

1

1 **QUANTIFICAÇÃO E DIVERSIDADE FENOTÍPICA DE FUNGOS ISOLADOS**  
2 **DO SOLO COM CULTIVO DE SOJA (*Glycine max* (L.) MERRILL) NA**  
3 **REGIÃO DE ITAPORÃ/MS.**

4 Carbonaro, T. M<sup>1.</sup>; Jesus, G.J.<sup>1</sup>

5 <sup>1</sup>Universidade Federal da Grande Dourados, Faculdade de Ciências Biológicas e  
6 Ambientais, Rodovia Dourados – Itahum, Km 12, CEP: 79.804-970, Dourados, MS,  
7 Brasil. E-mail: thaline\_carbonaro@hotmail.com

8

9

10 **RESUMO**

11 O presente trabalho teve por objetivo principal quantificar e avaliar a diversidade de  
12 fungos encontrados no solo com cultivo de *Glycine max*. Para tal, foi demarcada uma  
13 área de onde se retirou, com auxílio de um trado, três amostras de solo por coleta. O  
14 solo coletado foi acondicionado em sacos plásticos e conduzido rapidamente ao  
15 laboratório para análise da microbiota. A microbiota ativa de fungos, na forma de  
16 unidades formadoras de colônias (UFC.ml<sup>-2</sup>), foi avaliada pela técnica de plaqueamento  
17 em superfície, em triplicata, e inoculação de suspensões seriadas utilizando o meio de  
18 Martin. Cerca de 30 UFC/mL foram encontradas, cada possível espécie de fungo  
19 diferente foi transferida para um tubo de ensaio e deixadas em temperatura ambiente  
20 para que crescessem isoladamente e em seguida foram fotografadas com máquina  
21 digital. Em seguida foi feito o microcultivo, que preserva a disposição original dos  
22 esporos sobre as hifas e mantém íntegras certas estruturas formadoras de esporos de  
23 cada uma. Por fim, foi realizada a identificação fenotípica dos gêneros fúngicos mais  
24 abundantes no solo cultivado com *Glycine max*, dentre eles podemos destacar  
25 *Aspergillus* sp, *Penicillium* sp e *Trichoderma* sp. Após foi feito uma análise de variância,  
26 que mostrou uma diferença significativa entre as médias de UFC antes, durante e depois  
27 do plantio da soja.

28

29 Palavras-chave: microbiota do solo, microcultivo, biomassa fúngica

30 **ABSTRACT**

2

1

3

31 This work had as main objective to quantitative and verify the different species of fungi  
32 found in soil cultivated with soybean (*Glycine max*). To this end, it was a demarcated  
33 area in which they withdrew, with the aid of an auger, three soil samples per collection.  
34 The collected soil was packed in plastic bags and led quickly to the laboratory for  
35 microbial analysis. The microbiota of active fungi in the form of colony forming units  
36 (UFC.ml<sup>-1</sup>), was evaluated by surface plating in key, in triplicate, and inoculation of  
37 serial suspensions using the medium of Martin (Martin 1950). Approximately 30 CFU /  
38 mL were found, each possible different species of fungus was transferred to a test tube  
39 and left at room temperature for them to grow in isolation and then were photographed  
40 digitally. Then it was done Microcultivation because it preserves the original layout of  
41 the spores on hyphae and keeps intact some spore-forming structures of each one, and  
42 finally the identification of genere fungi more abundance in the soil grown with *Glycine*  
43 *max*, among them we can highlight *Aspergillus* sp, *Penicillium* sp e *Trichoderma* sp.  
44 Finally done an analysis of variance, which showed a significant difference between the  
45 mean CFU before, during and after planting soybeans.

46

47 Keywords: microbiota of soil, microcultivation, biomass of fungi

48

49

50

51

52

53

54

55

56

## 57 – INTRODUÇÃO

58 O solo é a plataforma fundamental da agricultura, um sistema aberto que  
59 concentra resíduos orgânicos de origem vegetal, animal e os produtos das  
60 transformações destes resíduos. A vegetação é a principal responsável pela deposição de  
61 materiais orgânicos no solo. O tipo de vegetação e as condições ambientais são fatores  
62 que determinam a quantidade e a qualidade do material que se deposita no solo,  
63 influenciando a heterogeneidade e a taxa de decomposição do material depositado a  
64 superfície (MOREIRA e SIQUEIRA, 2002). A decomposição destes materiais depende  
65 dos processos de transformação da matéria orgânica pelos microrganismos do solo, por  
66 meio dos quais pode-se mensurar a qualidade do solo, determinando-se os valores do  
67 carbono da biomassa microbiana (SPARLING, 1992).

68 Na região do Cerrado, grande parte da vegetação natural está sendo substituída  
69 por culturas anuais e pastagens. A agricultura moderna é caracterizada pela busca  
70 constante do aumento da produtividade das culturas agrícolas, utilizando-se da  
71 mecanização, irrigação, adubação química e aplicação de pesticidas, aliadas ao  
72 melhoramento dos genótipos vegetais. Os programas governamentais para o setor  
73 agrícola nas décadas de 70 e 80 contribuíram grandemente para o desenvolvimento de  
74 tecnologias que possibilitaram a abertura de novas fronteiras agrícolas, como o Cerrado,  
75 onde são cultivados atualmente mais de 15 milhões de hectares, e a tecnificação da  
76 agropecuária brasileira, a qual tem apresentado profundos reflexos nas safras agrícolas  
77 atuais (ZILLI, J. É. et al, 2003).

78 O preparo intensivo da terra, nessa região, implica o devolvimento do solo  
79 repetidas vezes antes da implantação de cada cultura, ocasionando intensa agressão ao  
80 solo, aumentando a mineralização da matéria orgânica e promovendo a erosão e o  
81 aquecimento global pela emissão do dióxido de carbono (URQUIAGA *et al.*, 1999). A  
82 ausência de conhecimento aprofundado sobre o ecossistema e/ou planejamento  
83 inadequado na utilização das terras levou a um quadro de intensa degradação ambiental,  
84 com perda de recursos não-renováveis e da biodiversidade não só no Brasil como em  
85 outros países (SHIKI, 1997).

86 A matéria orgânica do solo representa o principal reservatório de energia para os  
87 microrganismos e de nutrientes para as plantas. O declínio ou acréscimo da matéria  
88 orgânica do solo serve para mensurar a preservação dos ecossistemas naturais e os

89desequilíbrios dos agroecossistemas; ou seja, é utilizado como critério na avaliação da  
90sua sustentabilidade (KAISER *et al.*, 1995).

91 CAMPOS *et al.*, (1995), afirmaram que o aumento da atividade microbiana do  
92solo contribui para elevação da estabilidade dos agregados, esse fato resulta no aumento  
93do interesse no uso de microorganismos para melhora a estrutura dos solos agrícolas. Os  
94fungos têm papel destacado na agregação do solo (TISDALL e OADES, 1982; OADES  
95e WATERS, 1991; ANDRADE *at al.*, 1998), contribuindo para uma agricultura mais  
96sustentável e restauração de ecossistemas. Essa agregação se dá por três processos  
97(DORIOZ *et al.*, 1993): 1) orientação de partículas de argila ao redor das células; 2)  
98secreções de polissacarídeos, que induzem ligações locais de partículas de argilas, e, 3)  
99efeito de empacotamento pelas hifas, que conduzem a uma nova microestrutura das  
100partículas na adjacências da célula.

101 WARD (1998), disse que os microrganismos vêm evoluindo a aproximadamente  
1024 bilhões de anos, e até 2 bilhões de anos atrás eram a única forma de vida na Terra em  
103virtude da sua longa história evolutiva e da necessidade de adaptação aos mais distintos  
104ambientes, os microrganismos acumularam uma impressionante diversidade genética,  
105que excede, em muito, a diversidade dos organismos eucariontes (WARD, 1998;  
106HUNTER-CEVERA, 1998).

107 A biomassa microbiana é a fração viva da matéria orgânica do solo composta  
108por bactérias, fungos, actinomicetos, protozoários e algas. Os microorganismos estão  
109diretamente envolvidos no ciclo dos nutrientes no solo e aliada à quantificação de  
110bactérias e fungos totais. Ela é um importante componente na avaliação da qualidade do  
111solo porque atua nos processos de decomposição natural interagindo na dinâmica dos  
112nutrientes e regeneração da estabilidade dos agregados (FRANZLUEBBERS *et al.*,  
1131999). A biomassa microbiana é influenciada pelas variações sazonais de umidade e  
114temperatura, pelo manejo do solo, pelo cultivo e, também, pelos resíduos vegetais.

115 A cultura da soja (*Glycine max* (L.) Merrill), é originária da Ásia, mais  
116precisamente da China e, somente no século passado, iniciou-se o seu cultivo na  
117América Latina. Um dos principais produtos agrícolas nacionais, ocupa lugar de  
118destaque no País, gerando importante fonte de divisas (ITO & TANAKA, 1993). Nas  
119últimas cinco décadas, a soja tem apresentado uma taxa de crescimento superior à taxa

120de crescimento populacional, ocupando papel fundamental na alimentação humana e  
121animal nos cinco continentes (CARRARO, 2003).

122 A atividade agrícola extensiva é um dos principais fatores de risco à  
123biodiversidade, primariamente pela destruição e fragmentação de habitats e  
124secundariamente pela simplificação e poluição desses habitats (CARRARO, 2003).

125 FRANZLUEBBERS *et al.*, (1999), afirmam que diante dos conhecimentos  
126atuais, o uso da diversidade microbiana como indicador de qualidade do solo vem tendo  
127um avanço muito importante. Isso porque tem se tornado consenso que a diversidade  
128microbiana possui importantes vantagens como indicador de qualidade do solo.

129 O objetivo deste trabalho foi quantificar e avaliar a diversidade fúngica presente  
130no solo com cultivo de soja, na região de Itaporã-MS.

131

132

133

134

135

136

137

138

139

140

141

142

143

144

### 1453- Material e Métodos

146

147 A coleta do solo foi realizada em área agrícola cultivada com soja (*Glycine*  
148*max*), mais precisamente, no Sítio Morada do Sol, que está localizado no sul do Estado  
149de Mato Grosso do Sul, na região Centro Oeste, a 18 km de distância da cidade de  
150Itaporã e suas coordenadas geográficas são de 54° 48' 23" longitude O e 22°13'18"  
151latitude S. No local, o clima, de acordo com a classificação de Koppen, é Cfa (Clima  
152Mesotérico Úmido sem estiagem, em que a temperatura média do mês mais quente é  
153superior a 22°C, apresentando, no mês mais seco, precipitação média superior a 30mm).  
154O solo predominante da região é o argissolo vermelho, que são solos minerais, não-  
155hidromórficos, com grande diversidade nas propriedades de interesse para a fertilidade e  
156uso agrícola (Embrapa, 2005-2007). O relevo é plano e suave ondulado. A cobertura  
157vegetal consiste basicamente de pastagem e agricultura formadas em região da Floresta  
158Estacional Semidecidual e região de cerrado (Mato Grosso do Sul, 2000).

159 A área onde a soja foi plantada totaliza 51 hectares, porém, para a coleta do  
160solo foi demarcada aleatoriamente uma área amostral de 0,25 hec (50m x 50m) e  
161adotado pontos amostrais, também escolhidos aleatoriamente, dentro da área amostral,  
162de onde o solo foi coletado com o auxílio de um trado na faixa de 0 a 15 cm de  
163profundidade.

164 As coletas foram mensais e totalizaram sete, sendo que a primeira ocorreu no  
165mês de outubro de 2009 e antes da semeadura; a segunda, ainda antes de plantar a soja,  
166foi em novembro; aos 60 dias após a semeadura (D.A.S.) foi feita a terceira coleta, no  
167mês de dezembro; a quarta e a quinta coleta foram feitas, respectivamente, aos 60  
168D.A.S. em janeiro e 120 D.A.S. em fevereiro de 2010; após a colheita da soja, foram  
169feitas mais duas coletas, a sexta em março e a sétima em abril. Antes do plantio da  
170cultura de soja foi feito uma aplicação, em área total, do herbicida sistêmico, ZAPP Qi<sup>®</sup>,  
171recomendado para o controle de plantas infestantes anuais e perenes.

172 A cada coleta foram retiradas três amostras do solo e todas acondicionadas em  
173sacos plásticos e conduzidas rapidamente ao laboratório de Microbiologia da Faculdade  
174de Ciências Biológicas e Ambientais da UFGD e conservadas sob refrigeração para  
175posterior análise da microbiota.

176 As amostras do solo foram peneiradas com peneira de malha de 1,7 mm e  
177pesadas em seguida. Isolados fúngicos foram obtidos por diluição em série de 10<sup>-2</sup>.

178diluindo 10g de solo em 90 ml de solução salina esterilizada  $10^{-1}$ . A pasta resultante foi  
179vertida em um balão de Erlenmeyer esterelizado e agitada vigorosamente. Dessa  
180suspensão, foi transferido 1mL para o tubo de ensaio e diluído com 9mL de solução  
181salina e homogeneizada manualmente, constituindo a diluição de  $10^{-2}$  (NEDER, 1992,  
182modificado).

183 Em seguida, alíquotas de 0,1 mL de cada diluição do solo em cada placa, foi  
184avaliada pela técnica de plaqueamento em superfície, em triplicata, e inoculação de  
185suspensões seriadas utilizando meios específicos. Por fim, as placas foram vedadas com  
186papel filme e permaneceram incubadas em B.O.D durante 7 dias, depois foi realizada a  
187contagem das UFCs. Para a contagem foi selecionado o meio de Martin (1950),  
188constituídos das seguintes substâncias: Fosfato de Potássio (1,00g), Sulfato de  
189Magnésio (0,50g), Peptona Bacteriológica (5,00g), Glucose (10,00g), Agar (20,00g),  
190Rosa Bengala (0,03g) e água destilada q.s.p. (1000mL).

191 A microbiota ativa de fungos, na forma de UFC/ml<sup>2</sup>, ou seja, Unidades  
192Formadoras de Colônias por mililitro, ficaram entre 30 e 300 UFC/mL, cada possível  
193espécie de fungo morfológicamente diferente foi transferida para um tubo de ensaio e  
194deixadas em temperatura ambiente por uma semana, para que crescessem isoladamente  
195e depois fotografadas com auxílio de uma câmera digital. A identificação de fungos  
196filamentosos tem como fundamento, a observação da morfologia da colônia e aspectos  
197microscópicos, por isso foi feito o microcultivo, ou seja, sobre uma lâmina esterilizada,  
198contida em uma placa de Petri estéril, colocou-se um cubo do meio Martin, sem seguida  
199transferiu-se o fungo, a partir de repique recente. Recobrimo com uma lamínula  
200esterilizada. Fez-se uma câmara úmida, adicionando 1 a 2 ml de água destilada estéril  
201no fundo da placa, para evitar a dessecação do meio de cultura, durante o crescimento  
202do fungo. Tampou-se a placa e a deixou em temperatura ambiente por 7 a 10 dias, até  
203que se observe desenvolvimento de hifas. A morfologia microscópica é melhor  
204visualizada com a técnica de microcultivo pois preserva a disposição original dos  
205esporos sobre as hifas e mantém íntegras certas estruturas formadoras de esporos, por  
206ex. esporângios que são órgãos de reprodução de zigomicetos. (CAGNONI, 2005).

207 As lâminas semi-permanentes foram utilizadas para a identificação fenotípica  
208dos gêneros fúngicos. A observação das estruturas microscópicas, tais como: hifa  
209hialina ou demácia, septada ou cenocítica, forma, disposição e formação dos esporos,

22

210são suficientes, em geral, para a identificação de fungos filamentosos (CAGNONI,  
2112005); (LACAZ, 1998).

212

213

214

215

216

217

218

219

220

221

222

223

224

225

226

227

228

229

## **2304-RESULTADOS E DISCUSSÃO**

23

8

24



232 Foram realizadas análises químicas do solo pesquisado, para verificar se havia  
 233 necessidade de adubos e corretivos. Após, estes resultados obtidos o solo foi  
 234 classificado como solo tipo 3, sem recomendação de adubos e corretivos (Tabela 1).

236 **Tabela 1.** Dados químicos encontrados no solo utilizado para as análises microbianas.

ELEMENTOS	Cmol/dm <sup>3</sup>	INTERPRETAÇÃO
<b>Cálcio</b>	3,46	Médio
<b>Magnésio</b>	1,27	Alto
<b>Potássio</b>	0,10	Médio
<b>Alumínio</b>	0,36	Baixo
<b>H + Alumínio</b>	5,76	Alto
<b>Soma de Bases</b>	4,83	Médio
<b>CTC</b>	10,59	Alto
	<b>g/dm<sup>3</sup></b>	
<b>Carbono</b>	9,88	Médio
<b>Matéria Orgânica</b>	16,99	Médio
	<b>mg/dm<sup>3</sup></b>	
<b>Fóforo</b>	3,30	Médio
<b>Ferro</b>	30,95	Médio
<b>Manganês</b>	0,30	Baixo
<b>Cobre</b>	6,39	Alto
<b>Zinco</b>	0,30	Baixo

237 Fonte: Solanalise, 2009.

238 DORAN *et al.*, (1994), discutem que até recentemente, os estudos a respeito da  
 239 qualidade do solo eram relacionados à utilização de indicadores físicos e químicos.  
 240 Entretanto, muitas informações sobre os aspectos físicos e químicos do solo, exigidos  
 241 para o máximo desenvolvimento vegetal, são afetados diretamente pelos processos

242bióticos (LEE, 1994), destacando-se a importância dos microrganismos e seus processos  
243no funcionamento e equilíbrio dos ecossistemas.

244 As coletas periódicas de solo realizadas antes, durante e após a colheita,  
245revelaram a flutuação da quantidade numérica das UFCs fúngicas, sugerindo a  
246influência e impacto que o agente químico Zap para o controle de planta infestantes  
247aplicado antes da semeadura, causa na comunidade fúngica presente neste solo. (Tabela  
2482).

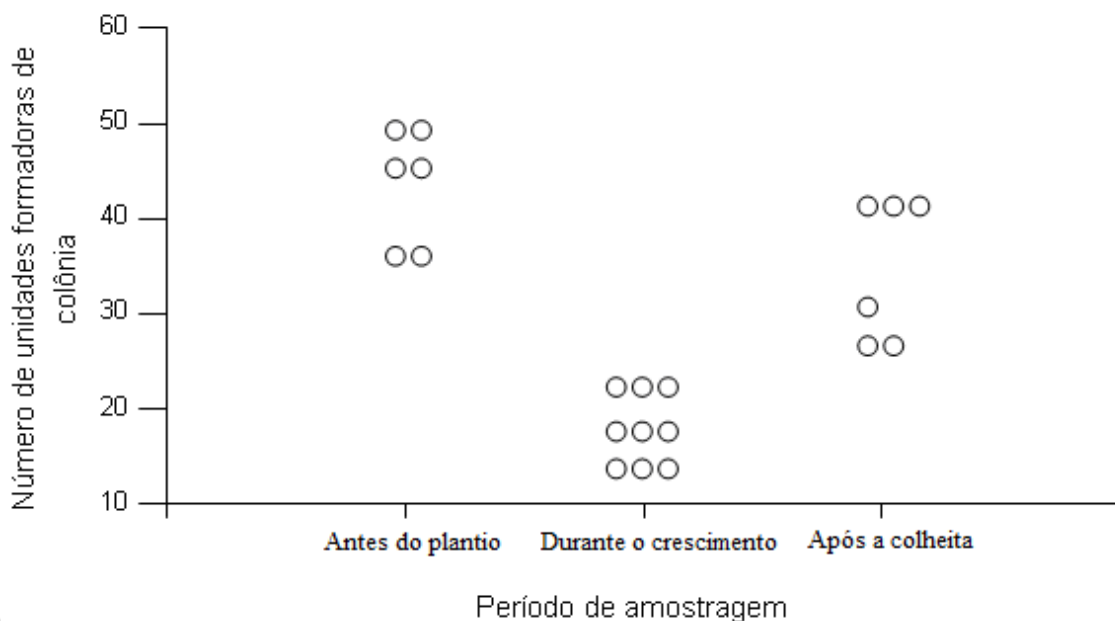
249**Tabela 2:** Microbiota Fúngica de solo do Sítio Morada do Sol/ Itaporã-MS.

<b>Amostras</b>	<b>Data (mês)</b>	<b>Média UFC/mL</b>	<b>Período</b>
<b>1</b>	Outubro	48,33 x 10 <sup>4</sup>	<b>Antes do plantio</b>
<b>2</b>	Outubro	49,33 x 10 <sup>4</sup>	<b>Antes do plantio</b>
<b>3</b>	Outubro	46 x 10 <sup>4</sup>	<b>Antes do plantio</b>
<b>4</b>	Novembro	50,66 x 10 <sup>4</sup>	<b>Antes do plantio (com agrotóxico)</b>
<b>5</b>	Novembro	36,33 x 10 <sup>4</sup>	<b>Antes do plantio (com agrotóxico)</b>
<b>6</b>	Novembro	36 x 10 <sup>4</sup>	<b>Antes do plantio (com agrotóxico)</b>
<b>7</b>	Dezembro	23 x 10 <sup>4</sup>	<b>Durante o crescimento</b>
<b>8</b>	Dezembro	22 x 10 <sup>4</sup>	<b>Durante o crescimento</b>
<b>9</b>	Dezembro	18,33 x 10 <sup>4</sup>	<b>Durante o crescimento</b>
<b>10</b>	Janeiro	19 x 10 <sup>4</sup>	<b>Durante o crescimento</b>
<b>11</b>	Janeiro	18,66 x 10 <sup>4</sup>	<b>Durante o crescimento</b>
<b>12</b>	Janeiro	16,66 x 10 <sup>4</sup>	<b>Durante o crescimento</b>
<b>13</b>	Fevereiro	13,66 x 10 <sup>4</sup>	<b>Durante o crescimento</b>
<b>14</b>	Fevereiro	18,33 x 10 <sup>4</sup>	<b>Durante o crescimento</b>
<b>15</b>	Fevereiro	21,33 x 10 <sup>4</sup>	<b>Durante o crescimento</b>
<b>16</b>	Março	28,33 x 10 <sup>4</sup>	<b>Após a colheita</b>
<b>17</b>	Março	25,66 x 10 <sup>4</sup>	<b>Após a colheita</b>
<b>18</b>	Março	30,66 x 10 <sup>4</sup>	<b>Após a colheita</b>
<b>19</b>	Abril	41,33 x 10 <sup>4</sup>	<b>Após a colheita</b>
<b>20</b>	Abril	41 x 10 <sup>4</sup>	<b>Após a colheita</b>

21	Abril	40,33 x 10 <sup>4</sup>	Após a colheita
----	-------	-------------------------	-----------------

251 Nas duas primeiras coletas, em outubro e novembro, antes do preparo de solo,  
 252 observou-se uma maior quantidade de UFCs. Já nas três coletas posteriores, em  
 253 dezembro, janeiro e fevereiro, durante o crescimento e amadurecimento da soja, foi  
 254 observada uma queda nas UFCs provavelmente ocasionado pela intensa alteração do  
 255 solo. Por fim, nas duas últimas coletas, após a colheita, houve um pequeno aumento das  
 256 UFCs, mas não chegou a atingir os valores iniciais (Fig. 1).

257 A análise de variância, realizada pelo teste Tukey ( $P > 0,05$ ), revelou que houve  
 258 uma diferença significativa (ANOVA;  $F=40,11$ ;  $gl=2$ ;  $p < 0,001$ ) entre as médias de UFC  
 259 antes, durante e depois do plantio da soja, (Fig. 1).



260

261 **Fig. 1:** Análise de variância de UFC/mL. O gráfico mostra o número médio de UFCs  
 262 antes do preparo do solo, após o plantio e após a colheita.

264

265 A comunidade fúngica é composta por diversos grupos, com variações morfológicas,  
 266 metabólicas e habitacionais. Podem ser classificados como Chytridiomycota, Zygomycota,  
 267 Ascomycota, Basidiomycota e Deuteromycota (Moreira e Siqueira, 2002; Legaz *et al.*, 1995).  
 268 Ao gêneros *Mucor*, *Rhizopus*, *Aspergillus*, *Trichoderma*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Verticillium* e

269 *Alternaria*, são fungos considerados amplamente encontrados no solo (Moreira e Siqueira,  
270 2002).

271 Após avaliação fenotípica dos esporos e corpos de frutificação, seguindo chave  
272 de identificação, pode-se sugerir a presença de alguns grupos fúngicos presentes no solo  
273 analisado, como, *Aspergillus* sp, *Penicillium* sp e *Trichoderma* sp.

274 Em função dos dados de flutuação da biomassa fúngica do solo ter se  
275 apresentado de forma coerente, revelando a possível influência que a lavoura e o  
276 agrotóxico utilizado exercem sobre a microbiota edáfica do solo, dados como  
277 temperatura, pluviometria e umidade relativa do ar, bem como, dados químicos e físicos  
278 do solo, não foram considerados significativamente influentes no comportamento da  
279 comunidade fúngica do solo estudado.

280

## 281 **5 – Conclusões**

282 Nas condições de realização do presente experimento e com base nos resultados  
283 obtidos, pode-se concluir que:

284- o impacto causado aos microrganismos do solo, por meio da preparação da terra e  
285 produtos químicos utilizados na preparação da semente, sugere diminuição da  
286 quantificação de UFC;

287- após a colheita, estatisticamente, pode-se afirmar que a quantidade de UFC volta a  
288 subir, mas não atinge valores vistos antes do preparo da terra.

289- a caracterização fenotípica sugeriu a presença dos grupos fúngicos de *Aspergillus*,  
290 *Penicillium* e *Trichoderma*.

291- será necessário caracterização molecular das colônias fúngicas, para confirmar a  
292 sugestão dada pela caracterização fenotípica.

293

294

295

37

296

297

298

299

300

301

302

303

#### 304 **Referências Literárias**

305- ANDRADE, G.; MIHARA, K. L.; LINDERMAN, R. G.; BETHLENFALVAY, G. J.  
306Soil aggregation status and rhizobacteria in the mycorrhizosphere. *Plant and Soil*,  
307Dordrecht, v. 202, n. 1, p. 89-96, may 1998.

308- ANVISA. Detecção e identificação dos fungos de importância médica. Agência  
309Nacional de Vigilância Sanitária. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br>. Acessado  
310em 19-06-2010 às 22:41.

311- CAMPOS, B. C.; REINERT, D. J.; NICOLOD, R.; RUEDELL, J.; PETRELE, C.  
312Estabilidade estrutural de um Latossolo Vermelho-escuro distrófico após sete anos de  
313rotação de culturas e sistemas de manejo do solo. *Revista Brasileira de Ciências do*  
314Solo, Campinas, v. 19, n 1, p. 121-126, jan./abr. 1995.

315- CAGNONI, R. M.; SOARES, M.M.S.R. *Microbiologia prática: roteiro e manual:*  
316bactérias e fungos. São Paulo, Editora Atheneu, 2005.

317- CARRARO, I. M. *Novos Desafios da Soja Brasileira: Encontro Técnico 7.* Cascavel:  
318COODETEC/BAYER CropScience, 2003. 114p.

38

13

39

- 319- DORAN, J.W.; COLEMAN, D.C.; BEZDICEK, D.F.; STEWART, B.A. (Eds.).  
320 Defining soil quality for a sustainable environment. Wisconsin: American Society of  
321 Agronomy, 1994.
- 322- DORIOZ, J. M.; ROBERT, M.; CHENU, C. The role of roots, fungi and bacteria on  
323 Clay particle organization. An Experimental Approach. *Geoderma*, Amsterdam, v. 56,  
324 n. ¼, p. 179-194, Mar. 1993.
- 325- EMBRAPA. Agência de informação, Bioma Cerrado. 2005-2007. Disponível em  
326 <http://www.agencia.cnptia.embrapa.br>. Acessado em 19-06-2010 às 20:36.
- 327- FRANZLUEBBERS, A.J.; HANEY, R.L.; HONS, F.M. Relationships of chloroform  
328 fumigation-incubation to soil organic matter pools. *Soil Biology and Biochemistry*,  
329 v.31, p.395-405, 1999.
- 330- HUNTER-CEVERA, J. C. The value of microbial diversity. *Current Opinion in*  
331 *Microbiology*, Amsterdam, v. 1, n. 3, p. 278-285, 1998.
- 332- ITO, M.F.; TANAKA, M. A. de S. Soja: principais doenças causadas por fungos,  
333 bactérias e nematóides. Campinas: Fundação Cargill, 1993. 234p.
- 334- KAISER, E.A.; MARTENS, R.; HEINEMEYER, O. Temporal changes in soil  
335 microbial biomass carbon in an arable soil. *Plant and Soil*, v.170, p.287-295, 1995.
- 336- LACAZ, C.S.; PORTO, E.; HEINS-VACCARI, E.M.; MELO, N. T. Guia para  
337 identificação: fungos, actinomicetos, algas de interesse médico, São Paulo: SARVIER,  
338 1998.
- 339- LEE, K.E. The functional significance of biodiversity in soils. In: World Congress of  
340 Soil Science, 15, 1994. Acapulco. Anais of World Congress of Soil Science. Acapulco:  
341 International Society of Soil Science, p. 168-182, 1994.
- 342- LEGAZ, F.; SERNA, M. D.; PRIMO-MILO, E. Mobilization of the reserve N in  
343 citrus. *Plant and Soil*, The Hague, v. 173, p. 205-210, 1995.
- 344- MATO GROSSO DO SUL. Secretaria de Estado de Meio Ambiente. Fundação  
345 Estadual de Meio Ambiente Pantanal. Coordenadoria de Recursos Hídricos e Qualidade  
346 Ambiental. Divisão Centro de controle Ambiental. Micro-bacia Hidrográfica do Rio

347Dourados: diagnóstico e implantação da rede básica de monitoramento da qualidade das  
348águas. Campo Grande, 2000. 78p.

349- MARTIN, J. P. Use of acid, rose bengal, and streptomycin in the plate method for  
350stimating soil fungi. Soil Science, Baltimore, v. 69, p. 215-232, 1950.

351- MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. Microbiologia e bioquímica do solo. Lavras:  
352Editora UFLA, 2002, 626p.

353- NEDER, R. N.; Microbiologia: manual de laboratório. São Paulo: Nobel, 1992, 138p.

354- OADES, J. M.; WATERS, A. G. Aggregate hierarchy in soils. Australian Journal of  
355Soil Research, Collingwood, v. 29, p. 815-828, 1991.

356- SHIKI, S. Sistema agroalimentar no cerrado brasileiro. In: SHIKI, S.; SILVA, J.G. da;  
357ORTEGA, A.C. (Org.). Agricultura, Meio Ambiente e Sustentabilidade do Cerrado  
358Brasileiro. Uberlândia: UFU, 1997. p.135-166.

359- SPARLING, G.P. Ratio of microbial biomass carbon to soil organic carbon as  
360sensitive indicator of changes in soil organic matter. Australian Journal of Soil  
361Research, v.30, p.195-207, 1992.

362- TISDALL, J. M.; OADES, J. M. Organic matter and water-stable aggregates in soils.  
363Journal of Soil Science, Oxford, v. 33, n. 1, p. 141-163, Mar. 1982.

364- URQUIAGA, S.; BODDEY, R.M.; NEVES, M.C.P. A necessidade de uma revolução  
365mais verde. In: SIQUEIRA, J.O.; MOREIRA, F.M.S.; LOPES, A.S.; GUILHERME,  
366L.R.G.; FAQUIN, V.; FURTINI NETO, A.E.; CARVALHO, J.G. (Ed.). Inter-relação  
367fertilidade, biologia do solo e nutrição de plantas. Lavras: Ufla; Sociedade Brasileira de  
368Ciência do Solo, 1999, p.175-181.

369- WARD, D. M. A natural species concept for prokaryotes. Current Opinion in  
370Microbiology . Amsterdam, v. 1, n. 3, p. 271-277, 1998.

371- ZILLI, J. É. et al. Influence of fungicide seed treatment on soybean nodulation and  
372grain yield. Revista Brasileira de Ciências do Solo, Campinas, vol.33, no.4, p.917-923,  
373Aug 2009.

46

374- ZILLI, J. É. et al. Diversidade Microbisns como Indicador de Qualidade do Solo.  
375Cadernos de Ciência & Tecnologia, Brasília, v. 20, n. 3, p. 391-411, set./dez. 2003.  
376Campinas, vol.33, no.4, p.917-923, De 2003.

377

378

47

48

16