da sucessão de culturas no solo advindo de área com vegetação nativa (A) e no solo advindo de área submetida ao manejo agrícola (B) nos tratamentos com a sucessão culturas *Crotalaria juncea* e Trigo mourisco (Cj-Tm), *Crotalaria juncea* e Milheto (Cj-M), *Crotalaria juncea* e *Urochloa ruziziensis* (Cj-Bz), *Crotalaria spectabilis* e Trigo mourisco (Cs-Tm), *Crotalaria spectabilis* e Milheto (Cs-M), *Crotalaria spectabilis* e *Urochloa ruziziensis* (Cs-Bz), consórcio de coberturas (MIX), solo sem cobertura (SC), vegetação espontânea (VE) e sucessão de soja (SJ). No solo A as médias seguidas pela mesma letra não diferiram (Kruskal-Wallis, 5%). No solo B as médias seguidas pela mesma letra não diferiram (Scott e Knott, 5%).

No primeiro ciclo do solo B, a maior abundância do gene *nifH* foi no tratamento Cs-Bz ($p \leq 0,05$), que corresponde a outra espécie de *Crotalaria* do experimento (Figura 11B).

A *C. spectabilis* é uma leguminosa que atua em simbiose com microrganismos fixadores de nitrogênio presentes na rizosfera (MENDONÇA et al., 2017), o que justifica o maior valor de log de *nifH* por grama de solo no tratamento Cs-Bz.

O ambiente rizosfera compreende uma comunidade microbiana distinta da comunidade microbiana do solo como um todo. A rizosfera geralmente é composta por uma maior abundância de microrganismos, contudo com uma menor diversidade em relação ao solo (BARRET et al., 2011), fato proporcionado pelo recrutamento executado pelas plantas com a exsudação radicular de compostos ricos em carbono (MORE; SHINDE; KASTURE, 2019).

A fixação de nitrogênio acentuada nas leguminosas é proporcionada pela específica exsudação radicular dessas espécies de plantas que desencadeiam uma série de fatores na comunidade microbiana do solo, selecionando e atraindo os microrganismos fixadores de N para rizosfera (DEBELLÉ et al., 2001). Os microrganismos que fixam N em simbiose com leguminosas compreendem alguns gêneros de bactérias como *Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, dentre outros, conhecidos em geral como rizóbios (HAMEED et al., 2004).

A exsudação radicular das leguminosas ativam genes de nodulação (*nod*, *noe*, *nol*) presentes de forma específica nos rizóbios, que são expressos a partir do reconhecimento dos exsudatos (BROUGHTON et al., 2003). Em experimento desenvolvido na Índia, Sankhla e colaboradores (2018) demonstraram que *Crotalaria* spp. foram efetivamente noduladas por rizóbios.

No segundo ciclo do experimento, as gramíneas (milheto e *U. ruziziensis*) junto ao trigo mourisco são as culturas que sucedem as *Crotalarias* que sobressaíram as demais coberturas no ciclo anterior. No solo A houve maior abundância do gene *nifH* no tratamento MIX ($p \leq 0,05$) (Figura 12A).

O consórcio que compõe o tratamento MIX detém uma planta leguminosa em seu coquetel, a *C. spectabilis*, que atua em simbiose com microrganismos fixadores de N (MENDONÇA et al., 2017). Além da *Crotalaria*, o milheto e o trigo mourisco fazem parte do MIX. O consórcio de plantas de cobertura proporciona a influência de diferentes famílias de plantas de cobertura na comunidade microbiana do solo, essa diversificação tende a ocasionar uma maior abundância nos microrganismos do solo (DUCHENE; VIAN; CELETTE, 2017; COUËDEL et al., 2019), o que provavelmente contribuiu para o maior valor de log de *nifH* por grama de solo no tratamento MIX.

Não existem relatos na literatura sobre bactérias diazotróficas associados ao trigo mourisco, entretanto, se tem ciência de que bactérias diazotróficas endofíticas e de rizosfera se associam ao milho tendo forte influência em seu desenvolvimento. (FAROKH et al., 2011; RODRIGUES et al., 2016; PURI; PADDA; CHANWAY, 2018). A ação dessas bactérias diazotróficas é relevante, resultando numa potencial fonte de nitrogênio nos sistemas agrícolas (CARDOSO; ANDREOTE, 2016).

Diferente da relação leguminosa-rizóbio, as bactérias associativas não atuam de maneira tão íntima com seu hospedeiro, de tal forma que a interação entre planta-microrganismo não é essencial para o processo de fixação de N, em contrapartida a quantidade de N fixado por essas bactérias é bem menor se comparado ao que é fixado na interação das leguminosas com as bactérias fixadoras (CARDOSO; ANDREOTE, 2016).

A composição da comunidade microbiana do solo no tratamento MIX, provavelmente, contou com a abundância de bactérias diazotróficas que atuaram em simbiose com a *Crotalaria* e que se associaram ao milho, justificando o maior valor de log de *nifH* por grama de solo neste tratamento.

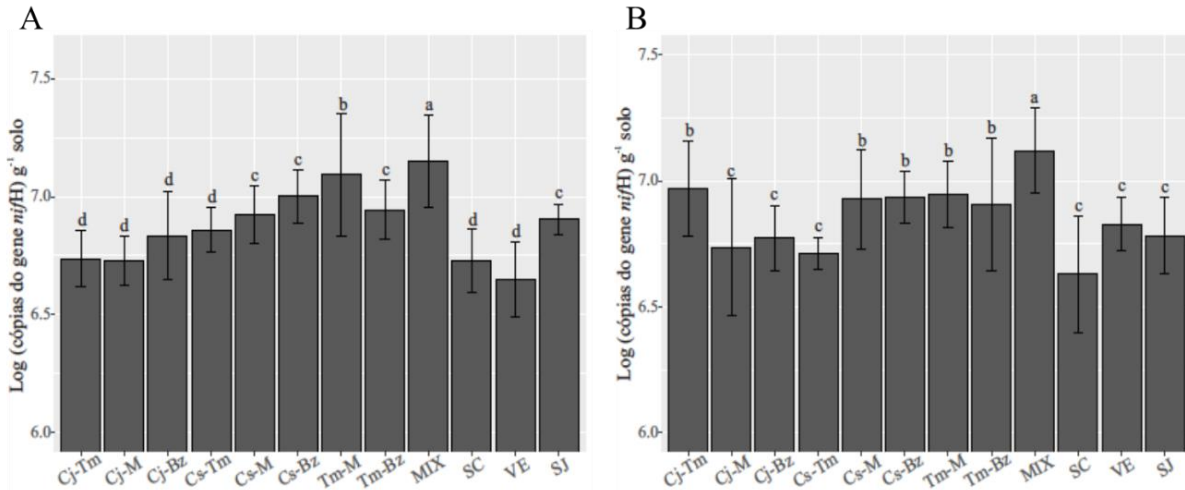


Figura 12. Abundância do gene *nifH* no segundo ciclo da sucessão de culturas no solo advindo de área com vegetação nativa (A) e no solo advindo de área submetida ao manejo agrícola (B) nos tratamentos com a sucessão culturas *Crotalaria juncea* e Trigo mourisco (Cj-Tm), *Crotalaria juncea* e Milheto (Cj-M), *Crotalaria juncea* e *Urochloa ruziziensis* (Cj-Bz), *Crotalaria spectabilis* e Trigo mourisco (Cs-Tm), *Crotalaria spectabilis* e Milheto (Cs-M), *Crotalaria spectabilis* e *Urochloa ruziziensis* (Cs-Bz), consórcio de coberturas (MIX), solo sem cobertura (SC), vegetação espontânea (VE) e sucessão de soja (SJ). As médias seguidas pela mesma letra não diferiram (Scott e Knott, 5%).

No segundo ciclo do solo B também houve maior abundância do gene *nifH* no tratamento MIX ($p \leq 0,05$). Entre as demais coberturas os tratamentos apresentaram variações, contudo os três tratamentos que não continham culturas de coberturas em suas sucessões apresentaram os menores valores de log de *nifH* por grama de solo em relação a maioria dos tratamentos (Figura 12B).

A diversificação das coberturas no tratamento MIX, que conta em seu consórcio com uma planta leguminosa e com uma gramínea, é o que provavelmente proporcionou o maior valor de log de *nifH* por grama de solo neste tratamento. Como observado por Barros et al. (2018), que evidenciou o aumento de bactérias fixadoras de N no consórcio entre leguminosas e gramíneas.

O tratamento SC não detém de nenhuma vegetação durante os dois primeiros ciclos. Manter o solo nu durante períodos de pousio podem trazer prejuízos ambientais (COUËDEL et al., 2018), além do que, o período sem vegetação pode influenciar negativamente os microrganismos do solo, limitando as comunidades microbianas que tem interação com espécies vegetais (ZHAO et al., 2019; WANG et al., 2020b).

As culturas de cobertura apresentam características que lhe conferem melhorar atributos do solo (CALEGARI, 2016), o que provavelmente proporciona que solos com plantas de cobertura apresentem maior diversidade microbiana em relação a solos com vegetação espontânea, presente no tratamento VE, além disso, por ter sido submetido ao manejo agrícola, a vegetação espontânea do solo B não detinha de alta diversificação vegetal, devido controle que seguramente ocorreu neste solo antes do experimento, o que provavelmente influenciou o menor valor de log de *nifH* por grama de solo neste tratamento em detrimento aos tratamentos compostos pelas culturas de cobertura.

O tratamento SJ condiz com a sucessão da cultura da soja entre os ciclos. A soja é uma leguminosa que apresenta uma relação com as bactérias fixadoras de N consolidada e explorada na agricultura (CLÚA et al., 2018). Hungria et al. (2005) defendem que a fixação biológica de nitrogênio possibilita um aporte de N suficiente para que se atinja uma alta produtividade de grãos. Contudo, a eficiência desse processo, especialmente em regiões tropicais, exige uma série de fatores que vão desde as condições edafoclimáticas até as práticas de manejo (HUNGRIA et al., 2007; CAMPO; ARAUJO; HUNGRIA, 2009), além do que, na sojicultura, as sementes são previamente inoculadas com bactérias do gênero *Bradyrhizobium* (ZILLI et al., 2010) procedimento que não ocorreu com as sementes usadas no experimento. Todos esses fatores, provavelmente influenciaram para que o tratamento SJ obtivesse um menor valor de log de *nifH* por grama de solo em relação aos tratamentos com plantas de cobertura.

6.5 Abundância do gene *phoD*

No primeiro ciclo do solo A o tratamento Cs-Tm apresentou a maior abundância do gene *phoD*, enquanto os tratamentos SC, VE e SJ apresentaram a menor abundância do gene ($p \leq 0,05$) (Figura 13A).

O gene *phoD* faz parte do grupo de genes *Pho Regulon* codificadores das enzimas fosfatases que atuam na mineralização do fósforo orgânico (Po) (SANTOS-BENEIT, 2015; FRASER et al., 2017). Comunidades microbianas que apresentam o gene *phoD* tem potencial para trazer ganhos agrônômicos e ecológicos na ciclagem do fósforo para os solos que detém destas comunidades. O tipo de manejo pode influenciar a abundância de gene *phoD* no solo (FRASER et al., 2015).

As plantas leguminosas têm potencial para maximizar a comunidade bacteriana solubilizadora do Po, pois boa parte das bactérias fixadoras de N são capazes de produzir fosfatases, a fim de manter altas concentrações de P nos nódulos radiculares, em virtude da necessidade do elemento P na fixação biológica de N (ARAÚJO; PLASSARD; DREVON, 2008), o que pode justificar o maior valor de log de *phoD* por grama de solo no tratamento Cs-Tm.

A falta de vegetação no tratamento SC provavelmente limita a microbiota do solo, por interferir nas comunidades microbianas que interagem diretamente com espécies vegetais (ZHAO et al., 2019; WANG et al., 2020b). A vegetação espontânea do tratamento VE provavelmente proporcionou uma menor diversidade microbiana em relação aos tratamentos com plantas de cobertura, o que pode ter acarretado em uma comunidade microbiana solubilizadora de Po detentora do gene *phoD* menos eficaz.

A cultura da soja, presente no tratamento SJ, é uma leguminosa que executa simbiose com microrganismos fixadores de N (HUNGRIA et al., 2005), o que pode acarretar na codificação do gene *phoD* por essas bactérias, devido a necessidade do P na fixação (ARAÚJO; PLASSARD; DREVON, 2008), contudo, o menor valor de log de *phoD* por grama de solo no tratamento SJ em relação as coberturas leguminosas, pode estar atrelado a provável maior diversidade de microrganismos solubilizadores de Po presente nos tratamentos com culturas de cobertura em detrimento a soja.

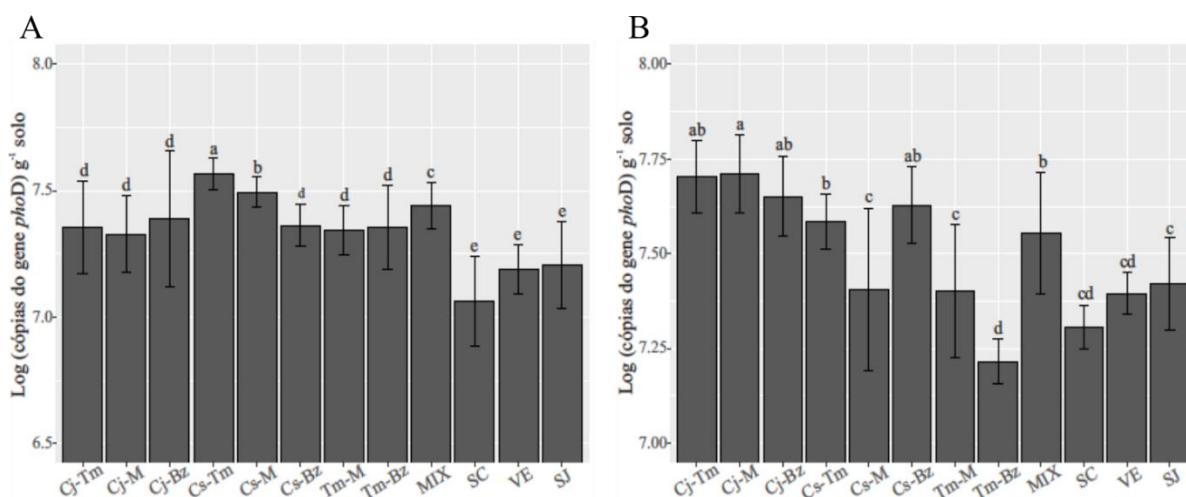


Figura 13. Abundância do gene *phoD* no primeiro ciclo da sucessão de culturas no solo advindo de área com vegetação nativa (A) e no solo advindo de área submetida ao manejo agrícola (B) nos tratamentos com a sucessão culturas *Crotalaria juncea* e Trigo mourisco (Cj-Tm), *Crotalaria juncea* e Milheto (Cj-M), *Crotalaria juncea* e *Urochloa ruziziensis* (Cj-Bz), *Crotalaria spectabilis* e Trigo mourisco (Cs-Tm), *Crotalaria spectabilis* e Milheto (Cs-M), *Crotalaria spectabilis* e *Urochloa ruziziensis* (Cs-Bz), consórcio de coberturas (MIX), solo sem cobertura (SC), vegetação espontânea (VE) e sucessão de soja (SJ). No solo A as médias seguidas pela mesma letra não diferiram (Scott e Knott, 5%). No solo B as médias seguidas pela mesma letra não diferiram (Kruskal-Wallis, 5%).

No solo B houve maior abundância do gene *phoD* no tratamento Cj-M e o tratamento Tm-Bz deteve do menor valor de log de *phoD* por grama de solo entre os tratamentos ($p \leq 0,05$) (Figura 13B).

O maior valor de log de *phoD* por grama de solo pertenceu a um tratamento com uma planta de cobertura leguminosa, nesse caso a *C. juncea*. Os motivos que proporcionaram esse maior valor possivelmente estão atrelados aos mesmos prováveis fatores ocorridos no solo A, em que se há uma maior abundância de microrganismos fixadores de N, capazes de solubilizar P_o (ARAÚJO; PLASSARD; DREVON, 2008) que provavelmente detém do gene *phoD*.

Como já frisado, bactérias diazotróficas são eficientes na solubilização de P_o (ARAÚJO; PLASSARD; DREVON, 2008), ativando os genes responsáveis por codificar as enzimas fosfatases conforme as condições do meio (FRASER et al., 2015). Já havia sido observado que o trigo mourisco no tratamento Tm-Bz foi inferior a maioria dos tratamentos com plantas leguminosas no valor de log de *nifH* por grama de solo no primeiro ciclo do solo B (Figura 11B), o que pode justificar a menor abundância de microrganismos

solubilizadores de Po detentores do gene *phoD*. Além dessa constatação, verifica-se também, que os tratamentos com trigo mourisco foram inferiores a maioria dos tratamentos com coberturas na atividade da fosfatase ácida (Figura 5B). Apesar do gene *phoD* não codificar a fosfatase ácida, Fraser et al. (2017) em estudo realizado no Canadá, constataram uma correlação entre o gene *phoD* e a atividade de fosfatases na rizosfera, que de maneira generalizada, tem como característica contar com um ambiente ácido (ZHOU et al., 2009).

No segundo ciclo foram implantadas as culturas milheto, *U. ruziziensis* e trigo mourisco que sucederam as *Crotalaria*s que compunham a maioria dos tratamentos no ciclo anterior. No solo A todos os tratamentos que tiveram *Crotalaria*s no primeiro ciclo foram inferiores aos demais tratamentos com outras plantas, com a ascensão dos tratamentos MIX, VE e SJ ($p \leq 0,05$) (Figura 14A).

A inferioridade na abundância do gene *phoD* nos tratamentos que detiveram de *Crotalaria*s que se destacaram no primeiro ciclo, pode indicar que a comunidade microbiana solubilizadora de Po pela ativação do gene *phoD* é frágil a alterações provocadas pelo tipo de vegetação (BAI et al., 2020).

A influência de diferentes plantas de cobertura no consórcio do tratamento MIX propicia uma diversificação no sistema com potencial para proporcionar uma maior abundância de microrganismos totais no solo (DUCHENE; VIAN; CELETTE, 2017; COUËDEL et al., 2019), o que provavelmente contribuiu para elevados valores de log de *phoD* por grama de solo, além do que, o tratamento MIX ainda contou com a *C. spectabilis* que foi destaque no primeiro ciclo do solo A.

No segundo ciclo, o tratamento SJ passou a ser o único composto completamente por uma cultura leguminosa, que se associa a bactérias com potencial para solubilizar o Po (ARAÚJO; PLASSARD; DREVON, 2008). No tratamento VE foi constatado um menor nível de P lábil em relação aos demais tratamentos (APÊNDICE A) o que justifica seu destaque nos valores de log de *phoD* por grama de solo, tendo em vista que a disponibilidade de P se correlaciona negativamente com a abundância do gene *phoD* (FRASER et al., 2017).

No solo B a maior abundância do gene *phoD* se deu no tratamento Cj-Tm, os demais tratamentos tiveram resultados similares, com o menor valor de log de *phoD* por grama de solo atribuído ao tratamento SC ($p \leq 0,05$) (Figura 14B).

A maioria dos tratamentos do segundo ciclo foram compostos pelas gramíneas milheto e *U. ruziziensis*, que não obtiveram maiores destaques na abundância do gene *phoD* apesar de todo seu potencial em melhorar os atributos do solo (ADETUNJI et al., 2020). Essa falta de destaque provavelmente está atrelada a incidência de microrganismos solubilizadores de fosfato

inorgânico na rizosfera de gramíneas, que tendem a disponibilizar fósforo ao meio (ZHANG et al., 2020), acarretando numa menor abundância do gene *phoD* (FRASER et al., 2017).

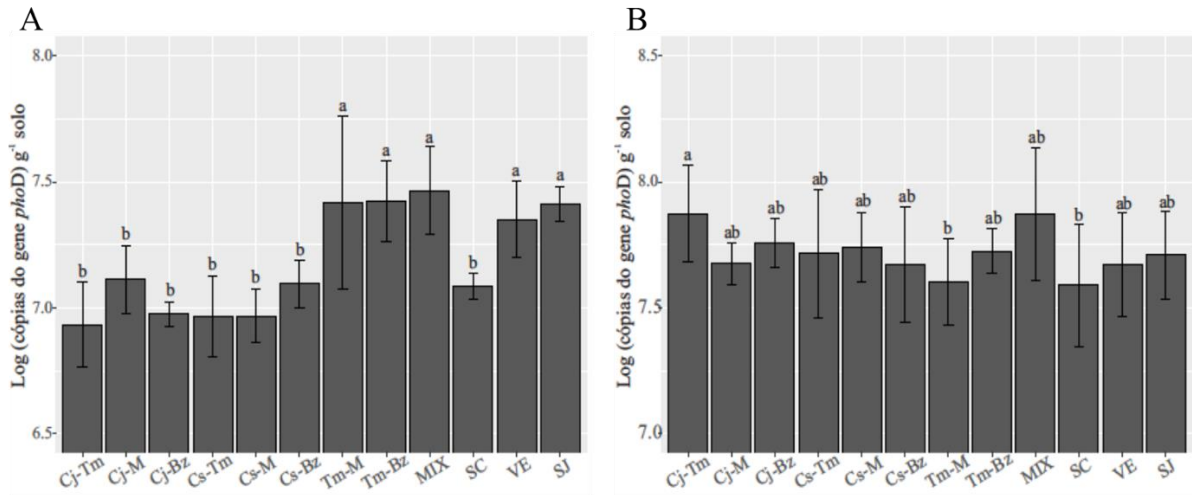


Figura 14. Abundância do gene *phoD* no segundo ciclo da sucessão de culturas no solo advindo de área com vegetação nativa (A) e no solo advindo de área submetida ao manejo agrícola (B) nos tratamentos com a sucessão culturas *Crotalaria juncea* e Trigo mourisco (Cj-Tm), *Crotalaria juncea* e Milheto (Cj-M), *Crotalaria juncea* e *Urochloa ruziziensis* (Cj-Bz), *Crotalaria spectabilis* e Trigo mourisco (Cs-Tm), *Crotalaria spectabilis* e Milheto (Cs-M), *Crotalaria spectabilis* e *Urochloa ruziziensis* (Cs-Bz), consórcio de coberturas (MIX), solo sem cobertura (SC), vegetação espontânea (VE) e sucessão de soja (SJ). No solo A as médias seguidas pela mesma letra não diferiram (Scott e Knott, 5%). No solo B as médias seguidas pela mesma letra não diferiram (Kruskal-Wallis, 5%).

6.6 Componentes de rendimento na produtividade da soja

Os componentes de rendimento avaliados demonstram a influência das sucessões das plantas de cobertura na cultura da soja no solo advindo de área com vegetação nativa (solo A) (Tabela 2).

A altura de planta da soja não diferiu entre os tratamentos. Contudo, como observado por Ribeiro et al. (2017), é estabelecido que o ideal para colheita mecanizada é ter uma altura de planta entre 60 e 120 cm, o que não foi observado para os tratamentos Tm-M, SC e SJ, que tiveram suas médias abaixo dos 60 cm. Na massa seca da parte aérea e na altura de inserção da primeira vagem, já é possível observar uma superioridade dos tratamentos com sucessões de culturas de cobertura em relação aos tratamentos que não tiveram plantas de cobertura em suas sucessões.

As variáveis número de vagens, número de grãos, massa seca de grãos e massa seca da parte aérea, detêm de resultados que são determinantes para traduzir o destaque na estimativa de produtividade para o tratamento Cj-M, seguidos pelos tratamentos MIX e Cj-Bz (Tabela 2).

Tabela 2. Componentes de rendimento da cultura da soja no solo A.

Tratamento	AP (cm) ¹	MSPA (g) ²	AIPV (cm) ²	NV ²	NG ²	MGF (g) ²	MGS (g) ²	EP (Kg.ha ⁻¹) ²
Cj-Tm	64,49 a	2,40 a	20,07 abcd	7,8 bcd	16,2 bcde	3,28 bcd	1,18 cdef	435,22 de
Cj-M	71,72 a	2,60 a	22,33 ab	12a	22,6 ab	3,77 abc	4,01 a	1263,32 a
Cj-Bz	96,04 a	2,74 a	21,32 abc	13,8 a	24,6 ab	6,21 ab	2,53 ab	902,96 abc
Cs-Tm	62,53 a	2,14 abc	20,24 abcd	6,8 cd	14 de	2,63 cd	0,93 ef	346,27 ef
Cs-M	61,63 a	2,66 a	18,07 bcd	9,6 abc	22 abc	4,07 abc	1,78 abc	623,91 bcd
Cs-Bz	67,31 a	2,46 ab	20,7 abcd	10,2 abc	23,2 abc	4,68 bc	1,9 bcde	677,9 bcd
Tm-M	51,65 a	2,02 abc	20,37 abcd	7,4 bcd	23,2 abcd	2,81 bcd	1,46 bcd	489,53 bcd
Tm-Bz	66,72 a	2,28 abc	18,83 bcd	10 abc	17 bcde	4,14 bcd	1,31 bcde	505,16 cd
MIX	72,23 a	2,70 a	22,46 a	10,6 ab	33 a	7,86 a	2,36 ab	921,98 ab
SC	58,07 a	1,78 bc	20,54 abcd	6 d	12,4 e	2,23 d	0,84 f	305,09 f
VE	71,92 a	1,73 c	16,62 d	7 cd	15,6 cde	3,1 cd	1,4 bcde	486,74 de
SJ	58,84 a	1,68 c	17,93 cd	7,4 cd	16,8 bcde	2,94 cd	1,05 def	389,68 de

AP: altura da planta; MSPA: massa seca da parte aérea; AIPV: altura de inserção da primeira vagem; NV: número de vagens por planta; NG: número de grãos por planta; MGF: massa de grãos fresca por planta; MGS: massa de grãos seca por planta; EP: estimativa da produtividade considerando a população de 300000 plantas por hectare. 1: as médias seguidas pela mesma letra não difiram (Scott e Knott, 5%); 2: as médias seguidas pela mesma letra não diferiram (Kruskal-Wallis, 5%).

Alguns parâmetros biológicos podem explicar o destaque dos tratamentos com essas sucessões de culturas na produtividade da soja. Os tratamentos Cj-M, Cj-Bz e MIX apresentaram bons resultados na atividade da enzima β -glucosidase e fosfatase ácida no segundo ciclo, que sucedeu a cultura da soja, que pôde usufruir do efeito acumulado das sucessões de culturas de cobertura que supostamente moldaram a comunidade microbiana, intensificando a atividade biológica, o que provavelmente contribuiu para o destaque na produtividade destes tratamentos.

As enzimas extracelulares atuam na decomposição e mineralização da matéria orgânica do solo, transformando-a em nutrientes disponíveis (ZHOU et al., 2019). A β -glucosidase está envolvida na etapa final de degradação da celulose (YANG et al., 2019b), transformando-a em compostos simples, que podem ser melhor explorados no solo (CHEN et al., 2016). A fosfatase ácida atua na mineralização do fósforo orgânico do solo (NANNIPIERI et al., 2011) fundamental do desenvolvimento das culturas, tendo em vista que o fósforo é um fator limitante dentre os vegetais (TAIZ e ZEIGER, 2013).

Analisando a atividade da arilsulfatase, abundância do gene *nifH* e do gene *phoD*, é possível observar a notoriedade do tratamento MIX no segundo ciclo, o que pode justificar o destaque da produtividade da soja neste tratamento, tendo em vista que a maior parte do enxofre do solo existe como S orgânico, sendo fundamental sua mineralização pela atividade da arilsulfatase (SCHERER, 2001), disponibilizando este elemento que é importante para desenvolvimento da soja (KOVALI, 2019), além das comunidades fixadoras de N e solubilizadoras de Po, disponibilizando N e P respectivamente, que são elementos fundamentais para produtividade na cultura da soja (JÚNIOR et al., 2010; ASTRIANI et al., 2020).

No solo advindo da área submetida ao manejo agrícola (solo B), também é possível observar a influência das sucessões das culturas de cobertura nos componentes de rendimento da soja (Tabela 3).

Tabela 3. Componentes de rendimento da cultura da soja no solo B.

Tratamento	AP (cm) ¹	MSPA (g) ²	AIPV (cm) ¹	NV ¹	NG ¹	MGF (g) ¹	MGS (g) ¹	EP (Kg.ha ⁻¹) ²
Cj-Tm	82,04 a	4,80 ab	19,52 a	29 a	67,8 a	12,47 a	9,32 a	2934,34 a
Cj-M	88,55 a	5,44 a	18,74 c	29,6 a	69,6 a	11,82 a	9,56 a	2957,03 a
Cj-Bz	79,55 a	4,29 abc	17,43 c	28,4 c	64,2 c	9,55 d	6,65 d	2108,54 bc
Cs-Tm	81,02 a	3,80 c	15,75 e	21,8 d	54,4 d	7,94 e	5,88 e	1843,82 de
Cs-M	75,60 a	4,48 abc	16,16 d	27,2 c	59,6 c	10,33 d	6,99 d	2227,63 b
Cs-Bz	89,49 a	5,35 a	17,75 c	26,8 c	65,8 c	12,03 c	8,58 c	2709,75 a
Tm-M	75,05 a	3,97 bc	15,20 f	23,4 d	49,6 d	8,03 e	5,74 e	1812,51 de
Tm-Bz	81,11 a	4,41 abc	17,70 c	23,6 d	55 c	9,64 d	7,22 d	2271,46 b
MIX	83,77 a	4,71 ab	19,22 b	29,4 b	65,8 b	12,01 b	8,9 b	2799,32 a
SC	71,95 a	3,55 c	13,35 g	22,2 d	42,6 d	7,37 e	5,08 e	1612,71 e
VE	74,10 a	4,30 abc	11,10 g	20,8 d	49,8 d	8,03 e	6,22 e	1936,15 cd
SJ	76,32 a	4,26 abc	15,23 f	20,2 d	43,4 d	7,22 e	5,41 e	1694,79 de

AP: altura da planta; MSPA: massa seca da parte aérea; AIPV: altura de inserção da primeira vagem; NV: número de vagens por planta; NG: número de grãos por planta; MGF: massa de grãos fresca por planta; MGS: massa de grãos seca por planta; EP: estimativa da produtividade considerando a população de 300000 plantas por hectare. 1: as médias seguidas pela mesma letra não difiram (Scott e Knott, 5%); 2: as médias seguidas pela mesma letra não diferiram (Kruskal-Wallis, 5%).

Assim como no outro solo, os tratamentos não distinguiram quanto a altura da planta, sendo observado diferença entre os tratamentos a partir da massa seca da parte aérea. Para altura na inserção da primeira vagem, os tratamentos SC e VE foram inferiores aos demais. A altura de inserção da primeira vagem é um parâmetro importante na cultura da soja, estando relacionado a eficiência da colheita mecanizada (FOLLMANN et al., 2019). Segundo Ramteke

et al. (2012) a altura de inserção da primeira vagem ideal para uma alta eficiência operacional é maior ou igual a 12 cm, índice que não foi atingido pelo tratamento VE.

As variáveis mais relacionadas ao rendimento da cultura que direcionam a estimativa na produtividade de grãos da soja, apontam para o destaque dos tratamentos Cj-Tm, Cj-M, Cs-Bz e MIX (Tabela 3). Analisando todas as variáveis biológicas presentes no estudo, é possível observar que esses tratamentos obtiveram destaque em uma ou mais destas variáveis, o que pode justificar a maior produtividade da cultura da soja que foi sucedida por estes tratamentos.

Dentre os destaques temos as *Crotalaria*s nos primeiros ciclos de cada tratamento, o que mostra a capacidade destas leguminosas em recrutar comunidades microbianas com potencial para melhorar os atributos do solo (MENDONÇA et al., 2017; COLLIER et al., 2018; DA SILVA et al., 2020). As leguminosas são amplamente usadas em sistemas de rotação e sucessão, afim de aumentar a produtividade de culturas comerciais (OJIEM et al., 2014; MADEMBO; MHLANGA; THIERFELDER, 2020). No presente estudo, vale frisar o quanto pode ser importante efeito acumulado das *Crotalaria*s conforme cada sucessão (NEVINS; LACEY; ARMSTRONG, 2020).

Quanto as coberturas do segundo ciclo que contemplam esses tratamentos, temos as gramíneas milheto e *U. ruziziensis*, que elevam o aporte de matéria orgânica no sistema e são importantes na ciclagem de nutrientes (ASCARI et al., 2018; TANAKA et al., 2019). Simon et al. (2019) constatou que essas gramíneas aumentaram os níveis de produtividade da cultura da soja semeada em área com o cultivo prévio dessas coberturas. Pouca informação se tem quanto a efeitos do trigo mourisco na incrementação de culturas comerciais, contudo, Cai e colaboradores (2019) observaram potencial na rentabilidade de sistemas diversificados de culturas de cobertura que contavam com a presença do trigo mourisco.

O destaque no tratamento MIX foi comum aos dois solos estudados, demonstrando em duas áreas com características diferentes, que o consórcio com culturas de cobertura tem potencial para moldar o microbioma do solo (WANG et al., 2020a) e conseqüentemente contribuir para um aumento da produtividade de uma cultura comercial que venha a ser cultivada em seqüência. Doltra e Olesen (2013) constataram em experimento na Dinamarca, que a mistura de culturas de cobertura proporcionou aumento na produtividade de culturas de grãos.

6.7 Estrutura da comunidade bacteriana

A estrutura da comunidade bacteriana foi analisada somente no solo A, pois no solo B cometemos um erro operacional, contudo, as amostras desse solo estão sendo sequenciadas para

análises futuras. Para esta análise foram observados 148 picos detectados, com quantidades variando entre 22 e 36 entre os diferentes tratamentos. A comunidade bacteriana do solo A apresentou variação na estrutura entre os tratamentos (PERMANOVA, $R^2 = 0,43$ com valor de $p = 0,001$) (Figura 15). Não é perceptível o estabelecimento de padrões de agrupamento, contudo podemos realizar inferências analisando os valores de correlação na comparação entre os tratamentos, como por exemplo, entre os tratamentos com sucessão de culturas de cobertura e o tratamento sem vegetação (SC) (Tabela 4).

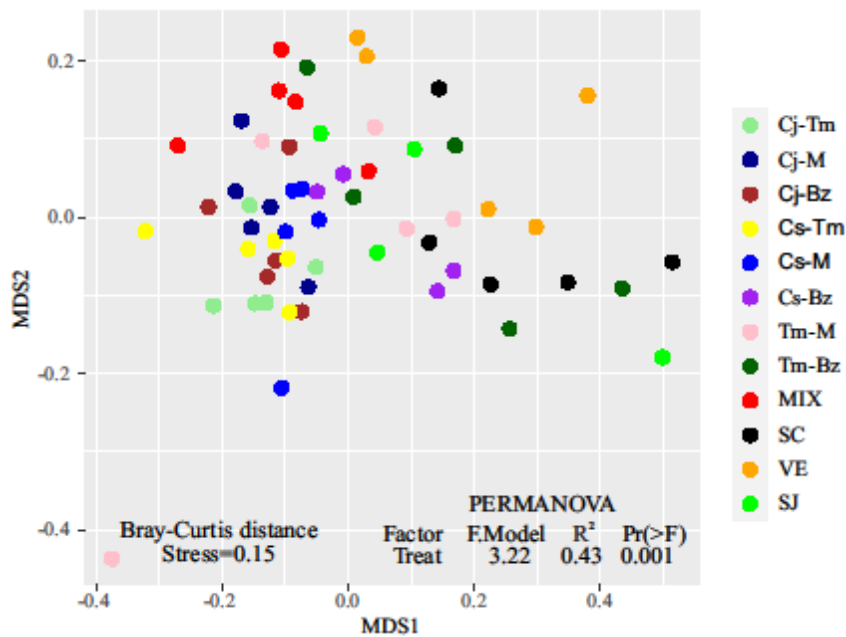


Figura 15: Escalonamento Multidimensional Não Métrico (NMDS) da comunidade bacteriana do solo advindo da área com vegetação nativa do segundo ciclo.

Baseado no teste de pareamento do Adonis para bactéria total, considerando os valores de R^2 , houve diferença na estrutura da comunidade bacteriana entre o tratamento SC e os tratamentos Cj-Tm, Cj-M, Cj-Bz, Cs-Tm e MIX ($p \text{ valor} \leq 0,01$) e também houve diferença entre o tratamento SC e os tratamentos Tm-M e VE ($p \text{ valor} \leq 0,05$). Os tratamentos SC e SJ não apresentaram diferença entre a comunidade bacteriana (Tabela 4).

Esses resultados demonstram que as sucessões entre culturas de cobertura estruturam a comunidade bacteriana do solo, tendo em vista a diferença da maioria dos seus tratamentos em relação ao solo que não detinha de nenhuma vegetação, além do que, a sucessão da cultura da soja (SJ), que não se caracteriza como uma planta de cobertura, não diferiu do tratamento SC.

A mudança na estrutura da comunidade bacteriana na maioria dos tratamentos com sucessão de culturas de cobertura em relação ao solo sem vegetação, pode estar atrelado ao

aporte de matéria orgânica proporcionado pelas coberturas ao sistema, considerando que as culturas de cobertura fornecem biomassa vegetal acima e abaixo do solo (GARCÍA-GONZÁLEZ et al., 2018; UDOM; BENWARI, 2019), além da capacidade das plantas de cobertura em recrutar microrganismos, aumentando a diversidade microbiana na rizosfera, favorecendo a estabilização de grupos específicos, moldando o microbioma do solo (KIM et al., 2020).

A falta de um padrão de agrupamento que proporcionasse uma baixa sobreposição entre a maioria dos tratamentos com culturas de cobertura, sugere que existem relações específicas entre as plantas de cobertura e as comunidades bacterianas (FINNEY; BUYER; KAYE, 2017). As culturas de cobertura trazem em comum a característica de melhorar os atributos do solo (NASCENTE et al., 2016; XAVIER et al., 2019; DA SILVA et al., 2020), contudo as peculiaridades de cada cultura, como a biomassa aérea e de raiz, a área de superfície, os exsudatos radiculares, trazem uma influência particular na comunidade bacteriana do solo (FINNEY; BUYER; KAYE, 2017).

Tabela 4. Valores das correlações de Adonis (R^2) obtidas nas matrizes de distância de Bray-Curtis para os eletreferogramas dos fragmentos de restrição terminal (T-RFLP) para comunidade bacteriana entre os tratamentos.

	Cj-Tm	Cj-M	Cj-Bz	Cs-Tm	Cs-M	Cs-Bz	Tm-M	Tm-Bz	MIX	SC	VE	SJ
Cj-M	0.20*	0										
Cj-Bz	0.09 ^{ns}	0.14 ^{ns}	0									
Cs-Tm	0.13 ^{ns}	0.19*	0.10 ^{ns}	0								
Cs-M	0.21*	0.14 ^{ns}	0.14 ^{ns}	0.19*	0							
Cs-Bz	0.34**	0.33**	0.27*	0.27**	0.27*	0						
Tm-M	0.26*	0.18 ^{ns}	0.18*	0.22*	0.15 ^{ns}	0.13 ^{ns}	0					
Tm-Bz	0.40**	0.35**	0.33**	0.36**	0.30**	0.07 ^{ns}	0.12 ^{ns}	0				
MIX	0.35**	0.23*	0.25*	0.28**	0.26*	0.30*	0.18 ^{ns}	0.26 ^{ns}	0			
SC	0.56**	0.58**	0.49**	0.54**	0.52 ^{ns}	0.30 ^{ns}	0.30*	0.20 ^{ns}	0.50**	0		
VE	0.49*	0.46**	0.42**	0.44**	0.42**	0.23 ^{ns}	0.23*	0.13 ^{ns}	0.31**	0.27*	0	
SJ	0.37**	0.36**	0.31**	0.32**	0.30**	0.17 ^{ns}	0.16 ^{ns}	0.12 ^{ns}	0.28*	0.23 ^{ns}	0.18 ^{ns}	0

ns: não significativo; **: ≤ 0.01 ; *: ≤ 0.05

6.8 Estrutura da comunidade fúngica

Assim como para comunidade bacteriana, a estrutura da comunidade fúngica foi analisada somente no solo A, por problemas operacionais ocorridos com as amostras do solo B, que também estão sendo sequenciadas para análises futuras, afim de preencher essa lacuna.

Para esta análise foram observados 581 picos detectados, com quantidades variando entre 230 e 325 entre os diferentes tratamentos. A comunidade fúngica do solo A apresentou variação na estrutura entre os tratamentos (PERMANOVA, $R^2 = 0,46$ com valor de $p = 0,001$). É perceptível o estabelecimento de dois padrões de agrupamento, um grupo com os tratamentos que compreenderam as sucessões com culturas de cobertura e um outro grupo em que estão quase a totalidade das amostras que não detinham de culturas de cobertura em suas sucessões (SC, VE e SJ) (Figura 16).

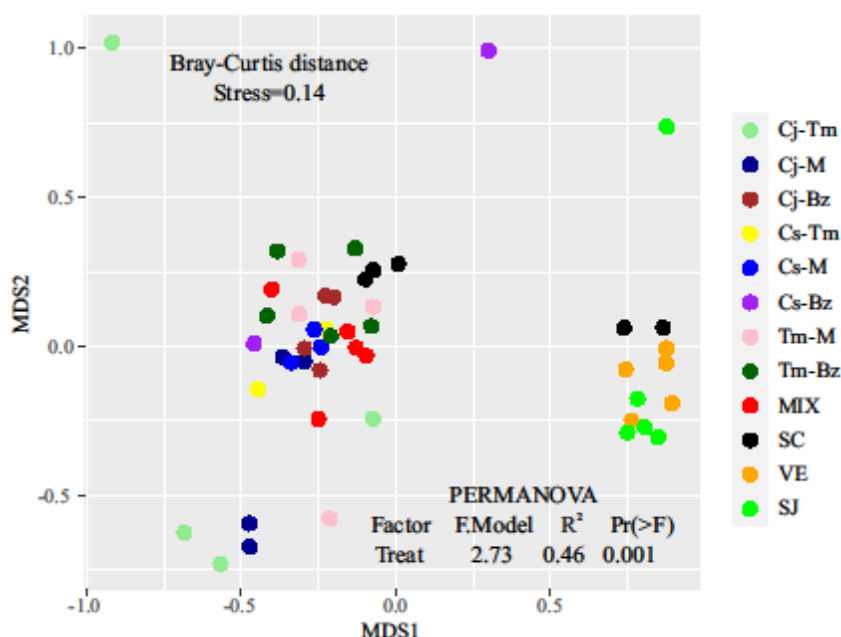


Figura 16: Escalonamento Multidimensional Não Métrico (NMDS) da comunidade fúngica do solo advindo da área com vegetação nativa do segundo ciclo.

Analisando o teste de pareamento do Adonis para fungo total, considerando os valores de R^2 , se observa uma baixa sobreposição entre a maioria dos tratamentos de culturas de cobertura, diferente do que aconteceu com a estrutura da comunidade bacteriana. Houve diferença na estrutura da comunidade fúngica entre o tratamento VE e os tratamentos Cj-Tm, Tm-M e SC ($p \text{ valor} \leq 0,01$), assim como entre o tratamento VE e os tratamentos Cj-M, Cj-Bz, Cs-M, Cs-Bz, Tm-Bz e MIX ($p \text{ valor} \leq 0,05$). Os tratamentos VE e SJ não apresentaram diferença entre a comunidade fúngica (Tabela 5).

A associação entre culturas de cobertura e comunidades de fungos, pode indicar um potencial uso de coberturas na recuperação dessas comunidades em solos que sofreram distúrbios causados no ambiente pela ação antrópica (SCHIPANSKI et al., 2014). Em trabalho realizado nos EUA, Finney et al. (2017) constataram que as culturas de cobertura modificam a

estrutura da comunidade fúngica e aumentam sua concentração no solo em comparação com a vegetação espontânea.

Por contar com a vegetação espontânea nos seus dois primeiros ciclos, o tratamento VE simula o que seria o chamado pousio, no cultivo agrícola. A diferença na estruturação da comunidade fúngica em quase a totalidade dos tratamentos com sucessões de culturas de cobertura em relação ao tratamento VE, demonstra a capacidade das plantas de cobertura em moldar o microbioma do solo (KIM et al., 2020) e o quanto pode ser interessante o investimento em coberturas para substituir o pousio nos sistemas agrícolas.

Tabela 5. Valores das correlações de Adonis (R^2) obtidas nas matrizes de distância de Bray-Curtis para os eletreferogramas dos fragmentos de restrição terminal (T-RFLP) para comunidade fúngica entre os tratamentos.

	Cj-Tm	Cj-M	Cj-Bz	Cs-Tm	Cs-M	Cs-Bz	Tm-M	Tm-Bz	MIX	SC	VE	SJ
Cj-M	0.15 ^{ns}	0										
Cj-Bz	0.26*	0.21 ^{ns}	0									
Cs-Tm	0.26 ^{ns}	0.25 ^{ns}	0.23 ^{ns}	0								
Cs-M	0.30 ^{ns}	0.26 ^{ns}	0.20 ^{ns}	0.28 ^{ns}	0							
Cs-Bz	0.25 ^{ns}	0.26 ^{ns}	0.27 ^{ns}	0.30 ^{ns}	0.29 ^{ns}	0						
Tm-M	0.24*	0.21 ^{ns}	0.13 ^{ns}	0.19 ^{ns}	0.21 ^{ns}	0.21 ^{ns}	0					
Tm-Bz	0.27**	0.24**	0.13 ^{ns}	0.19 ^{ns}	0.18 ^{ns}	0.22 ^{ns}	0.11 ^{ns}	0				
MIX	0.25**	0.19*	0.14 ^{ns}	0.15 ^{ns}	0.16 ^{ns}	0.18 ^{ns}	0.12 ^{ns}	0.12 ^{ns}	0			
SC	0.30**	0.35**	0.29*	0.30 ^{ns}	0.33*	0.25 ^{ns}	0.22 ^{ns}	0.24*	0.25**	0		
VE	0.41**	0.48*	0.49*	0.48 ^{ns}	0.54*	0.39*	0.45**	0.45*	0.43*	0.31**	0	
SJ	0.36*	0.43**	0.44*	0.40 ^{ns}	0.47*	0.35*	0.40*	0.40**	0.38*	0.31*	0.16 ^{ns}	0

ns: não significativo; **: ≤ 0.01 ; *: ≤ 0.05

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

1. As culturas de cobertura têm potencial para estruturar o microbioma do solo, rearranjando populações microbianas que contribuem na melhoria de atributos do solo;
2. A diversificação de plantas de cobertura cultivadas em sucessão de coberturas de diferentes famílias, promoveu um efeito acumulado que maximizou a atividade das enzimas β -glucosidase, fosfatase ácida e arilsulfatase no solo;
3. A diversificação de plantas de coberturas nos dois ciclos iniciais do tratamento MIX, gerou um efeito acumulado que proporcionou a maior abundância do gene *nifH* em ambos os solos estudados;
4. As culturas de cobertura impactaram a solubilização de Po por diferenças na abundância de comunidades microbianas detentoras do gene *phoD*, contudo este é um gene que apresenta grande flutuação conforme as condições do ambiente edáfico;
5. Os grupos de bactérias e fungos do solo demonstraram diferenciação no perfil de suas comunidades, referentes as sucessões com culturas de cobertura, o que demonstra a responsividade da microbiota do solo ao manejo com plantas de cobertura;
6. Nas condições experimentais, a estruturação diferencial no microbioma do solo proporcionada pelas sucessões de culturas de cobertura, contribuíram com o desenvolvimento de plantas de soja, com destaque na estimativa de produtividade para o tratamento Cj-M, seguidos pelos tratamentos MIX e Cj-Bz no solo advindo de área com vegetação nativa, e para os tratamentos Cj-Tm, Cj-M, Cs-Bz e MIX no solo advindo de área submetida ao manejo agrícola.
7. As culturas de cobertura são uma excelente ferramenta para uso no manejo agrícola, pela capacidade de moldar o microbioma do solo, melhorando seus atributos, podendo substituir o pousio nos sistemas agrícolas, com potencial para incrementar a produtividade da cultura da soja.

REFERÊNCIAS

- ADAMI, P. F.; COLET, R. A.; LEMES, E. S.; OLIGINI, K. F.; BATISTA, V. V. Plantas de cobertura nas entressafras soja-trigo e soja-soja. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 3, p. 16551–16567, 2020.
- ADETUNJI, A. T.; NCUBE, B.; MULIDZI, R.; LEWU, F. B. Management impact and benefit of cover crops on soil quality: A review. **Soil and Tillage Research**, v. 204, n. June, p. 104717, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.still.2020.104717>>.
- ALMEIDA, D. S.; MENEZES-BLACKBURN, D.; TURNER, B. L.; WEARING, C.; HAYGARTH, P. M.; ROSOLEM, C. A. Urochloa ruziziensis cover crop increases the cycling of soil inositol phosphates. **Biology and Fertility of Soils**, v. 54, n. 8, p. 935–947, 2018a.
- ALMEIDA, D. S.; WEARING, CATHERINE. HAYGARTH, P. M.; ROSOLEM, C. A.; MENEZES-BLACKBURN, D.; TURNER, B. L. Urochloa ruziziensis cover crop increases the cycling of soil inositol phosphates. **Biology and Fertility of Soils**, v. 54, n. 8, p. 935–947, 2018b.
- ANTOSH, E.; IDOWU, J.; SCHUTTE, B.; LEHNHOFF, E. Winter cover crops effects on soil properties and sweet corn yield in semi-arid irrigated systems. **Agronomy Journal**, v. 112, n. 1, p. 92–106, 2020.
- ARAÚJO, A. P.; PLASSARD, C.; DREVON, J. J. Phosphatase and phytase activities in nodules of common bean genotypes at different levels of phosphorus supply. **Plant and Soil**, v. 312, n. 1–2, p. 129–138, 2008.
- ARBUCKLE, J. G.; ROESCH-MCNALLY, G. Cover crop adoption in Iowa: The role of perceived practice characteristics. **Journal of Soil and Water Conservation**, v. 70, n. 6, p. 418–429, 2015.
- ASCARI, J. P.; ARAÚJO, D. V. De; MENDES, I. R. N.; DALLACORT, R.; MATSUMOTO, L. S. Biological fertilizer and cover plants on soil attributes and maize yield. **Revista Caatinga**, v. 32, n. 3, p. 709–718, 2019.
- ASCARI, V. de A.; INÊS, R. N. M.; MARCOS, V. F.; RAFAEL, S. P.; WAGNER, H. M. B.; WILLIAN, K.; LEOPOLDO, S. M. Quality of Soil in the function of biological fertilization and plant covering. **African Journal of Agricultural Research**, v. 13, n. 15, p. 733–741, 2018.
- ASHMITA GHOSH, D. G. Impact of Plant Growth Promoting Rhizobacteria in Sustainable Agriculture : An Important Natural Resource for. v. 5, n. 3, p. 210–214, 2019.

ASTRIANI, M.; ABADI, A. L.; ZUBAIDAH, S.; SUARSINI, E. The Application of Rhizobacteria and Indigenous Microorganism on Cow Rumen in Soybean Plants (*Glycine max* L.). v. 95, n. Miscic, p. 2–6, 2020.

BAI, Y.; XIANG, Q.; ZHAO, K.; YU, X.; CHEN, Q.; MA, M.; JIANG, H.; ZHANG, X.; PENTTINEN, P.; GU, Y. Plant and Soil Development Cooperatively Shaped the Composition of the *phoD* -Harboring Bacterial Community along the Primary Succession in the Hailuogou Glacier Chronosequence . **mSystems**, v. 5, n. 4, p. 1–12, 2020.

BARROS, F. M. do R.; FRACETTO, G. G. M.; FRACETTO, F. J. C.; MENDES JÚNIOR, J. P.; DE ARAÚJO, V. L. V. P.; LIRA JUNIOR, M. A. Silvopastoral systems drive the nitrogen-cycling bacterial community in soil. **Ciencia e Agrotecnologia**, v. 42, n. 3, p. 281–290, 2018.

BARROS, G. S. de C.; CASTRO, N. R. Produto Interno Bruto Do Agronegócio E a Crise Brasileira. **Revista de Economia e Agronegócio**, v. 15, n. 2, p. 156–162, 2017.

BAUM, C.; SCHLOTTER, M.; LEINWEBER, P.; KUBLIK, S.; VESTERGAARD, G.; ZIMMER, D.; GOERS, M.; SCHULZ, S.; VON TUCHER, S.; GRAFE, M. Bacterial potentials for uptake, solubilization and mineralization of extracellular phosphorus in agricultural soils are highly stable under different fertilization regimes. **Environmental Microbiology Reports**, v. 10, n. 3, p. 320–327, 2018.

BEULE, L.; CORRE, M. D.; SCHMIDT, M.; GÖBEL, L.; VELDKAMP, E.; KARLOVSKY, P. Conversion of monoculture cropland and open grassland to agroforestry alters the abundance of soil bacteria, fungi and soil-N-cycling genes. **PLoS ONE**, v. 14, n. 6, p. 1–19, 2019.

BHAT, N. A.; RIAR, A.; RAMESH, A.; IQBAL, S.; SHARMA, M. P.; SHARMA, S. K.; BHULLAR, G. S. Soil biological activity contributing to phosphorus availability in vertisols under long-term organic and conventional agricultural management. **Frontiers in Plant Science**, v. 8, n. September, p. 1–11, 2017.

BOON, E.; MEEHAN, C. J.; WHIDDEN, C.; WONG, D. H. J.; LANGILLE, M. G. I.; BEIKO, R. G. Interactions in the microbiome: Communities of organisms and communities of genes. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 38, n. 1, p. 90–118, 2014.

BOWERS, C.; TOEWS, M.; LIU, Y.; SCHMIDT, J. M. Cover crops improve early season natural enemy recruitment and pest management in cotton production. **Biological Control**, v. 141, n. September 2019, p. 104149, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2019.104149>>.

- BRENNAN, E. B.; ACOSTA-MARTINEZ, V. Cover cropping frequency is the main driver of soil microbial changes during six years of organic vegetable production. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 109, p. 188–204, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.soilbio.2017.01.014>>.
- BROUGHTON, W. J.; ZHANG, F.; PERRET, X.; STAEHELIN, C. Signals exchanged between legumes and Rhizobium: Agricultural uses and perspectives. **Plant and Soil**, v. 252, n. 1, p. 129–137, 2003.
- BÜCHI, L.; WENDLING, M.; AMOSSÉ, C.; JEANGROS, B.; CHARLES, R. Cover crops to secure weed control strategies in a maize crop with reduced tillage. **Field Crops Research**, v. 247, n. July 2019, p. 107583, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.fcr.2019.107583>>.
- BURNS, R. G.; DEFOREST, J. L.; MARXSEN, J.; SINSABAUGH, R. L.; STROMBERGER, M. E.; WALLENSTEIN, M. D.; WEINTRAUB, M. N.; ZOPPINI, A. Soil enzymes in a changing environment: Current knowledge and future directions. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 58, p. 216–234, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.soilbio.2012.11.009>>.
- CAI, Z.; UDAWATTA, R. P.; GANTZER, C. J.; JOSE, S.; GODSEY, L.; CARTWRIGHT, L. Economic impacts of cover crops for a missouri wheat-corn-soybean rotation. **Agriculture (Switzerland)**, v. 9, n. 4, p. 1–13, 2019.
- CALEGARI, A. **Manual Técnico - Plantas de Cobertura (1).pdf**, 2016. .
- CÂMARA, G. M. Texto básico da disciplina optativa LPV 0506: Plantas Oleaginosas, do curso de graduação em Engenharia Agrônômica da USP/ESALQ. 2 Professor Associado do Departamento de Produção Vegetal da USP/ESALQ – Cultura da Soja. p. 1–30, 2015.
- CAMPO, R. J.; ARAUJO, R. S.; HUNGRIA, M. Nitrogen fixation with the soybean crop in Brazil: Compatibility between seed treatment with fungicides and bradyrhizobial inoculants. **Symbiosis**, v. 48, n. 1–3, p. 154–163, 2009.
- CARDOSO, E. J. B. N.; ANDREOTE, F. D. **Microbiologia do solo**. [s.l: s.n.]
- CARRILLO-SAUCEDO, S. M.; GAVITO, M. E. Resilience of soil aggregation and exocellular enzymatic functions associated with arbuscular mycorrhizal fungal communities along a successional gradient in a tropical dry forest. **Mycorrhiza**, v. 30, n. 1, p. 109–120, 2020.
- CERQUEIRA, E. O processo de territorialização do capital monopolista no Estado do Tocantins: a chegada da monocultura da soja. **GOT - Journal of Geography and Spatial Planning**, n. 15, p. 97–115, 2018.

- CHEN, H.; LIU, J.; LI, D.; XIAO, K.; WANG, K. Controls on soil arylsulfatase activity at a regional scale. **European Journal of Soil Biology**, v. 90, n. October 2018, p. 9–14, 2019a. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.ejsobi.2018.11.001>>.
- CHEN, J.; SHEN, W.; XU, H.; LI, Y.; LUO, T. The composition of nitrogen-fixing microorganisms correlates with soil nitrogen content during reforestation: A comparison between legume and non-legume plantations. **Frontiers in Microbiology**, v. 10, n. MAR, p. 1–11, 2019b.
- CHEN, X.; CHEN, H. Y. H.; CHEN, X.; WANG, J.; CHEN, B.; WANG, D.; GUAN, Q. Soil labile organic carbon and carbon-cycle enzyme activities under different thinning intensities in Chinese fir plantations. **Applied Soil Ecology**, v. 107, p. 162–169, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.apsoil.2016.05.016>>.
- CHOUDHARY, M.; RANA, K. S.; MEENA, M. C.; BANA, R. S.; JAKHAR, P.; GHASAL, P. C.; VERMA, R. K. Changes in physico-chemical and biological properties of soil under conservation agriculture based pearl millet–mustard cropping system in rainfed semi-arid region. **Archives of Agronomy and Soil Science**, v. 65, n. 7, p. 911–927, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1080/03650340.2018.1538556>>.
- CLÚA, J.; RODA, C.; ZANETTI, M. E.; BLANCO, F. A. Compatibility between legumes and rhizobia for the establishment of a successful nitrogen-fixing symbiosis. **Genes**, v. 9, n. 3, 2018.
- COLLIER, L. S.; ARRUDA, E. M.; CAMPOS, L. F. C.; NUNES, J. N. V. Soil chemical attributes and corn productivity grown on legume stubble in agroforestry systems. **Revista Caatinga**, v. 31, n. 2, p. 279–289, 2018.
- CONAB. Acompanhamento da Safra Brasileira. **Companhia Nacional de Abastecimento**, v. 5, n. 4, p. 1–113, 2020.
- COUËDEL, A.; ALLETTO, L.; TRIBOUILLOIS, H.; JUSTES, É. Cover crop crucifer-legume mixtures provide effective nitrate catch crop and nitrogen green manure ecosystem services. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v. 254, n. November 2017, p. 50–59, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.agee.2017.11.017>>.
- COUËDEL, A.; KIRKEGAARD, J.; ALLETTO, L.; JUSTES, É. Crucifer-legume cover crop mixtures for biocontrol: Toward a new multi-service paradigm. **Advances in Agronomy**, v. 157, p. 55–139, 2019.

CREAMER, R. E.; HANNULA, S. E.; LEEUWEN, J. P. V.; STONE, D.; RUTGERS, M.; SCHMELZ, R. M.; RUITER, P. C. d.; HENDRIKSEN, N. B.; BOLGER, T.; BOUFFAUD, M. L.; BUEE, M.; CARVALHO, F.; COSTA, D.; DIRILGEN, T.; FRANCISCO, R.; GRIFFITHS, B. S.; GRIFFITHS, R.; MARTIN, F.; SILVA, P. M. da; MENDES, S.; MORAIS, P. V.; PEREIRA, C.; PHILIPPOT, L.; PLASSART, P.; REDECKER, D.; RÖMBKE, J.; SOUSA, J. P.; WOUTERSE, M.; LEMANCEAU, P. Ecological network analysis reveals the interconnection between soil biodiversity and ecosystem function as affected by land use across Europe. **Applied Soil Ecology**, v. 97, p. 112–124, 2016.

CROTTY, F. V.; STOATE, C. The legacy of cover crops on the soil habitat and ecosystem services in a heavy clay, minimum tillage rotation. **Food and Energy Security**, v. 8, n. 3, p. 1–16, 2019.

DA SILVA, E. C.; MURAOKA, T.; BASTOS, A. V. S.; FRANZIN, V. I.; BUZETTI, S.; SOARES, F. A. L.; TEIXEIRA, M. B.; BENDASSOLLI, J. A. Biomass and Nutrient Accumulation by Cover Crops and Upland Rice Grown in Succession Under No-Tillage System as Affected by Nitrogen Fertilizer Rate. **Journal of Crop Science and Biotechnology**, v. 23, n. 2, p. 117–126, 2020.

DEBELLÉ, F.; MOULIN, L.; MANGIN, B.; DÉNARIÉ, J.; BOIVIN, C. nod Genes and Nod signals and the evolution of the rhizobium legume symbiosis. **Acta Biochimica Polonica**, v. 48, n. 2, p. 359–365, 2001.

DEUSCHLE, D.; MINELLA, J. P. G.; HÖRBE, T. de A. N.; LONDERO, A. L.; SCHNEIDER, F. J. A. Erosion and hydrological response in no-tillage subjected to crop rotation intensification in southern Brazil. **Geoderma**, v. 340, n. January, p. 157–163, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2019.01.010>>.

DJAGBA, J. F.; ZWART, S. J.; HOUSSOU, C. S.; TENTÉ, B. H. A.; KIEPE, P. Ecological sustainability and environmental risks of agricultural intensification in inland valleys in Benin. **Environment, Development and Sustainability**, v. 21, n. 4, p. 1869–1890, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s10668-018-0107-1>>.

DO NASCIMENTO BENDINI, H.; GARCIA FONSECA, L. M.; SCHWIEDER, M.; SEHN KÖRTING, T.; RUFIN, P.; DEL ARCO SANCHES, I.; LEITÃO, P. J.; HOSTERT, P. Detailed agricultural land classification in the Brazilian cerrado based on phenological information from dense satellite image time series. **International Journal of Applied Earth Observation and Geoinformation**, v. 82, n. May, p. 101872, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jag.2019.05.005>>.

- DOLTRA, J.; OLESEN, J. E. The role of catch crops in the ecological intensification of spring cereals in organic farming under Nordic climate. **European Journal of Agronomy**, v. 44, p. 98–108, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.eja.2012.03.006>>.
- DUCHENE, O.; VIAN, J. F.; CELETTE, F. Intercropping with legume for agroecological cropping systems: Complementarity and facilitation processes and the importance of soil microorganisms. A review. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v. 240, p. 148–161, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.agee.2017.02.019>>.
- ELZOBAIR, K. A.; STROMBERGER, M. E.; IPPOLITO, J. A. Stabilizing effect of biochar on soil extracellular enzymes after a denaturing stress. **Chemosphere**, v. 142, p. 114–119, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2015.03.018>>.
- FARIAS, ALMEIDA, S. Produtividade e exportações agrícolas da economia brasileira. **Geosul**, v. 35, n. 74, p. 242–264, 2020.
- FAROKH, R. Z.; SACHDEV, D.; POUR, N. K.; ENGINEER, A.; PARDESI, K. R.; ZINJARDE, S.; DHAKEPHALKAR, P. K.; CHOPADE, B. A. Characterization of plant-growth-promoting traits of *Acinetobacter* species isolated from rhizosphere of *Pennisetum glaucum*. **Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 21, n. 6, p. 556–566, 2011.
- FERREIRA, T.N. (COORD.); SCHWARZ, R.A. (COORD.); STRECK, E. V. (Coord. . S. S o l o s Manejo Integrado e Ecológico. p. 95p., 2000.
- FILHO, J. A. F.; MORAES, P. V. D.; ARTUSO, V. A.; CHIAVON, J. A. D.; SILVA, D. W. Da; KUNZ, A. G.; ZANINI, W. Competitive Effect Between Black Oat (*Avena strigosa*) and Common Vetch (*Vicia sativa*) Plants in Consortium under Diverse Populational Densities. **Journal of Agronomy**, v. 15, n. 4, p. 184–190, 2016. Disponível em: <<http://www.scialert.net/abstract/?doi=ja.2016.184.190>>.
- FINLAY, R. D.; MAHMOOD, S.; ROSENSTOCK, N.; BOLOU-BI, E. B.; KÖHLER, S. J.; FAHAD, Z.; ROSLING, A.; WALLANDER, H.; BELYAZID, S.; BISHOP, K.; LIAN, B. Reviews and syntheses: Biological weathering and its consequences at different spatial levels - From nanoscale to global scale. **Biogeosciences**, v. 17, n. 6, p. 1507–1533, 2020.
- FINNEY, D. M.; BUYER, J. S.; KAYE, J. P. 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.
- FOLLMANN, D. N.; DE SOUZA, V. Q.; CARGNELUTTI FILHO, A.; DEMARI, G. H.; NARDINO, M.; OLIVOTO, T.; CARVALHO, I. R.; SILVA, A. D. B.; MEIRA, D.; MEIER, C. Agronomic performance and genetic dissimilarity of second-harvest soybean cultivars using REML/BLUP and gower's algorithm. **Bragantia**, v. 78, n. 2, p. 197–207, 2019.

- FOO, J. L.; LING, H.; LEE, Y. S.; CHANG, M. W. Microbiome engineering: Current applications and its future. **Biotechnology Journal**, v. 12, n. 3, p. 1–11, 2017.
- FRASER, T. D.; LYNCH, D. H.; GAIERO, J.; KHOSLA, K.; DUNFIELD, K. E. Quantification of bacterial non-specific acid (phoC) and alkaline (phoD) phosphatase genes in bulk and rhizosphere soil from organically managed soybean fields. **Applied Soil Ecology**, v. 111, p. 48–56, 2017.
- FRASER, T.; LYNCH, D. H.; ENTZ, M. H.; DUNFIELD, K. E. Linking alkaline phosphatase activity with bacterial phoD gene abundance in soil from a long-term management trial. **Geoderma**, v. 257–258, p. 115–122, 2015.
- GALAŻKA, A.; GRZADZIEL, J. Fungal genetics and functional diversity of microbial communities in the soil under long-term monoculture of maize using different cultivation techniques. **Frontiers in Microbiology**, v. 9, n. JAN, p. 1–15, 2018.
- GARCÍA-GONZÁLEZ, I.; HONTORIA, C.; GABRIEL, J. L.; ALONSO-AYUSO, M.; QUEMADA, M. Cover crops to mitigate soil degradation and enhance soil functionality in irrigated land. **Geoderma**, v. 322, n. February, p. 81–88, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2018.02.024>>.
- GARDES, M.; BRUNS, T. D. ITS primers with enhanced specificity for basidiomycetes - application to the identification of mycorrhizae and rusts. **Molecular Ecology**, v. 2, n. 2, p. 113–118, 1993.
- GLACIELA KASCHUK, M. H. Diversity and benefits of microorganisms from the tropics. **Diversity and Benefits of Microorganisms from the Tropics**, p. 1–439, 2017.
- HAIDER, U. F.; CHEEMA, A. S.; FAROOQ, M. Impact of Cover Crops in Improving Agro-Ecosystems Including Sustainable Weed Suppression – a Review. **Journal of Weed Sciences**, v. 25, n. 1, p. 47–62, 2019.
- HALLAMA, M.; PEKRUN, C.; LAMBERS, H.; KANDELER, E. Hidden miners – the roles of cover crops and soil microorganisms in phosphorus cycling through agroecosystems. **Plant and Soil**, p. 7–45, 2018.
- HAMEED, S.; YASMIN, S.; MALIK, K. A.; ZAFAR, Y.; HAFEEZ, F. Y. Rhizobium, Bradyrhizobium and Agrobacterium strains isolated from cultivated legumes. **Biology and Fertility of Soils**, v. 39, n. 3, p. 179–185, 2004.
- HIDEO YOKOYAMA, A.; ANTONIO BALBINOT JUNIOR, A.; HENRIQUE RIBEIRO, R.; CEZAR FRANCHINI, J.; DEBIASI, H.; ZUCARELI, C. Teores de nitrato e amônio no solo em função de culturas de entressafra da soja e adubação nitrogenada. **Colloquium Agrariae**, v. 15, n. 5, p. 77–87, 2019.

HUANG, M.; CHAI, L.; JIANG, D.; ZHANG, M.; JIA, W.; HUANG, Y. Spatial Patterns of Soil Fungal Communities Are Driven by Dissolved Organic Matter (DOM) Quality in Semi-Arid Regions. **Microbial Ecology**, 2020.

HUNGRIA, M.; FRANCHINI, J. C.; CAMPO, R. J.; GRAHAM, A. P. H. Chapter 3 THE IMPORTANCE OF NITROGEN FIXATION TO SOYBEAN CROPPING IN SOUTH AMERICA. p. 25–26, 2005.

JIA, R.; WANG, K.; LI, L.; QU, Z.; SHEN, W.; QU, D. Abundance and community succession of nitrogen-fixing bacteria in ferrihydrite enriched cultures of paddy soils is closely related to Fe(III)-reduction. **Science of the Total Environment**, v. 720, p. 137633, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.137633>>.

JING, Z.; CHEN, R.; WEI, S.; FENG, Y.; ZHANG, J.; LIN, X. Response and feedback of C mineralization to P availability driven by soil microorganisms. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 105, p. 111–120, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.soilbio.2016.11.014>>.

JÚNIOR, A. C. G.; NACKE, H.; MARENGONI, N. G.; CARVALHO, E. A. de; COELHO, G. F. Com Diferentes Doses De Fósforo E Potássio. **Ciênci. agrotec.**, v. 34, n. 1994, p. 660–666, 2010.

KANTER, D. R.; BROWNLIE, W. J. Joint nitrogen and phosphorus management for sustainable development and climate goals. **Environmental Science and Policy**, v. 92, n. October 2018, p. 1–8, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.envsci.2018.10.020>>.

KERTESZ, M. A.; MIRLEAU, P. The role of soil microbes in plant sulphur nutrition. **Journal of Experimental Botany**, v. 55, n. 404, p. 1939–1945, 2004.

KIM, N.; ZABALOY, M. C.; GUAN, K.; VILLAMIL, M. B. Do cover crops benefit soil microbiome? A meta-analysis of current research. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 142, p. 107701, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2019.107701>>.

KUNZE, A.; COSTA, M. D.; EPPING, J.; LOFFAGUEN, J. C.; SCHUH, R.; LOVATO, P. E. Phosphatase activity in sandy soil influenced by mycorrhizal and non-mycorrhizal cover crops. **Revista Brasileira de Ciencia do Solo**, v. 35, n. 3, p. 705–711, 2011.

KUYPERS, M. M. M.; MARCHANT, H. K.; KARTAL, B. The microbial nitrogen-cycling network. **Nature Reviews Microbiology**, v. 16, n. 5, p. 263–276, 2018. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1038/nrmicro.2018.9>>.

LEBRUN, E. S.; KING, R. S.; BACK, J. A.; KANG, S. Microbial Community Structure and Function Decoupling Across a Phosphorus Gradient in Streams. **Microbial Ecology**, v. 75, n. 1, p. 64–73, 2018.

- LEDERBERG, B. J.; MCCRAY, A. T. ' Ome Sweet ' Omics-- A Genealogical Treasury of Words. **The Scientist**, v. 15, n. 7, p. 8, 2001.
- LIU, JIM. CADE-MENUN, B. J.; W., C.; BAINARD, L. D.; HAMEL, C.; LAFORGE, K.; HU, Y.; LIU, J.; SCHELLENBERG, M.; TREMBLAY, J.; YANG, J. Long-Term Land Use Affects Phosphorus Speciation and the Composition of Phosphorus Cycling Genes in Agricultural Soils. **Frontiers in Microbiology**, v. 9, n. July, p. 1–14, 2018.
- LIU, F.; HEWEZI, T.; LEBEIS, S. L.; PANTALONE, V.; GREWAL, P. S.; STATON, M. E. Soil indigenous microbiome and plant genotypes cooperatively modify soybean rhizosphere microbiome assembly. **BMC Microbiology**, v. 19, n. 1, p. 1–19, 2019a.
- LIU, X.; LIU, C.; GAO, W.; XUE, C.; GUO, Z.; JIANG, L.; LI, F.; LIU, Y. Impact of biochar amendment on the abundance and structure of diazotrophic community in an alkaline soil. **Science of the Total Environment**, v. 688, p. 944–951, 2019b. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.06.293>>.
- LOUW-GAUME, A. E.; SCHWEIZER, N.; RAO, I. M.; GAUME, A. J.; FROSSARD, E. Temporal differences in plant growth and root exudation of two Brachiaria grasses in response to low phosphorus supply. **Tropical Grasslands-Forrajes Tropicales**, v. 5, n. 3, p. 103–116, 2017.
- MADEMBO, C.; MHLANGA, B.; THIERFELDER, C. Productivity or stability? Exploring maize-legume intercropping strategies for smallholder Conservation Agriculture farmers in Zimbabwe. **Agricultural Systems**, v. 185, n. August, p. 102921, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.agsy.2020.102921>>.
- MAHAWAR, H.; PRASANNA, R. Prospecting the interactions of nanoparticles with beneficial microorganisms for developing green technologies for agriculture. **Environmental Nanotechnology, Monitoring and Management**, v. 10, n. August, p. 477–485, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.enmm.2018.09.004>>.
- MAKINO, P. A.; CECCON, G.; RIBEIRO, L. M.; CECCON, F. Agronomic Performance and Photosynthetically Active Radiation Intercepted By Maize Intercropped With Brachiaria. **Journal of Neotropical Agriculture**, v. 6, n. 4, p. 42–48, 2019.
- MALIK, A.; ABDIEVA, G.; UALIEVA, P.; AKIMBEKOV, N. Study of the destructive activity of microorganisms isolated from soil contaminated by pesticides. **E3S Web of Conferences**, v. 122, p. 10–14, 2019.
- MARTIN, O. Choosing & Using Cover Crops in the Home Garden & Orchard. n. 135, p. 2–4, 2012.

MASSENSINI, A. M.; TÓTOLA, M. R.; BORGES, A. C.; COSTA, M. D. Solubilização potencial de fosfatos mediada pela microbiota rizosférica de eucalipto cultivado em topossequência típica da zona da mata mineira. **Revista Brasileira de Ciencia do Solo**, v. 39, n. 3, p. 692–700, 2015.

MASUDA, T.; GOLDSMITH, P. D. World soybean production: Area harvested, yield, and long-term projections. **International Food and Agribusiness Management Review**, v. 12, n. 4, p. 143–162, 2009.

MEDEIROS, J. C.; DE SOUSA, D. C.; ROSA, J. D.; LACERDA, J. J. de J.; MAFRA, Á. L.; MENDES, W. de S. Chemical attributes of agricultural soil after the cultivation of cover crops. **Australian Journal of Crop Science**, v. 11, n. 11, p. 1497–1503, 2017.

MENDONÇA, E. de S.; DE LIMA, P. C.; GUIMARÃES, G. P.; MOURA, W. de M.; ANDRADE, F. V. Biological nitrogen fixation by legumes and N uptake by coffee plants. **Revista Brasileira de Ciencia do Solo**, v. 41, p. 1–10, 2017.

MISRA, S.; PANDEY, S.; DIXIT, V.; MISHRA, S. K.; KHAN, M. H.; AGARWAL, L.; CHAUHAN, P. S. **Soil microbiome for enhanced crop productivity Mining of Microbial Wealth and MetaGenomics**, 2017. .

MONTEIRO, F. P.; PACHECO, L. P.; LORENZETTI, E. R.; ARMESTO, C.; DE SOUZA, P. E.; DE ABREU, M. S. Exsudatos radiculares de plantas de cobertura no desenvolvimento de sclerotinia sclerotiorum. **Bioscience Journal**, v. 28, n. 1, p. 87–93, 2012.

MORE, S. S.; SHINDE, S. E.; KASTURE, M. C. Root exudates a key factor for soil and plant: An overview SS More, SE Shinde and MC Kasture. v. 8, n. 6, p. 449–459, 2019. Disponível em: <www.thepharmajournal.com>.

NANNIPIERI, P.; GIAGNONI, L.; LANDI, L.; RENELLA, G. Phosphorus in Action. v. 26, p. 215–243, 2011. Disponível em: <<http://link.springer.com/10.1007/978-3-642-15271-9>>.

NASCENTE, A. S.; LACERDA, M. C.; LANNA, A. C.; DE FILIPPI, M. C. C.; SILVA, D. M. Cover crops can affect soil attributes and yield of upland rice. **Australian Journal of Crop Science**, v. 10, n. 2, p. 176–184, 2016.

NEVINS, C. J.; LACEY, C.; ARMSTRONG, S. The synchrony of cover crop decomposition, enzyme activity, and nitrogen availability in a corn agroecosystem in the Midwest United States. **Soil and Tillage Research**, v. 197, n. December 2018, p. 104518, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.still.2019.104518>>.

- NOURI, A.; LEE, J.; YIN, X.; TYLER, D. D.; SAXTON, A. M. Thirty-four years of no-tillage and cover crops improve soil quality and increase cotton yield in Alfisols, Southeastern USA. **Geoderma**, v. 337, n. October 2018, p. 998–1008, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2018.10.016>>.
- OJIEM, J. O.; FRANKE, A. C.; VANLAUWE, B.; DE RIDDER, N.; GILLER, K. E. Benefits of legume-maize rotations: Assessing the impact of diversity on the productivity of smallholders in Western Kenya. **Field Crops Research**, v. 168, p. 75–85, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.fcr.2014.08.004>>.
- OLIVEIRA, G.; HECHT, S. Sacred groves, sacrifice zones and soy production: globalization, intensification and neo-nature in South America. **Journal of Peasant Studies**, v. 43, n. 2, p. 251–285, 2016.
- ORDÓÑEZ-FERNÁNDEZ, R.; REPULLO-RUIBÉRRIZ DE TORRES, M. A.; MÁRQUEZ-GARCÍA, J.; MORENO-GARCÍA, M.; CARBONELL-BOJOLLO, R. M. Legumes used as cover crops to reduce fertilisation problems improving soil nitrate in an organic orchard. **European Journal of Agronomy**, v. 95, n. September 2017, p. 1–13, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.eja.2018.02.001>>.
- PEREG, L.; MORUGÁN-CORONADO, A.; MCMILLAN, M.; GARCÍA-ORENES, F. Restoration of nitrogen cycling community in grapevine soil by a decade of organic fertilization. **Soil and Tillage Research**, v. 179, n. February, p. 11–19, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.still.2018.01.007>>.
- PEREIRA, A. P.; SCHOFFEL, A.; KOEFENDER, J.; CAMERA, J. N.; GOLLE, D. P.; HORN, R. C. Nutrient cycling in summer cover crops. v. 40, n. 4, p. 799–807, 2017.
- POLY, F.; MONROZIER, L. J.; BALLY, R. Improvement in the RFLP procedure for studying the diversity of nifH genes in communities of nitrogen fixers in soil. **Research in Microbiology**, v. 152, n. 1, p. 95–103, 2001.
- PURI, A.; PADDA, K. P.; CHANWAY, C. P. Nitrogen-Fixation by Endophytic Bacteria in Agricultural Crops: Recent Advances. **Nitrogen in Agriculture - Updates**, 2018.
- RANDALL, K.; BRENNAN, F.; CLIPSON, N.; CREAMER, R.; GRIFFITHS, B.; STOREY, S.; DOYLE, E. Soil bacterial community structure and functional responses across a long-term mineral phosphorus (Pi) fertilisation gradient differ in grazed and cut grasslands. **Applied Soil Ecology**, v. 138, n. February, p. 134–143, 2019.
- RIBEIRO, A. B. M.; BRUZI, A. T.; ZUFFO, A. M.; ZAMBIAZZI, E. V.; SOARES, I. O.; VILELA, N. J. D.; PEREIRA, J. L. de A. R.; MOREIRA, S. G. Productive performance of soybean cultivars grown in different plant densities. **Ciência Rural**, v. 47, n. 7, p. 1–8, 2017.

- RICHETTI, A.; LAMAS, F. M. Sucessão de culturas Uma abordagem econômica. p. 90–101, 2019.
- RODRIGUES, G. I.; LEMES, E. M.; MENDES DE PAULA, A. D.; LIMA, D. T. de; TORRES, J. L. R. Quantification of soil microorganisms under several cover crops managed with no-tillage system for fifteen years in the Brazilian Cerrado. **Australian Journal of Crop Science**, v. 10, n. 11, p. 1511–1515, 2016.
- ROSOLEM, C. A.; RITZ, K.; CANTARELLA, H.; GALDOS, M. V.; HAWKESFORD, M. J.; WHALLEY, W. R.; MOONEY, S. J. **Enhanced Plant Rooting and Crop System Management for Improved N Use Efficiency**. 1. ed. [s.l.] Elsevier Inc., 2017. v. 146
- SAKURAI, M.; WASAKI, J.; TOMIZAWA, Y.; SHINANO, T.; OSAKI, M. Analysis of bacterial communities on alkaline phosphatase genes in soil supplied with organic matter. **Soil Science and Plant Nutrition**, v. 54, n. 1, p. 62–71, 2008.
- SALTON, J. C.; TOMAZI, M. Sistema Radicular de Plantas e Qualidade do Solo. **Embrapa Agropecuária Oeste-Comunicado Técnico (INFOTECA-E)**, n. 1, p. 1–6, 2014.
- SANCHEZ, I. I.; FULTZ, L. M.; LOFTON, J.; HAGGARD, B. Soil Biological Response to Integration of Cover Crops and Nitrogen Rates in a Conservation Tillage Corn Production System. **Soil Science Society of America Journal**, v. 83, n. 5, p. 1356–1367, 2019.
- SANKHLA, I. S.; MEGHWAL, R. R.; CHOUDHARY, S.; RATHI, S.; TAK, N.; TAK, A.; GEHLOT, H. S. Molecular characterization of microsymbionts associated with root nodules of *Crotalaria burhia* Buch.-Ham. ex Benth., a native keystone legume species from Thar desert of India. **Indian Journal of Experimental Biology**, v. 56, n. 6, p. 373–384, 2018.
- SANTOS-BENEIT, F. The Pho regulon: A huge regulatory network in bacteria. **Frontiers in Microbiology**, v. 6, n. APR, p. 1–13, 2015.
- SCHERER, H. W. Sulphur in crop production - Invited paper. **European Journal of Agronomy**, v. 14, n. 2, p. 81–111, 2001.
- SCHIPANSKI, M. E.; BARBERCHECK, M.; DOUGLAS, M. R.; FINNEY, D. M.; HAIDER, K.; KAYE, J. P.; KEMANIAN, A. R.; MORTENSEN, D. A.; RYAN, M. R.; TOOKER, J.; WHITE, C. A framework for evaluating ecosystem services provided by cover crops in agroecosystems. **Agricultural Systems**, v. 125, p. 12–22, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.agsy.2013.11.004>>.

- SCHULZE, E.-D.; BECK, E.; BUCHMANN, N.; CLEMENS, S.; MULLER-HOHENSTEIN, K.; SCHERER-LORENZEN, M. Chp. 8: Biotic Stress. **Plant Ecology**, p. 257–299, 2019.
- SCHÜTTE, U. M. E.; ABDO, Z.; BENT, S. J.; WILLIAMS, C. J.; SCHNEIDER, G. M.; SOLHEIM, B.; FORNEY, L. J. Bacterial succession in a glacier foreland of the High Arctic. **ISME Journal**, v. 3, n. 11, p. 1258–1268, 2009.
- SCOPEL, E.; TRIOMPHE, B.; AFFHOLDER, F.; DA SILVA, F. A. M. E.; CORBEELS, M.; XAVIER, J. H. V.; LAHMAR, R.; RECOUS, S.; BERNOUX, M.; BLANCHART, E.; DE CARVALHO MENDES, I.; DE TOURDONNET, S. Conservation agriculture cropping systems in temperate and tropical conditions, performances and impacts. A review. **Agronomy for Sustainable Development**, v. 33, n. 1, p. 113–130, 2013.
- SHARMA, P.; SINGH, A.; KAHN, C. S.; BRAR, A. S.; GROVER, K. K.; DIA, M.; STEINER, R. L. The Role of Cover Crops towards Sustainable Soil Health and Agriculture—A Review Paper. **American Journal of Plant Sciences**, v. 09, n. 09, p. 1935–1951, 2018.
- SILVA ARAGÃO, O. O. da; DE OLIVEIRA-LONGATTI, S. M.; SANTOS DE CASTRO CAPUTO, P.; RUFINI, M.; RODRIGUES CARVALHO, G.; SOARES DE CARVALHO, T.; DE SOUZA MOREIRA, F. M. Microbiological indicators of soil quality are related to greater coffee yield in the Brazilian Cerrado region. **Ecological Indicators**, v. 113, n. January, p. 106205, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2020.106205>>.
- SIMON, C. A.; CORDEIRO, M. S.; LIMA, S. F. de; BRASIL, M. D. S.; DE DAVID, C. H.; SECCO, V. A. Microbial Activity in a Soil With Cover Crops in Succession With Maize in a No-Tillage System. **BRAZILIAN JOURNAL OF AGRICULTURE - Revista de Agricultura**, v. 92, n. 2, p. 198, 2017.
- SIMON, C. A.; DE LIMA, S. F.; CORDEIRO, M. S.; SECCO, V. A.; NACATA, G.; SILVA, A. M. M.; SIMON, C. da C.; BRASIL, M. da S. Cover crops as modifying agents of microbiological soil attribute. **Australian Journal of Crop Science**, v. 13, n. 10, p. 1578–1585, 2019.
- SIMONET, P.; GROSJEAN, M. C.; MISRA, A. K.; NAZARET, S.; COURNOYER, B.; NORMAND, P. Frankia genus-specific characterization by polymerase chain reaction. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 57, n. 11, p. 3278–3286, 1991.
- SOUSA, H. M.; CORREA, A. R.; SILVA, B. D. M.; OLIVEIRA, S. D. S.; CAMPOS, D. T. D. S.; WRUCK, F. J. Dynamics of soil microbiological attributes in integrated crop-livestock systems in the cerrado-amazonônia ecotone. **Revista Caatinga**, v. 33, n. 1, p. 9–20, 2020.

SPOR, A.; ROUCOU, A.; MOUNIER, A.; BRU, D.; BREUIL, M. C.; FORT, F.; VILE, D.; ROUMET, P.; PHILIPPOT, L.; VIOLLE, C. Domestication-driven changes in plant traits associated with changes in the assembly of the rhizosphere microbiota in tetraploid wheat. **Scientific Reports**, v. 10, n. 1, p. 1–12, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1038/s41598-020-69175-9>>.

STROM, N.; HU, W.; CHEN, S.; BUSHLEY, K. Continuous monoculture shapes root and rhizosphere fungal communities of corn and soybean in soybean cyst nematode-infested soil. **Phytobiomes Journal**, v. 3, n. 4, p. 300–314, 2019.

SWETHA, S.; PADMAVATHI, T. Study of acid phosphatase in solubilization of inorganic phosphates by *Piriformospora indica*. **Polish Journal of Microbiology**, v. 65, n. 4, p. 407–412, 2016.

TABATABAI, ALI. WEAVER, R. W.; ANGLE, S.; BOTTOMLEY, P.; SMITH, S.; WOLLUM, A.; HART, S. METHODS OF SOIL ANALYSIS PART 2 Microbiological and Biochemical Properties Soil Science Society of America Book Series. p. 60–78, 1994.

TANAKA, K. S.; CRUSCIOL, C. A. C.; SORATTO, R. P.; MOMESSO, L.; COSTA, C. H. M.; FRANZLUEBBERS, A. J.; OLIVEIRA JUNIOR, A.; CALONEGO, J. C. Nutrients released by *Urochloa* cover crops prior to soybean. **Nutrient Cycling in Agroecosystems**, v. 113, n. 3, p. 267–281, 2019.

TANVEER, M.; ANJUM, S. A.; HUSSAIN, S.; CERDÀ, A.; ASHRAF, U. Relay cropping as a sustainable approach: problems and opportunities for sustainable crop production. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 24, n. 8, p. 6973–6988, 2017.

THIES, J. E. Soil Microbial Community Analysis using Terminal Restriction Fragment Length Polymorphisms. **Soil Science Society of America Journal**, v. 71, n. 2, p. 579–591, 2007.

TORABIAN, S.; FARHANGI-ABRIZ, S.; DENTON, M. D. Do tillage systems influence nitrogen fixation in legumes? A review. **Soil and Tillage Research**, v. 185, n. September 2018, p. 113–121, 2019.

TYLER, H. L. Winter cover crops and no till management enhance enzyme activities in soybean field soils. **Pedobiologia**, v. 81–82, n. July, p. 150666, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.pedobi.2020.150666>>.

UDOM, B.; BENWARI, A. Soil Structure, Organic Matter and Microbial Diversity in Soil under Some Tropical Cover Crops. **Asian Journal of Biological Sciences**, v. 12, n. 4, p. 742–749, 2019.

WANG, C. H.; WU, L.; WANG, Z.; ALABADY, M. S.; PARSON, D.; MOLUMO, Z.; FANKHAUSER, S. C. Characterizing changes in soil microbiome abundance and diversity due to different cover crop techniques. **PLoS ONE**, v. 15, n. 5, p. 1–22, 2020a. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0232453>>.

WANG, L.; PANG, X.; LI, N.; QI, K.; HUANG, J.; YIN, C. Effects of vegetation type, fine and coarse roots on soil microbial communities and enzyme activities in eastern Tibetan plateau. **Catena**, v. 194, n. February, 2020b.

WANG, M.; VELDSINK, J. H.; DINI-ANDREOTE, F.; SALLES, J. F. Compositional and abundance changes of nitrogen-cycling genes in plant-root microbiomes along a salt marsh chronosequence. **Antonie van Leeuwenhoek, International Journal of General and Molecular Microbiology**, v. 111, n. 11, p. 2061–2078, 2018.

WHITE, T. J.; BRUNS, T.; LEE, S.; TAYLOR, J. Amplification and Direct Sequencing of Fungal Ribosomal Rna Genes for Phylogenetics. **PCR Protocols**, n. January, p. 315–322, 1990.

XAVIER, C. V.; MOITINHO, M. R.; DE BORTOLI TEIXEIRA, D.; ANDRÉ DE ARAÚJO SANTOS, G.; DE ANDRADE BARBOSA, M.; BASTOS PEREIRA MILORI, D. M.; RIGOBELLO, E.; CORÁ, J. E.; LA SCALA JÚNIOR, N. Crop rotation and succession in a no-tillage system: Implications for CO₂ emission and soil attributes. **Journal of Environmental Management**, v. 245, n. November 2018, p. 8–15, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2019.05.053>>.

XU, Y.; WANG, T.; LI, H.; REN, C.; CHEN, J.; YANG, G.; HAN, X.; FENG, Y.; REN, G.; WANG, X. Variations of soil nitrogen-fixing microorganism communities and nitrogen fractions in a Robinia pseudoacacia chronosequence on the Loess Plateau of China. **Catena**, v. 174, n. October 2018, p. 316–323, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.catena.2018.11.009>>.

YANG, J.; ZHANG, T.; ZHANG, R.; HUANG, Q.; LI, H. Long-term cover cropping seasonally affects soil microbial carbon metabolism in an apple orchard. **Bioengineered**, v. 10, n. 1, p. 207–217, 2019a. Disponível em: <<https://doi.org/10.1080/21655979.2019.1622991>>.

YANG, Z.; LIAO, Y.; FU, X.; ZAPORSKI, J.; PETERS, S.; JAMISON, M.; LIU, Y.; WULLSCHLEGER, S. D.; GRAHAM, D. E.; GU, B. Temperature sensitivity of mineral-enzyme interactions on the hydrolysis of cellobiose and indican by β -glucosidase. **Science of the Total Environment**, v. 686, p. 1194–1201, 2019b. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.05.479>>.

ZHANG, J.; FENG, L.; OUYANG, Y.; HU, R.; XU, H.; WANG, J. Phosphate-solubilizing bacteria and fungi in relation to phosphorus availability under different land uses for some latosols from Guangdong, China. **Catena**, v. 195, n. May, p. 104686, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.catena.2020.104686>>.

ZHAO, C.; LONG, J.; LIAO, H.; ZHENG, C.; LI, J.; LIU, L.; ZHANG, M. Dynamics of soil microbial communities following vegetation succession in a karst mountain ecosystem, Southwest China. **Scientific Reports**, v. 9, n. 1, p. 1–10, 2019. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1038/s41598-018-36886-z>>.

ZHOU, L. L.; CAO, J.; ZHANG, F. S.; LI, L. Rhizosphere acidification of faba bean, soybean and maize. **Science of the Total Environment**, v. 407, n. 14, p. 4356–4362, 2009. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2009.02.006>>.

ZHOU, X.; LIU, J.; WU, F. Soil microbial communities in cucumber monoculture and rotation systems and their feedback effects on cucumber seedling growth. **Plant and Soil**, v. 415, n. 1–2, p. 507–520, 2017.

ZHOU, Y.; ZHU, H.; YAO, Q. Contrasting P acquisition strategies of the bacterial communities associated with legume and grass in subtropical orchard soil. **Environmental Microbiology Reports**, v. 10, n. 3, p. 310–319, 2018.

ZHOU, Z.; WANG, C.; JIN, Y.; SUN, Z. Impacts of thinning on soil carbon and nutrients and related extracellular enzymes in a larch plantation. **Forest Ecology and Management**, v. 450, n. May, p. 117523, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.foreco.2019.117523>>.

ZILLI, J. É.; GIANLUPPI, V.; CAMPO, R. J.; ROUWS, J. R. C.; HUNGRIA, M. Inoculação da soja com bradyrhizobium no sulco de semeadura alternativamente à inoculação de sementes. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 34, n. 6, p. 1875–1881, 2010.

APÊNDICES

APÊNDICE A. Atributos químicos do solo A coletado ao final de cada ciclo.

Solo	pH	M.O	P	K	Ca	Mg	H+Al	SB	CTC	V
		g.dm ⁻³	mg.dm ⁻³	mmolc.dm ⁻³	%
1° ciclo										
Cj-Tm	5	17	27	0,9	12	4	13	16,9	29,9	57
Cj-M	4,9	15	23	<0,9	15	6	15	21,7	36,7	59
Cj-Bz	5,1	16	21	<0,9	18	5	12	23,8	35,8	66
Cs-Tm	4,9	18	30	1,1	13	4	13	18,1	31,1	58
Cs-M	5	16	33	1,2	16	12	12	27,2	39,2	69
Cs-Bz	5,4	16	27	2,8	20	11	11	34,8	45,8	76
Tm-M	5,5	15	36	1,8	20	11	11	32,8	43,8	75
Tm-Bz	5,7	15	34	1,6	28	11	11	40,6	51,6	79
MIX	5,2	17	35	1,1	21	13	13	35,1	48,1	73
SC	5,6	15	28	0,9	21	5	12	26,9	38,9	69
VE	5,4	14	38	2,1	16	12	12	26,1	38,1	69
SJ	5,2	15	33	0,9	14	6	13	20,9	33,9	62
2° ciclo										
Cj-Tm	5	18	30	1,5	15	7	12	23,5	35,5	66
Cj-M	5,1	18	29	1,2	16	7	12	24,2	36,2	67
Cj-Bz	5,1	18	41	1,3	15	6	13	22,3	35,3	63
Cs-Tm	5,2	20	32	1,2	15	7	13	23,2	36,2	64
Cs-M	5,3	21	30	1,5	14	6	11	21,5	32,5	66
Cs-Bz	5,3	19	32	1,5	16	6	12	23,5	35,5	66
Tm-M	5,3	18	60	1,3	22	9	11	32,3	43,3	75
Tm-Bz	5,4	18	39	2,5	19	9	12	30,5	42,5	72
MIX	5,1	20	40	1	14	6	13	21	34	62
SC	5,5	17	30	1,8	13	6	13	20,8	33,8	62
VE	5,5	17	27	1,6	15	7	12	23,6	35,6	66
SJ	5,5	19	31	1,6	19	7	13	27,6	40,6	68
3° ciclo										
Cj-Tm	4,6	18	27	0,9	9	3	16	12,9	28,9	45
Cj-M	4,8	18	34	<0,9	12	3	15	15,6	30,6	51
Cj-Bz	5,2	19	26	<0,9	23	3	12	26,6	38,6	69
Cs-Tm	4,7	18	16	<0,9	9	3	15	12,6	27,6	46
Cs-M	4,7	18	22	<0,9	10	3	16	13,5	29,5	46
Cs-Bz	5,1	18	26	<0,9	25	4	15	29,8	44,8	67
Tm-M	5,1	17	22	<0,9	15	6	16	21,8	37,8	58
Tm-Bz	5,8	17	30	<0,9	32	6	11	38,5	49,5	78
MIX	4,7	18	30	1,3	15	7	13	23,3	36,3	64
SC	5,1	17	23	<0,9	11	2	13	13,5	26,5	51
VE	5,4	16	28	<0,9	10	3	18	13,6	31,6	43
SJ	4,8	19	24	<0,9	10	4	16	14,6	30,6	48

pH: potencial hidrogeniônico; M.O: matéria orgânica; P: fósforo; K: potássio; Ca: cálcio; Mg: magnésio; H+Al: acidez potencial; CTC: capacidade de troca catiônica; V: saturação por bases.

APÊNDICE B. Atributos químicos do solo B coletado ao final de cada ciclo.

Solo	pH	M.O	P	K	Ca	Mg	H+Al	SB	CTC	V
		g.dm ⁻³	mg.dm ⁻³			mmolc.dm ⁻³				%
1° ciclo										
Cj-Tm	4,4	30	34	1,9	11	3	25	15,9	40,9	39
Cj-M	4,3	29	42	1,9	12	3	22	16,9	38,9	43
Cj-Bz	4,2	30	46	1,8	13	3	25	17,8	42,8	42
Cs-Tm	4,1	30	47	1,2	12	2	25	15,2	40,2	38
Cs-M	4,2	32	37	1,3	13	2	25	16,3	41,3	39
Cs-Bz	4,2	31	39	1,3	12	2	25	15,3	40,3	38
Tm-M	4,2	27	38	1,5	14	3	22	18,5	40,5	46
Tm-Bz	4,1	28	36	1,3	14	2	28	17,3	45,3	38
MIX	4,1	37	44	3,2	16	3	31	22,2	53,2	42
SC	4,2	27	36	1,2	12	2	25	15,2	40,2	38
VE	4,1	30	37	1,3	11	2	28	14,3	42,3	34
SJ	4,1	28	38	2	11	2	26	15	41	37
2° ciclo										
Cj-Tm	4,1	38	28	0,9	12	2	28	14,6	42,9	35
Cj-M	4,2	40	34	0,9	15	2	31	17,9	48,9	37
Cj-Bz	4,2	36	31	<0,9	15	2	28	17,8	45,8	39
Cs-Tm	4	38	32	1	10	1	31	12	43	28
Cs-M	4,1	39	30	<0,9	12	2	28	14,8	42,8	35
Cs-Bz	4,2	38	42	<0,9	16	2	25	18,8	43,8	43
Tm-M	4,2	40	33	1,2	16	3	31	20,2	51,2	39
Tm-Bz	4,3	42	31	1,2	17	3	28	21,2	49,2	43
MIX	4,1	38	34	2,6	15	3	28	20,6	48,6	42
SC	4,1	29	38	1,1	11	2	31	14,1	45,1	31
VE	4,2	32	36	1,4	12	2	25	15,4	40,4	38
SJ	4,2	30	32	1,1	12	2	28	15,1	43,1	35
3° ciclo										
Cj-Tm	4	37	41	1,5	13	2	31	16,5	47,5	35
Cj-M	4	34	30	1,1	13	2	34	16,1	50,1	32
Cj-Bz	4	38	44	1,3	15	2	31	18,3	49,3	37
Cs-Tm	4	32	31	1,2	14	1	34	15,2	49,2	31
Cs-M	4	38	44	1,2	14	1	31	15,2	46,2	33
Cs-Bz	4	35	39	1,2	15	2	31	17,2	48,2	36
Tm-M	4,1	32	40	1,4	21	4	42	26,4	68,4	39
Tm-Bz	4,2	33	44	1	23	3	42	27	69	39
MIX	4	37	29	1,2	23	4	47	28,2	75,2	38
SC	4,1	27	30	1,2	15	3	32	19,2	61,5	31
VE	4,1	31	28	0,9	16	2	38	18,9	56,9	33
SJ	4,1	32	32	1,1	16	2	31	19,1	50,1	38

pH: potencial hidrogeniônico; M.O: matéria orgânica; P: fósforo; K: potássio; Ca: cálcio; Mg: magnésio; H+Al: acidez potencial; CTC: capacidade de troca catiônica; V: saturação por bases.