

KATHLIN DIAS PROCÓPIO

**ADUBAÇÃO ORGÂNICA COM RESÍDUOS ANIMAIS E USO DE
MICRORGANISMOS EFICIENTES NA PRODUÇÃO
AGROECOLÓGICA DE CAPIM ELEFANTE**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agroecologia, para obtenção do título de Magister Scientiae.

VIÇOSA
MINAS GERAIS - BRASIL
2019

**Ficha catalográfica preparada pela Biblioteca Central da Universidade
Federal de Viçosa - Câmpus Viçosa**

T

Procópio, Kathlin Dias, 1989
P963a Adubação orgânica com resíduos animais e uso de
2019 microrganismos eficientes na produção agroecológica de capim
elefante / Kathlin Dias Procópio. – Viçosa, MG, 2019.
x, 48f. : il. ; 29 cm.

Orientador: Rogério de Paula Lana.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.
Inclui bibliografia.

1. Plantas - Nutrição. 2. Resíduos orgânicos. 3. Inoculação
do solo. I. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de
Zootecnia. Programa de Pós-Graduação em Agroecologia.
II. Título.

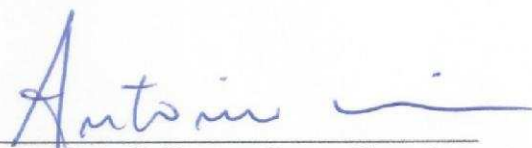
CDD 22 ed. 631.8

KATHLIN DIAS PROCÓPIO

**ADUBAÇÃO ORGÂNICA COM RESÍDUOS ANIMAIS E USO DE
MICRORGANISMOS EFICIENTES NA PRODUÇÃO
AGROECOLÓGICA DE CAPIM ELEFANTE**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agroecologia, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 28 de fevereiro de 2019.



Antônio Policarpo Souza Carneiro



Paulo Prates Junior



Rogério de Paula Lana
(Orientador)

Aos meus pais, que sempre acreditaram, incentivaram e investiram nos meus estudos, dedico.

“We must remember that intelligence is not enough. intelligence plus character - that is the goal of true education.”

(Dr Martin Luther King Jr., The purpose of education, 1947).

AGRADECIMENTOS

Agora é o momento de agradecer todos que fizeram parte dessa trajetória e auxiliaram para a conclusão deste trabalho.

Primeiramente, agradeço a Deus por sempre me auxiliar nos momentos de desafios, conquistas, escolhas e busca pelos meus sonhos! Sem ele nada seria possível.

Agradeço aos meus pais por sempre torcerem, compreenderem, darem suporte e apoio para os meus estudos e projetos de vida! Obrigada por tudo!

Ao Marcelo pelo amor, carinho, paciência, conselhos, suporte e momentos! Obrigada por fazer essa caminhada mais suave e divertida!

Gratidão aos meus colegas e amigos do mestrado, dos laboratórios, da especialização, do Rotaract, do projeto Embaixadores, intercambistas, da república, da vida! Em especial aos que me auxiliaram nas análises e no campo, Adailton, Aline Naime, Amanda, Bárbara, Dhones, Djalma, Evaldo, Jardeson, Júnia, Marcos, Naiara, Saulo e Sérgio. Obrigada pelo suporte e saídas descontraídas!

Aos servidores da UFV pelo suporte no campo experimental e nas análises laboratoriais: Zé Bira, Seu Mário, Mateus, Plínio e Monteiro. Vocês foram essenciais para minha pesquisa. Ao professor Edênio, por permitir utilizar o Laboratório de Análises de Alimentos Animais e esclarecimento de algumas dúvidas.

Ao Pós Doutorando Paulo Prates, pelas orientações referentes às análises de microbiologia do solo, por ser prestativo e auxiliar em tudo que foi necessário para essas análises. À professora Maria Catarina, pela disponibilização do uso do Laboratório de Associações Micorrízicas/DMB/Bioagro/UFV.

Ao meu orientador, Rogério Lana, pelos ensinamentos, orientação e suporte no delineamento experimental, trabalho de campo e análises estatísticas. Muito obrigada!

Ao professor Antônio Policarpo e Sebastião Martins, pelos suportes relacionados às análises estatísticas e por me receberem muito bem, sanando minhas dúvidas.

Ao professor Genelício Rocha, ao professor Raphael Fernandes e aos técnicos Helderson e Giovani, pelo suporte relativo às análises físico-químicas do solo.

Às professoras Silvia Priore, Irene Cardoso, Karina Guimarães e ao professor Ivo Jucksch, pelo auxílio no desenvolvimento do projeto, através das disciplinas de Seminário, Forragicultura e Metodologia da Pesquisa - Ênfase em solos.

Aos membros da banca, por aceitarem o convite para contribuir com este trabalho.

Ao Programa de Pós-Graduação em Agroecologia, por permitir desenvolver essa ciência e trocar experiência com os agricultores e com a natureza. À secretária do programa, Rosângela Stampini, por todo suporte ofertado.

À CAPES, CNPq, FAPEMIG, UFV, recursos do PROAP e FORTIS, por fomentarem recursos financeiros para que essa pesquisa e a de diversos colegas pudessem ser realizadas para o desenvolvimento da ciência.

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

Gratidão a todos aqueles que contribuíram para a realização desta conquista!

RESUMO

PROCÓPIO, Kathlin Dias, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2019. **Adubação orgânica com resíduos animais e uso de microrganismos eficientes na produção agroecológica de capim elefante.** Orientador: Rogério de Paula Lana.

O uso de resíduos orgânicos em capineiras, além de proporcionar menor custo de produção da cultura, pela redução de gastos com insumos, devido a presença de nutrientes contido nos resíduos e ser benéfico ao meio ambiente, possibilita a melhoria na produtividade da massa de forragem e na composição química da planta e do solo. Estudos com EM (Microrganismos Eficientes) relatam sua eficiência de uso em diferentes áreas, como no crescimento e desenvolvimento de plantas e na degradação de compostos orgânicos. O objetivo dessa pesquisa foi analisar se os resíduos sólidos animais, associados ou não ao uso de microrganismos eficientes (EM), melhoram a produtividade, as características químicas e de minerais do capim elefante (Capítulo 1) e o perfil da microbiota do solo (Capítulo 2). O experimento foi conduzido no sítio Boa Vista, distrito de Cachoeira de Santa Cruz, Viçosa-MG, pertencente à Universidade Federal de Viçosa (UFV). Inicialmente, foi feita a análise do solo e dos resíduos orgânicos, em laboratório, para obtenção das características físico-químicas. O EM foi produzido e incorporado, com o uso de um pulverizador, na área experimental, após a aplicação dos resíduos curtidos. As doses de compostos que foram aplicadas no capim elefante teve como base os seus teores de nitrogênio, devido a exigência da cultura. Sendo assim, o experimento foi conduzido em esquema de parcelas subdivididas, com delineamento em quadrado latino, com quatro repetições. Nas parcelas, foram estudados os tratamentos: testemunha, resíduos sólidos de suínos, resíduos sólidos de bovinos e resíduos sólidos de frangos (cama de frango); e, nas subparcelas, foram estudados a aplicação (com) ou não (sem) de EM, totalizando 32 unidades experimentais de 10 m² cada. Nas épocas correspondentes aos cortes, foram feitas avaliações das características morfológicas do capim elefante, análises bromatológicas completas e de minerais (cálcio, fósforo, magnésio, sódio e potássio). Ao final do experimento, foram coletadas com trado holandês, à profundidade de 0-20 cm, amostras compostas de solo em cada subparcela. Parte dessas amostras foram coletadas para análises das características químicas do solo e outra parte foi acondicionada em freezer a -20°C. A abundância de esporos das amostras de fungos micorrízicos arbusculares (FMA), foi avaliada pela técnica de peneiramento úmido com as amostras de solos bem como foram avaliados em nível molecular pela técnica de PCR-DGGE. Os dados de produtividade, bromatologia, minerais, abundância total de esporos,

índices de diversidade de FMA e bactérias foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e, quando houve significância, as médias de tratamentos foram comparadas pelo teste de Tukey, ao nível de 5 % de significância, utilizando-se o programa SAS 9.4 na função PROC MIXED. Houve melhorias nos parâmetros de produtividade do capim elefante, sendo que as variáveis massa verde e massa seca tiveram aumento de mais de 150 % em relação ao tratamento controle. Entretanto, houve queda na composição químico-bromatológica e de minerais, após o tratamento, indicando a necessidade de ajustes no tempo de corte e adubação. Os resultados demonstram não haver efeito significativo do EM para composição bromatológica ($P>0,05$), tendo efeito da adubação orgânica, em que a cama de frango apresentou melhores resultados do que os outros tratamentos. Já em relação as análises moleculares, os resultados indicaram haver homogeneidade no perfil de bandas tanto para bactérias quanto para FMA na PCR-DGGE, independente do resíduo aplicado e da subparcela ter recebido ou não EM. Houve maior similaridade (84 %) entre os FMA, com predominância de separação de grupos que receberam ou não EM. Houve baixa similaridade entre as comunidades de bactérias, com 25 % de similaridade entre dois grupos similares em relação aos tratamentos. Houve efeito significativo com a aplicação de EM para dominância nas comunidades de FMA, porém reduziu-se os demais índices de diversidade. O capim elefante teve boa produtividade, destacando-se o tratamento com a cama de frango. Os tratamentos que produziram mais, removeram mais minerais. Os componentes químicos no capim reduziram com os tratamentos, indicando a necessidade de adubação mais frequente e ajuste do período de corte. Os resíduos orgânicos não afetaram o perfil da comunidade microbiana e o EM afetou comunidade de FMA do solo com capim elefante plantado.

ABSTRACT

PROCÓPIO, Kathlin Dias, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, February, 2019. **Organic fertilization with animal residues and use of effective microorganisms in the agroecological production of elephantgrass.** Advisor: Rogério de Paula Lana.

The use of organic residues in grass, besides providing a lower cost of production of the crop, the reduction of expenses with inputs, due to the presence of nutrients contained in the residues and to be beneficial to the environment, allows the improvement in the productivity of the forage mass and in the chemical composition of the plant and soil. Studies with EM (Effective Microorganisms) report their efficiency of use in different areas, such as in the growth and development of plants and the degradation of organic compounds. The objective of this research was to analyze if solid animals wastes, associated or not with the use of effective microorganisms (EM), improve the productivity, chemical and minerals characteristics of elephant grass (Chapter 1) and the soil microbiota profile (Chapter 2). The experiment was conducted at Boa Vista farm, Cachoeira de Santa Cruz district, Viçosa-MG, belonging to the Federal University of Viçosa (UFV). Initially, the soil and organic residues were analyzed in the laboratory to obtain the physicochemical characteristics. EM was produced and incorporated, with the use of a sprayer, in the experimental area, after the application of the tanned residues. The doses of compounds that were applied in the elephant grass were based on their nitrogen content, due to the requirement of the crop. Thus, the experiment was conducted in a subdivided parcels scheme, with a Latin square design, with four replications. In the parcels, the treatments were: control, solid residues of pigs, solid residues of cattle and solid residues of chickens (chicken litter); and, in the subparcels, the application with or without EM, totalizing 32 experimental units of 10 m² each one. In the seasons corresponding to the cut, evaluations of the morphological characteristics of elephant grass, complete chemical analyzes and minerals (calcium, phosphorus, magnesium, sodium and potassium) were performed. At the end of the experiment, it was collected with holland auger, with a depth of 0-20 cm, composite samples of soil in each subparcels. Part of these samples were collected for analysis of soil chemical characteristics and another part was stored in a freezer at -20 °C. The abundance of spores of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) in the samples was evaluated by the wet sieving technique with the soil samples as well as evaluated at the molecular level by the PCR-DGGE technique. The data of productivity, chemical composition, minerals, total abundance of spores, diversity indexes of AMF and bacteria were submitted to analysis of

variance (ANOVA) and, when there was significance, means of treatments were compared by the Tukey test, at the level of 5 % of significance, using the SAS 9.4 program in the PROC MIXED function. There were improvements in elephant grass productivity parameters, with the green matter and dry matter variables increasing by more than 150 % in relation to the control treatment. However, the chemical and minerals composition, after the treatment, was declined, indicating the necessity of adjustments in cutting time and fertilization. The results showed that there was no significant effect of EM for chemical composition ($P>0.05$), with effect of organic fertilization, where the chicken litter presented better results than the other treatments. In relation to the molecular analyzes, the results indicated that there was homogeneity in the band profile for both bacteria and FMA in the PCR-DGGE, regardless of the residue applied and the subparcels having received or not EM. There was greater similarity (84 %) among AMF, with a predominance of separation groups that received or not EM. There was a low similarity between the bacterial communities, with 25 % similarity between two similars groups related to the treatments. There was a significant effect with the application of EM for dominance in FMA communities, but the other diversity indexes were reduced. The elephant grass had good productivity, especially the treatment with the chicken litter. The treatments that produced more removed more minerals. The chemical components in the grass reduced with the treatments, indicating the need for more frequent fertilization and adjustment of the cut period. The organic residues did not affect the profile of the microbial community and the EM affected the FMA community of the soil with elephant grass planted.

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL.....	1
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	5
 CAPÍTULO I - PRODUÇÃO E VALOR NUTRICIONAL DE CAPIM ELEFANTE ADUBADO COM RESÍDUOS ANIMAIS E MICRORGANISMOS EFICIENTES	
RESUMO.....	8
ABSTRACT	9
1 INTRODUÇÃO.....	10
2 MATERIAL E MÉTODOS.....	12
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	18
4 CONCLUSÕES	22
5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	23
 CAPÍTULO II - DIVERSIDADE MICROBIANA DE SOLO CULTIVADO COM CAPIM ELEFANTE INOCULADO COM MICRORGANISMOS EFICIENTES E ADUBOS ORGÂNICOS	
RESUMO.....	27
ABSTRACT	28
1 INTRODUÇÃO.....	29
2 MATERIAL E MÉTODOS.....	31
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	39
4 CONCLUSÕES	43
5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	44
 CONCLUSÕES GERAIS.....	 48

INTRODUÇÃO GERAL

Com o crescimento populacional e as alterações no padrão de consumo, aumentou-se a geração e a disposição inadequada de resíduos, o que tem gerado grande passivo ambiental e problemas de saúde pública como. Entretanto, resíduos animais e vegetais podem ser reaproveitados e utilizados na agricultura como adubos orgânicos.

Os resíduos orgânicos são materiais que na natureza, se degradam espontaneamente e reciclam os nutrientes (MMA, 2017). Uma das técnicas utilizadas para melhorar o aproveitamento dos resíduos orgânicos é a compostagem. Com a compostagem, aproveita-se os resíduos a partir de processos biológicos para a produção de adubos orgânicos, que podem ser utilizados na agricultura e reduzir a dependência de insumos agropecuários não renováveis como os agrotóxicos, tornando a atividade mais sustentável (EMBRAPA, 2017).

Alternativas às matérias-primas tradicionalmente utilizadas têm sido usadas no processo de compostagem. Dentre elas, têm-se os esterco bovino, suíno, aviário e outros resíduos curtidors de animais (EMBRAPA, 2017). A Política Nacional de Resíduos Sólidos (Lei 12.305/2010) prevê, no art. 36, inciso V, “a necessidade de implantação, pelos titulares dos serviços, de sistemas de compostagem para resíduos sólidos orgânicos e articulação com os agentes econômicos e sociais formas de utilização do composto produzido”.

Os resíduos orgânicos, além de fontes de nutrientes, são fontes de matéria orgânica, importantes para a manutenção ou recuperação da qualidade do solo. Para evitar a adição de nutrientes em quantidades superiores às exigidas pela cultura e, muitas vezes, até superiores à sua capacidade de retenção no solo, recomenda-se equacionar a dose de resíduos orgânicos a serem aplicados, tomando-se como base o nutriente, cuja quantidade seja satisfeita em menor dosagem (MATOS, 2007).

Quando aplicados em capineiras (áreas de cultivo de gramíneas), via adubação, os resíduos orgânicos animais contribuem para a manutenção ou recuperação das características físicas, químicas e biológicas do solo, o que pode favorecer a manutenção da produtividade das mesmas ao longo do tempo (SANTOS, 2016). As capineiras contribuem para a recuperação das pastagens, com a redução da pressão de pastejo no período da seca, cuja qualidade do solo normalmente é perdida em especial devido ao superpastejo, intensificado durante o período de escassez de forragens. Nesse período, a suplementação alimentar com o uso de capineiras pode permitir a manutenção do peso corporal dos animais e a estabilidade na produção leiteira, o que diminui o pastejo e com isto diminui também a degradação das pastagens.

As capineiras podem ser formadas com capim elefante (*Pennisetum purpureum* Shum.), uma gramínea perene, de crescimento cespitoso, com folhas grandes e compridas, e colmo cilíndrico. Essa forrageira adapta-se a diferentes tipos de solo, com exceção dos solos mal drenados, com possíveis inundações, e pode ser cultivada em terrenos com declives de até 25 %, devido ao seu baixo controle da erosão do solo. A planta é exigente em fertilidade e não tolera baixo pH e a alta saturação de alumínio no solo. Sendo assim, a adubação de manutenção se faz necessária, devido, tanto às suas exigências, como pela extração de nutrientes com sua alta produção, principalmente quando utilizado na forma de capineira (MOSS, 1964; NASCIMENTO JUNIOR, 1981; ALCÂNTARA e BUFARAH, 1983; JACQUES, 1994; DERESZ, 1999).

O capim elefante produz bons teores de proteína na fase de crescimento vegetativo, que ocorre no início do período chuvoso (GUIMARÃES et al., 2016). Devido à alta produtividade no período chuvoso e decaimento do crescimento no período seco, podem ocorrer variações nos valores nutricionais da planta forrageira, especialmente devido às baixas temperaturas e precipitações no período seco (DAHER et al., 2017). Técnicas que visem melhorar as características agronômicas e o valor nutricional do capim elefante, podem ser utilizadas para melhorar a suplementação animal via capineira. Dentre as técnicas comumente utilizadas, encontra-se a adubação de manutenção, que pode ser introduzida com a utilização de tecnologias sociais.

Tecnologias sociais são opções que buscam manejar os recursos da propriedade de forma sustentável e integrada, segundo os preceitos da agroecologia, sendo utilizadas principalmente por comunidades socioeconomicamente vulneráveis como agricultores familiares (SERAFIM et al., 2013). Os resíduos orgânicos, que podem ser de origem animal, quando aplicados no solo, contribuem para a restituição e ciclagem dos nutrientes (ÖBORN et al., 2005). A potencialização da ciclagem dos nutrientes a partir do uso de resíduos orgânicos é importante também para diminuir o uso de insumos externos aos agroecossistemas e aumentar a sustentabilidade da agricultura. A ciclagem dos nutrientes, que está entre os princípios da agroecologia, é potencializada a partir do manejo da matéria orgânica e estímulo da microbiota do solo (ALTIERI e NICHOLLS, 2000).

Para estimular a microbiota do solo, diversas pesquisas têm estudado o efeito da introdução de microrganismos no solo, com a finalidade de mudar direta e indiretamente a comunidade microbiana do mesmo. A inserção desses microrganismos no solo pode ser feita

através do uso de inoculantes, como a solução de EM (Effective Microorganisms), uma tecnologia social que visa utilizar seres que coexistem em meio líquido com a presença de metabólitos provenientes de um processo de fermentação benéfica (AMBIEM, 2008). Dentre às diversas funções do EM, são mais evidentes e comprovadas em algumas pesquisas o efeito do EM sobre: O crescimento de plantas (KHALIQ ET AL. 2006; HU E QI 2013); aceleração da decomposição de resíduos orgânicos, com consequente disponibilização de nutrientes às culturas (DALY E STEWART 1999; JAVAID E BAJWA 2011; SHARIF ET AL. 2015); e intensificação do processo de germinação de sementes (KHAN ET AL. 2006; MOWA E MAASS 2012; SANTOS, 2016). Esses microrganismos produzem substâncias bioativas e promovem a competição e antagonismo com patógenos que propiciam a manutenção do equilíbrio natural dos ecossistemas (CÓNDOR-GOLEC et al., 2007).

O EM aumenta a diversidade e o número de microrganismos naturais que beneficiam o solo, sendo formado principalmente por comunidades de bactérias e fungos encontrados em plantas e em solos não degradados que convivem em meio líquido (HIGA, 2000; BONFIM et al., 2011). A composição do EM, verificada por Santos (2016), com EM comercial e EM de agricultores familiares da Zona da Mata, foi principalmente de bactérias, seguidas por fungos, tendo como os filos comuns, Actinobacteria, Firmicutes, Proteobacteria e Synergistetes.

Segundo Santos (2016), a estratégia de utilização do EM pode ser benéfico nas culturas, porém, depende da origem e da composição microbiológica desse inoculante, e a presença ou não do esterco bovino. Santos (2016) encontrou que os EMs em conjunto com o esterco bovino têm potencial de aumentar os teores de proteína bruta (PB) e diminuir os de fibra em detergente neutro (FDN), quando aplicados em capim-marandu. Dessa forma, nota-se que o uso do EM associado à alguma fonte de resíduo orgânico pode trazer resultados positivos na composição nutricional de gramíneas.

Além disso, a quantidade e o número de espécies de microrganismos que habitam o solo variam muito de região para região, de acordo com as condições edafoclimáticas e o manejo realizado nos agroecossistemas. O EM produzido em diferentes locais podem ser diferentes entre si, o que traz resultados diferentes, positivos ou antagônicos. Afim de investigar diferenças no perfil microbiano, análises de reação em cadeia da polimerase (PCR) e a eletroforese em gel com gradiente desnaturante (DGGE) têm sido realizadas em estudos com microrganismos eficientes (VAN VLIET et al., 2006; GAGGIÀ et al., 2013).

As informações sobre o efeito do EM no crescimento, composição química e mineral, bem como informações sobre a composição microbiana de EMs em solos cultivados com gramíneas, são escassas na literatura acessada, principalmente em relação ao EM “caseiro”. O presente trabalho pretendeu responder aos seguintes questionamentos: Os resíduos orgânicos e EM alteram positivamente as características agronômicas e nutricionais do capim elefante? Os resíduos orgânicos e EM podem melhorar as propriedades microbiológicas do solo?

Sendo assim, o objetivo geral desta pesquisa foi analisar se os resíduos animais, associados ou não ao uso de microrganismos eficientes (EM), melhoram a produtividade de capim elefante. Especificamente, objetivou-se avaliar se o uso de resíduos orgânicos, associados ou não ao EM, melhoram as características nutricionais e agronômicas do capim elefante (Capítulo 1), e modificam o perfil da comunidade de FMA e bactérias do solo (Capítulo 2).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALCÂNTARA, P.B.; BUFARAH, G. **Plantas forrageiras: gramíneas e leguminosas**. 2ª ed. São Paulo: Editora Nobel, 1983. 150p.

ALTIERI, M.; NICHOLLS, C.I. **Agroecología-Teoría y práctica para uma agricultura sustentable**. 1ªed. México: [s.n.], 2000. 257p.

AMBIEM Ltda. **Portal oficial da Tecnologia EMTM na América Latina**. Camacari, BA. Disponível em: <<http://www.em-la.com>>, Acesso em: 20 set. 2017.

BRASIL. Lei nº 12.305, de 2 de agosto de 2010. Institui a Política Nacional de Resíduos Sólidos; altera a Lei no 9.605, de 12 de fevereiro de 1998; e dá outras providências. **Presidência da Casa Civil**. Disponível em: <http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_ato2007-2010/2010/lei/l12305.htm>, Acesso em: 23 set. 2017.

CÓNDOR-GOLEC, A. F.; GONZALEZ PEREZ, P.; LOKARE, C. Microorganismos eficaces: ¿mito o realidad? **Revista Peruana de Biología**. [s.l], v. 14, n. 2, p. 315-319, 2007.

DAHER, R.F.; RODRIGUES, E.V.; ARAÚJO, M.S.B.; PINHEIRO L.S.; GRAVINA, G.A.; LÉDO, F.J.S.; PEREIRA, A.V. Variação sazonal na produção de forragem de clones intra e interespecíficos de capim elefante. **Revista Agrarian**, v.10, n.38, p.294-303, 2017.

DALY, M.J.; STEWART, D.P.C. Influence of "effective microorganisms" (EM) on vegetable production and carbon mineralization - a preliminary investigation. **Journal of Sustainable Agriculture**, [s.l], v.14, p.15–25, 1999.

DERESZ, F. **Utilização do capim-elefante sob pastejo rotativo para produção de leite e carne**. Circular Técnica 54. Juiz de Fora: Embrapa-CNPGL, 1999. 29p.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **Aproveitamento de Resíduos Orgânicos**. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/agrobiologia/pesquisa-e-desenvolvimento/aproveitamento-de-residuos-organicos>>, Acesso em: 23 set. 2017.

GAGGÌA F, BAFFONI, L.; DI GIOIA, D.; ACCORSI, M.; BOSI, S.; MAROTTI, I.; BIAVATI, B.; DINELLI, G. Inoculation with microorganisms of *Lolium perenne* L.: evaluation of plant growth parameters and endophytic colonization of roots. **New Biotechnology**, v. 30, n.6, p. 695-704, 2013.

GUIMARÃES, G.; LANA, R.P.; PEREIRA, D.S.; TEIXEIRA, C.R.V.; FIRMINO, E.P.; CAMPOS, S.A.; TRINDADE, P.C. Potencial de produção de proteína de algumas culturas para animais ruminantes. In: V SIMPA - SIMPÓSIO DA PÓS-GRADUAÇÃO EM AGROECOLOGIA DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA. **Anais...Viçosa: V SIMPA**, 2016. p.124-126.

HIGA T. What is EM technology? **EM World Journal**. 2000.p.1-6.

HU, C.; QI, Y. Long-term effective microorganisms application promote growth and increase yields and nutrition of wheat in China. **European Journal of Agronomy**, [s.l.], v.46, p.63–67, 2013.

JACQUES, A.V.A. **Caracteres morfo-fisiológicos e suas aplicações como manejo**. In: CARVALHO, M.M.; et al. (Eds.) Capim elefante: produção e utilização. Coronel Pacheco: Embrapa-Gado de Leite, 1994, p.31-47.

JAVAID, A.; BAJWA, R. Field evaluation of effective microorganisms (EM) application for growth, nodulation, and nutrition of mung bean. **Turkish Journal of Agriculture and Forestry**, [s.l.], v.35, p.443–452, 2011.

KHAN BM, HOSSAIN MK, MRIDHA MAU. Effect of microbial inoculants on Albizia saman germination and seedling growth. **Journal of Forestry Research**, [s.l.], v.17, p.99-102, 2006.

KHALIQ A, ABBASI MK, HUSSAIN T. Effects of integrated use of organic and inorganic nutrient sources with effective microorganisms (EM) on seed cotton yield in Pakistan. **Bioresource Technology**, [s.l.], v.97, p.967–972, 2006.

MATOS, A.T. **Disposição de águas residuárias no solo**. Viçosa: AEAMG/DEA/UFV – Caderno didático 38, 2007. 141p.

MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE. **Gestão de Resíduos Orgânicos**. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/cidades-sustentaveis/residuos-solidos/gest%C3%A3o-de-res%C3%ADuos-org%C3%A2nicos>>, Acesso em: 23 set. 2017.

MOSS, D.N. **Some aspects of microclimatology important in forage plant physiology in Forage plant physiology and soil relationships**. Madison-Winsconsin: ASA Special publications, 1964.

MOWA, E.; MAASS, E. The effect of sulphuric acid and effective micro-organisms on the seed germination of Harpagophytum procumbens (devil's claw). **South African Journal of Botany**, [s.l.], v.83, p.193-199, 2012.

NASCIMENTO JR., D. **Informações sobre plantas forrageiras**. Viçosa: Imprensa Universitária UFV, 1981. 56p.

ÖBORN, I.; ANDRIST-RANGEL, Y.; ASKEGAARD, M.; GRANT, C.A., WATSON, C.A.; EDWARDS A.C. Critical aspects of potassium management in agricultural systems. **Soil Use and Management**, [s.l.], v.21, p.102-112, 2005.

SANTOS, L.F. **Micro-organismos eficientes: Diversidade microbiana e efeito na germinação, crescimento e composição química de capim-marandu**. 2016. 58p. Dissertação (Mestrado em Agroecologia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2016.

SERAFIM, M. P.; JESUS, V. M. B.; FARIA, J. Tecnologia Social, agroecologia e agricultura familiar: análises sobre um processo sociotécnico. **Segurança Alimentar e Nutricional**, Campinas, São Paulo, Brasil. v.20, p.169-181, 2013.

SHARIF, M.; KHAN, M.; KHAN, M.A.; WAHID, F.; MARWAT, K.B.; KHATTAK, A.M.; NASEER, M. Effect of rock phosphate and farmyard manure applied with effective microorganisms on the yield and nutrient uptake of wheat and sunflower crops. **Pakistan Journal of Botany**. [s.l.], v.47, p.219-226,2015.

VAN VLIET P. C. J.; BLOEM, J.; GOEDE, R. G. M. Microbial diversity, nitrogen loss and grass production after addition of Effective Micro-organisms (EM) to slurry manure. **Applied Soil Ecology**, [s.l.], n.32, p.188–198. 2006.

CAPÍTULO I

PRODUÇÃO E VALOR NUTRICIONAL DE CAPIM ELEFANTE ADUBADO COM RESÍDUOS ANIMAIS E MICRORGANISMOS EFICIENTES

RESUMO – As forrageiras são as principais fontes de alimentação dos ruminantes. Dentre as gramíneas, tem-se o capim elefante, que possui alto potencial de produtividade de biomassa. A utilização de resíduos sólidos como fonte de adubação orgânica reduz custos de produção e melhora as propriedades físico-químicas do solo e da planta, aumentando a sustentabilidade dos agroecossistemas. O uso de EM (Microrganismos Eficientes) auxilia no crescimento e desenvolvimento de plantas e na degradação de compostos orgânicos. Sendo assim, objetivou-se analisar se os resíduos sólidos de bovinos, suínos e cama de frango, associados ou não ao uso de microrganismos eficientes (EM), incrementam as características agronômicas, químico-bromatológicas e de minerais do capim elefante. O experimento foi implementado na fazenda Boa Vista, distrito de Cachoeira de Santa Cruz, Viçosa-MG, pertencente à Universidade Federal de Viçosa (UFV). Primeiramente, foi feita a análise do solo e dos resíduos orgânicos, em laboratório, para obtenção das características físico-químicas. O EM foi produzido e incorporado com o uso de um pulverizador, na área experimental, após a aplicação dos resíduos curtidos. A dose de composto aplicada no capim elefante foi com base no teor de nitrogênio de cada resíduo, de acordo com a exigência da cultura. O experimento foi conduzido em esquema de parcelas subdivididas, com delineamento em quadrado latino, com quatro repetições. As parcelas, foram compostas pelos tratamentos: testemunha, excretas de suínos, bovinos e cama de frango; e, nas subparcelas, foram aplicados ou não o EM, obtendo-se o total de 32 unidades experimentais de 10 m² cada. Nos cortes, foram avaliadas no capim, as características morfológicas, bromatológicas e de minerais (cálcio, fósforo, magnésio, sódio e potássio). Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e, quando houve significância, as médias de tratamentos foram comparadas pelo teste de Tukey, ao nível de 5 % de significância, utilizando-se o programa SAS 9.4 na função PROC MIXED. Com base nos resultados, não houve efeito significativo do EM, tendo efeito ($P < 0,05$) da adubação orgânica nas variáveis de crescimento, com aumentos em até 178,2 % em relação ao tratamento controle. Conclui-se que a cama de frango foi o resíduo que apresentou melhores resultados na produtividade do capim em relação aos demais, porém com menores teores de minerais, pois sua alta produção,

provavelmente removeu grande quantidade de nutrientes, mas não proporcional ao aumento da produção.

Palavras-chave: Adubos orgânicos, capim agroecológico, forrageira, inoculantes, nutrientes.

PRODUCTION AND NUTRITIONAL VALUE OF ELEPHANT GRASS FERTILIZED WITH ANIMALS RESIDUES AND EFFECTIVE MICROORGANISMS

ABSTRACT - Forages are the main sources of feed for ruminants. Among the grasses, there is elephant grass, which has a high biomass productivity potential. The use of solid waste as a source of organic fertilization reduces production costs and improves the physical and chemical properties of soil and plant, increasing the sustainability of agroecosystems. The use of EM (Effective Microorganisms) assists in the growth and development of plants and the degradation of organic compounds. Thus, the objective was to analyze if solid residues of bovine, swine and chicken litter, associated or not to the use of EM, increase the agronomic, chemical and minerals characteristics of elephantgrass. The experiment was carried out on the Boa Vista farm, Cachoeira de Santa Cruz district, Viçosa-MG, belonging to the Federal University of Viçosa (UFV). Firstly, the soil and organic residues were analyzed in the laboratory to obtain the physicochemical characteristics. The EM was produced and incorporated with a sprayer, in the experimental area, after the application of the tanned residues. The dose of compound applied on elephantgrass was based on the nitrogen content of each residue, according to the crop requirement. The experiment was conducted in a subdivided parcels scheme, in Latin square design, with four replications. The parcels were composed by the treatments: control, excreta of pigs, cattle and litter of chicken; and, in the subplots, the EM was applied or not, obtaining a total of 32 experimental units of 10 m² each. The morphological, chemical and mineral characteristics (calcium, phosphorus, magnesium, sodium and potassium) were evaluated in the cuttings. Data were submitted to analysis of variance (ANOVA) and, when there was significance, the means of treatments were compared by the Tukey test, at the 5 % level of significance, using the SAS 9.4 program in the PROC MIXED function. Based on the results, there was no significant effect of EM, with effect ($P < 0.05$) on organic fertilization in the growth variables, which increases up to 178,2 % in relation to the control treatment. It can be concluded that the chicken litter was the residue that presented better results in the grass productivity in

relation to the others, but with lower levels of minerals, since its high production probably removed a great amount of nutrients, but not proportional to the increase of the production.

Keywords: Agroecological grass, forage, inoculants, nutrients, organic fertilizers.

1 INTRODUÇÃO

As plantas forrageiras são a principal fonte nutritiva, indispensáveis à manutenção, produção e/ou crescimento dos ruminantes. Na seleção da gramínea a ser utilizada no processo de produção, devem ser observadas as condições edafoclimáticas da região, analisando, também, o valor nutricional e a produtividade forrageira.

Dentre as gramíneas, o capim-elefante (*Pennisetum purpureum* Schum.) apresenta grande potencial de produção de biomassa. Esse capim, de origem africana, foi inicialmente utilizado como capineira, para fornecimento picado verde ou conservado, sendo também utilizado como feno, silagem e pastagem (TEIXEIRA, 2013). O capim-elefante apresenta colmos eretos e cilíndricos, crescimento cespitoso, com altura variável de 3,5 a 6,0 metros, diâmetro de até 2,5 cm, raízes grossas e rizomatosas, e com inflorescências classificadas como panículas espiciformes. As folhas deste capim atingem até 1,25 m de comprimento por 4,0 cm de largura, apresentam disposição alternada, bainha lanosa, fina e estriada, nervura central larga e de cor mais clara, e lígula ciliada e curta (PEREIRA et al., 2010).

O capim elefante é exigente em fertilidade do solo, não apresenta resistência ou tolerância a geadas e locais expostos à inundações e grandes períodos de encharcamento, entretanto, suporta bem a seca e queimadas (FARIA, 1993). Este capim desenvolve-se melhor em faixas de temperaturas que variam de 18 a 30°C, precipitações pluviométricas entre 800 e 4.000 mm, e altitudes do nível do mar de até 2.200 m (JACQUES, 1997).

Entre 2000 e 2015, o uso de fertilizantes no Brasil cresceu 87 %, entretanto, a produção de fertilizantes é inferior à demanda nacional. Com isso, a dependência em relação às importações aumenta ano após ano, e, em 2015, cerca de 65 % do consumo total de fertilizantes foi suprido por importações (CRUZ et al., 2017). Como fonte alternativa de adubação, têm-se a adubação orgânica, que auxilia na redução dos custos de produção, no incremento ou conservação do estoque de matéria orgânica e melhoria das propriedades físico-químicas do

solo, afim de garantir a qualidade do solo e a sustentabilidade dos agroecossistemas (FAVORETTO, 2007).

Cruz et al. (2017), ao analisarem no Brasil a geração média de resíduos por animais, o tamanho do rebanho nacional e a composição média de nutrientes presentes nos resíduos, calcularam que os macronutrientes primários (nitrogênio, fósforo e potássio) presentes nos resíduos da pecuária em 2015, contando-se apenas suínos, bovinos e aves de corte, totalizaram 4,2 milhões de toneladas, representando 31% do consumo anual. Em 2015, a demanda total de fertilizantes foi de 30,2 milhões de toneladas, das quais 13,7 milhões representavam o total de macronutrientes primários (IPNI, 2019). Se analisados apenas resíduos de bovinos, suínos, aves de corte e sucroalcooleiro, o potencial de economia de nutrientes chega a 1.900 mil toneladas por ano, o que representa 14 % de toda a demanda por macronutrientes de 2015. Neste ano, o mercado potencial financeiro dos resíduos disponíveis nos setores sucroalcooleiro, suinocultor e avicultor foi de, aproximadamente, US\$ 1,1 bilhão (CRUZ et al., 2017). A utilização de resíduos orgânicos, como excretas de animais, libera de forma gradativa e lenta os nutrientes no solo, aumentando a quantidade de matéria orgânica, solubilizando gradualmente micro e macrominerais (MENEZES et al., 2004).

O uso eficiente do nitrogênio pelos vegetais, como as gramíneas, para a metabolização de proteínas fundamentais para o crescimento e desenvolvimento da planta (LOPES, 1998) e o aumento na produtividade acontecem quando há equilíbrio de nutrientes no solo, favorecendo os processos de absorção pela planta (CORSI; NUSSIO, 1992). O capim elefante possui alta produtividade (QUESADA et al., 2004), sob condições ideais de crescimento, e é capaz de acumular acima de 60 Mg.ha⁻¹ de massa seca por ano (MORAIS et al., 2009). Porém, há estacionalidade da produção, em que 80% do capim elefante é produzido no período das chuvas (DERESZ, 1999). Além disso, na superfície do solo, uma pequena proporção é constituída de matéria orgânica, onde a atividade microbiana aumenta a incorporação de resíduos orgânicos no solo, aumentando a absorção de nutrientes pela planta (MAIA; CANTARUTI, 2004; ROGERI et al., 2015).

Uma forma de aumentar a inclusão de microrganismos no solo é através do uso de inoculantes, dentre os quais têm-se os Microrganismos Eficientes (EM). A metodologia proposta do EM, foi inicialmente desenvolvida pelo professor japonês Teruo Higa, com a finalidade de otimizar o uso da matéria orgânica na agricultura natural. Essa solução é composta por um conjunto de microrganismos, principalmente por bactérias e fungos (SANTOS, 2016), em que se utiliza uma fonte de carboidratos para atraí-los e depois se desenvolverem em meio

líquido enriquecido com alguma fonte de sacarose. Esse inóculo passa por processos fermentativos, sendo próprio para uso após cessar a fermentação (BONFIM et al., 2011).

O objetivo dessa pesquisa foi analisar se os resíduos sólidos de suínos, bovinos e cama de frango, associados ou não ao uso de microrganismos eficientes (EM), melhoram a produtividade, as características químico-bromatológicas e de minerais do capim elefante.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Área de estudo

O experimento foi conduzido entre fevereiro e novembro de 2018, em área experimental localizada no sítio Boa Vista, distrito de Cachoeira de Santa Cruz, em Viçosa-MG, pertencente à Universidade Federal de Viçosa (UFV). O local faz parte da região da Zona da Mata de Minas Gerais e tem como coordenadas geográficas a posição 20°45'20" de latitude Sul e 45°52'40" de longitude Oeste de Greenwich e altitude de 703 m. O clima é do tipo Cwa (mesotérmico), segundo classificação de Köppen e Geiger, com duas estações bem definidas, com verões quentes e úmidos e invernos frios e secos. A precipitação pluviométrica média anual é de 1229 mm e a temperatura média anual é de 20,6°C (CLIMATE, 2018). Os dados climáticos do município de Viçosa, MG foram computados pela Estação Climatológica Principal de Viçosa, localizada na UFV, durante o período experimental, de janeiro a julho de 2018. A temperatura média mínima e máxima mensal, durante o experimento, oscilou entre 15,6°C e 23,9°C, respectivamente, e a média dos meses foi de 20,1°C. Já a precipitação durante o experimento foi de 1364,6 mm (Figura 1).

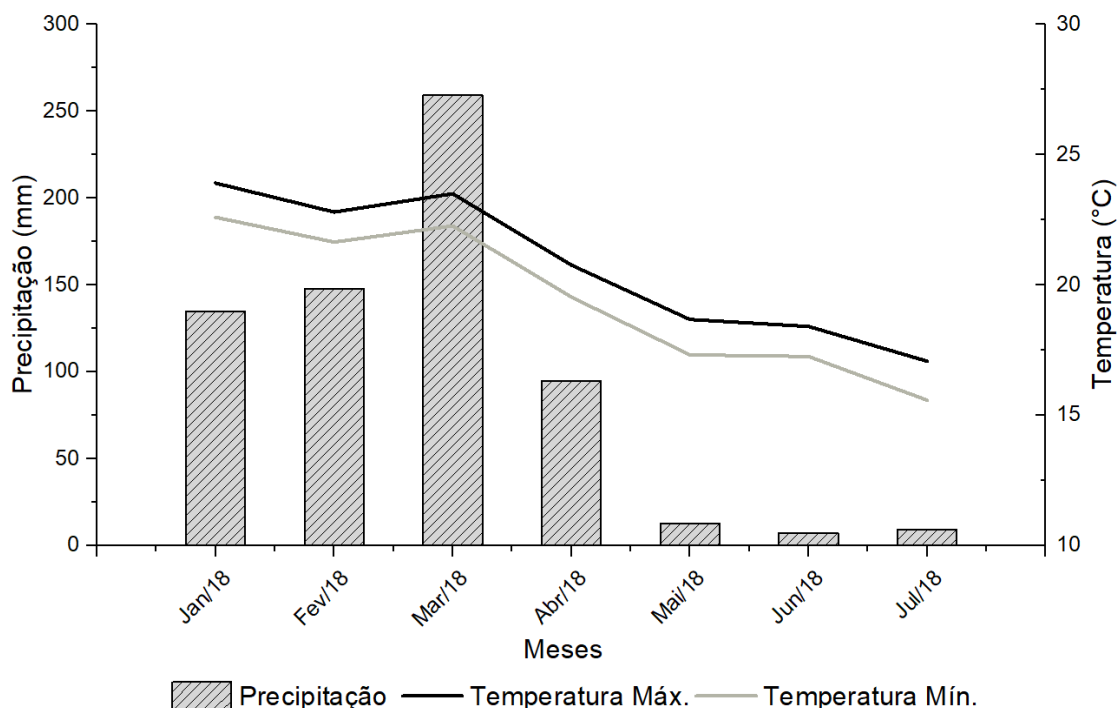


Figura 1 – Médias mensais de temperatura máxima, mínima e precipitação, registrados no município de Viçosa-MG, durante o período experimental em 2018.

O capim elefante variedade Cameroon, foi plantado em novembro de 2014, o solo foi preparado com aração e gradagem à 0,3 m da superfície, o plantio foi feito em linhas, com espaçamento de um metro entre sulcos e 30 centímetros de profundidade. As mudas foram dispostas em fileira dupla dentro dos sulcos previamente adubados com doses variáveis de 0, 4, 8 e 12 ton.ha⁻¹ de cama de aviário, no fundo do sulco (TRINDADE, 2016).

2.2 Caracterização e descrição do solo e resíduos orgânicos

No presente trabalho, com o capim elefante estabelecido, foram feitas coletas de amostras compostas de solo com o auxílio de um trado holandês, à profundidade de 0-20 cm do solo, para análise de suas características físicas e químicas, antes da instalação do novo experimento.

O solo da área experimental é classificado como Argissolo Vermelho-Amarelo, sendo satisfatório para a cultura utilizada, o capim elefante. As análises do solo são necessárias para verificar a necessidade de ajuste dos teores de nutrientes no solo e do pH, de acordo com a exigência da forrageira. As características químicas do solo antes da aplicação dos tratamentos foram apresentadas na Tabela 1.

Tabela 1 – Atributos químicos do solo da área experimental anterior à instalação do novo experimento, em Viçosa-MG, 2018

Características	Com esterco	Sem esterco
pH H ₂ O	6,43	6,29
P (mg/dm ³)	4,70	13,80
K(mg/dm ³)	30,00	34,00
Ca ²⁺ (cmol _c /dm ³)	4,81	4,49
Mg ²⁺ (cmol _c /dm ³)	2,13	2,04
Al ³⁺ (cmol _c /dm ³)	0	0
H ⁺ Al (cmol _c /dm ³)	2,40	2,90
SB (cmol _c /dm ³)	7,02	6,62
t (cmol _c /dm ³)	7,02	9,52
T (cmol _c /dm ³)	9,42	69,50
V (%)	74,50	69,50
m (%)	0	0
MO (dag/kg)	4,66	4,12
P-Rem (mg/L)	26,30	28,40

Legenda: pH (Potencial Hidrogeniônico); P (Fósforo); K (Potássio); Ca²⁺ (Cálcio); Mg²⁺ (Magnésio); Al³⁺ (Alumínio); H + Al (Acidez Trocável); SB (Soma de Bases Trocáveis); CTC (t) (Capacidade de Troca Catiônica Efetiva); CTC (T) (Capacidade de Troca Catiônica a pH 7,0); V (Índice de Saturação de Bases); m (Índice de Saturação de Alumínio); MO (Matéria Orgânica); P-rem (Fósforo remanescente).

Foram avaliados os resíduos orgânicos de cama de frango, esterco bovino e de suínos, por serem mais facilmente encontrados em Viçosa–MG nas propriedades de produtores rurais. Antes de serem aplicados, os resíduos foram curtidos, umedecidos e revirados a cada dois dias até a maturação, por 60 dias, após esse processo, foram cobertos com lona. Esse procedimento é feito afim de matar patógenos indesejáveis e evitar queimar a planta. As características de composição química dos resíduos foram avaliadas após a compostagem.

Foram feitas análises da composição química dos resíduos (Tabela 2), sendo os minerais determinados no extrato ácido (ácido nítrico com ácido perclórico), com as amostras secas em estufa a 75°C. O carbono orgânico foi determinado pelo método Walkley-Black.

Tabela 2 – Características químicas dos resíduos orgânicos avaliados após a compostagem, em Viçosa-MG, 2018

Características	Suíno	Bovino	Cama de frango
N (%)	2,96	2,71	2,59
P (%)	2,16	0,79	1,62
K (%)	0,88	2,00	3,36
Ca (%)	3,50	1,43	2,67
Mg (%)	0,78	0,55	0,61
Na (%)	0,12	0,29	0,23
S (%)	0,68	0,63	0,71
CO (%)	15,60	23,71	20,74
C/N	5,27	8,74	8,00
Zn (ppm)	3251	140	372
Fe (ppm)	20918	12016	15577
Mn (ppm)	612	1157	975
Cu (ppm)	524	41	81
B (ppm)	18,60	21,30	66,10
pH (H ₂ O)	8,03	7,02	7,03
Teor de umidade ao ar (%)	31,02	35,50	23,72
Teor de umidade em estufa a 75 °C (%)	45,34	42,68	32,68

Legenda: N (Nitrogênio); P (Fósforo); K (Potássio); Ca²⁺ (Cálcio); Mg²⁺ (Magnésio); Na (Sódio); S (Enxofre); CO (Carbono Orgânico); C/N (Relação de Carbono e Nitrogênio); Zn (Zinco); Fe (Ferro), Mn (Manganês); Cu (Cobre), B (Boro); pH (Potencial Hidrogeniônico).

Após o corte de uniformização, através do teor de nitrogênio determinado pelo método de Kjeldahl, foram feitos os cálculos da quantidade de esterco bovino, suíno e cama de frango que foram aplicados na área experimental. Foram aplicados 18 t/ha de esterco bovino, 17 t/ha de suíno e 16 t/ha de cama de frango. Para o cálculo da adubação orgânica, a fórmula utilizada foi a mesma de Carmo e Freitas (2016):

$$X = \frac{A}{\left(\frac{B}{100}\right) \times \left(\frac{C}{10}\right) \times \left(\frac{D}{100}\right)}$$

X = quantidade de fertilizante orgânico (kg/ha).

A = quantidade de nutriente N a aplicar (kg/ha).

B = teor de massa seca do fertilizante (%).

C = teor de nutriente N na massa seca.

D = índice de conversão da forma orgânica para mineral (%).

Para a preparação da solução de EM, seguiu-se a metodologia descrita por Bonfim et al. (2011). Cozinhou-se 700 gramas de arroz sem sal, armazenou-se em telhas de barro, cobriu-se com tela fina e depositou-se em mata nativa da Fazenda Boa Vista. As telhas com arroz foram cobertas com a serapilheira do local e com o solo, respectivamente. Após 15 dias, coletou-se as partes do arroz, que ficaram com as colorações amarelada, alaranjada e vermelha. Em seguida, para obter o EM, o arroz coletado foi colocado em garrafas de plástico de 2 L, com 200 mg de açúcar mascavo em pó em cada recipiente, e completou-se o restante com água da nascente da fazenda. As garrafas foram fechadas e estocadas à sombra, sendo o gás acumulado liberado, abrindo-se a tampa da garrafa, até cessar o processo fermentativo. Após essas etapas, o EM estava pronto para ser aplicado. Posterior a aplicação dos resíduos, houve pulverização da água sem ou com EM. Na primeira aplicação de EM, logo após a aplicação dos resíduos, utilizou-se a diluição 1:1000 (v:v). Quarenta e cinco dias após foi feita a segunda aplicação na diluição para 1:3 (v:v).

2.3 Delineamento experimental e distribuição dos tratamentos

O experimento foi em esquema de parcelas subdivididas no delineamento quadrado latino (DQL) 4×4 . Nas parcelas, foram casualizados os quatro tipos de adubação (testemunha, resíduos sólidos de suínos, resíduos sólidos de bovinos e resíduos sólidos de frangos (cama de frango) curtidos) e nas subparcelas foram casualizados tratamentos com ou sem EM. Foram constituídos, portanto, oito tratamentos e quatro repetições, totalizando 32 unidades experimentais de 10 m², perfazendo 320 m².

No início do experimento, fevereiro de 2018, referente ao período chuvoso, foi feito o corte de uniformização e a aplicação dos esterco seguindo o delineamento. O corte posterior foi feito após cinco meses, no período da seca, em julho de 2018. Os tratamentos foram casualizados conforme croqui mostrado na Figura 2.

C1		Estrada						
L1	1C _T	1C _{TM}	1C _{SM}	1C _S	1C _F	1C _{FM}	1C _{BM}	1C _B
	2C _B	2C _{BM}	2C _{FM}	2C _F	2C _S	2C _{SM}	2C _{TM}	2C _T
	3C _S	3C _{SM}	3C _{BM}	3C _B	3C _T	3C _{TM}	3C _{FM}	3C _F
	4C _F	4C _{FM}	4C _{TM}	4C _T	4C _B	4C _{BM}	4C _{SM}	4C _S

Legenda: C_T e C_{TM}: Capim elefante testemunha sem ou com EM; C_S e C_{SM}: Capim elefante com resíduos sólidos de suínos, sem ou com EM; C_B e C_{BM}: Capim elefante com resíduos sólidos de bovinos, sem ou com EM; C_F e C_{FM}: Capim elefante com resíduos sólidos de frangos (cama de frango), sem ou com EM. L1: Linha 1; C1: Coluna 1. Os números nas linhas, são referentes aos quatro blocos.

Figura 2 – Croqui para DQL 4 × 4, em parcelas subdivididas, sendo o tipo de adubação o fator primário e EM o secundário em experimento com capim elefante, em Viçosa-MG.

2.4 Avaliações agrônômicas, composição química e análise de minerais

Nas épocas correspondentes aos cortes, fevereiro e julho de 2018, foram feitas avaliações do desenvolvimento da parte aérea, através de medições das características agrônômicas das plantas. As características avaliadas nas plantas foram: diâmetro do caule (DC) com paquímetro universal, altura das plantas (AP) com uma trena, número de plantas (NP) por parcela por hectare, massa verde (MV) da planta inteira que foi pesada com balança portátil e massa seca (MS).

Após as análises de produtividade da planta, foram feitas as análises bromatológicas seguindo a metodologia descrita por Detmann et al. (2012). As amostras colhidas foram cortadas e submetidas à pré-secagem a 55 °C, em estufa com ventilação forçada de ar, até peso constante. Após a secagem, as amostras foram moídas em moinho tipo Willey com peneira de 1 mm e determinados os teores de massa seca (MS), massa orgânica (MS - cinzas), proteína bruta (PB) obtida pelo produto entre o teor de nitrogênio total e o fator 6,25, extrato etéreo (EE), solução mineral e fósforo (P, lido em espectrofotômetro de luz visível). Os teores de fibra em detergente neutro (FDN) e FDN corrigida para cinzas e proteína (FDNcp) foram determinados, utilizando-se o método do autoclave e cadinhos filtrantes, segundo Barbosa et al. (2015). Os carboidratos não fibrosos (CNF) foram calculados pela equação proposta por Hall et al. (1997): $CNF = 100 - (\%PB + \%EE + \%Cinzas + \%FDNcp)$. A partir da solução mineral, foram determinados pelo espectrômetro de absorção atômica os teores de cálcio (Ca), magnésio (Mg) e, no espectrômetro de absorção atômica em chamas, os teores de sódio (Na) e potássio (K).

Efetuuou-se a análise de variância (ANOVA) e, quando significativo, as médias de tratamentos foram comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5 % de significância, utilizando o procedimento PROC MIXED do programa SAS 9.4.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram coletados os dados relacionados aos componentes morfogênicos do capim-elefante em função de diferentes adubos orgânicos (cama de frango e esterco suíno e bovino) e aplicação de EM (Tabela 3).

Tabela 3 – Características de crescimento de capim elefante aos 150 dias de rebrota em função de adubação orgânica e aplicação de microrganismos eficientes (EM) em Viçosa-MG, 2018

Variável	Adubação orgânica				EPM	P valor da ANOVA		
	Cama de frango	Esterco bovino	Esterco suíno	Controle		Adub	EM	Adub×EM
AP (cm)	253a	231a	226ab	197b	0,084	0,018	0,438	0,207
DC (mm)	15,8a	14,9ab	13,8ab	13,0b	0,544	0,040	0,965	0,075
NP (x1000/ha)	197,5	185	160	140	17,29	0,188	0,861	0,394
MV (t/ha)	63,7a	54,1a	39,1ab	22,9b	5,14	0,006	0,758	0,576
MS (t/ha)	16,7a	14,7a	11,3ab	6,46b	1,32	0,007	0,859	0,481

Legenda: AP (altura da planta); DC (diâmetro de colmo); NP (número de plantas); MV (massa verde); MS (massa seca); EPM (erro padrão da média); Adub (adubação orgânica); EM (microrganismos eficientes). Médias com pelo menos uma mesma letra minúscula desigual (nas linhas) diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade.

Não houve interação entre adubação orgânica e a aplicação de EM e nem da aplicação do EM ($P > 0,05$) sobre as variáveis AP, DC, MV e MS. Houve efeito de adubação sobre estas variáveis ($P < 0,05$), não ocorrendo efeito de adubação apenas para o número de plantas por hectare ($P = 0,188$). A adubação do capim elefante com a cama de frango apresentou melhores resultados em quase todas as variáveis avaliadas, em relação aos outros resíduos. Dentre os resíduos animais utilizados, o esterco suíno foi o menos eficiente, em relação às médias estimadas de produtividade avaliadas, embora não diferindo estatisticamente dos demais resíduos orgânicos (Tabela 3).

Não se evidenciou o efeito do EM nas variáveis produtivas, bromatológicas e minerais do capim cultivado em solo com resíduos de suínos, bovinos e cama de frango. Os esterco podem conter os nutrientes necessários para a planta, nas condições e dosagens adotadas no trabalho. Van Vliet et al. (2006) encontraram resultados semelhantes, no qual a aplicação de EM no esterco não afetou a produção de biomassa em *Lolium Perenne*.

Nota-se, através das médias estimadas, que houve um incremento em todas as variáveis de crescimento em relação ao tratamento controle, com destaque para a produção de massa verde (MV) e de massa seca (MS), que aumentaram 178,2 % e 158,5 %, respectivamente, quase triplicando a produtividade de áreas não adubadas. Na avaliação da produção de massa seca dos cultivares de capim-elefante Napier e Cameroon, Lima et al. (2007) encontraram valores entre 7,30 e 14,50 t MS/ha para o capim colhido aos 56 dias de crescimento. No presente trabalho, o capim foi colhido em torno de 150 dias após o corte de uniformização e aplicação dos tratamentos e apresentou a produção de massa seca superior ao valor máximo encontrado por Lima et al. (2007), para o esterco de bovinos e cama de frango. Além disso, a estação do ano e a pluviosidade influenciam diretamente na produtividade do capim. Durante o presente estudo, a precipitação foi de 1364,6 mm, acima da média anual para a região, de 1299 mm (UFV, 2018), sendo um dos fatores que podem justificar a boa produtividade do capim elefante e que poderia ser maior com o corte no verão chuvoso.

Foram analisadas a composição química e bromatológica do capim-elefante em função de diferentes adubos orgânicos (cama de frango e esterco suíno e bovino) e a aplicação de microrganismos eficientes (Tabela 4).

Tabela 4 – Composição químico-bromatológica (% da MS) de capim elefante aos 150 dias de rebrota em função de adubação orgânica e aplicação de microrganismos eficientes (EM) em Viçosa-MG, 2018

% de MS	Adubação orgânica				EPM	P valor da ANOVA		
	Cama de frango	Esterco bovino	Esterco suíno	Controle		Adub	EM	Adub×E M
PB	4,16	3,32	3,68	4,21	0,324	0,268	0,686	0,779
EE	1,66	1,55	1,68	1,42	0,170	0,710	0,723	0,879
FDNcp	78,0a	78,0a	77,7a	75,4a	0,533	0,039	0,624	0,448
CNF	7,55	9,19	9,25	8,96	0,519	0,167	0,660	0,680
Cinzas	7,04	6,19	6,12	6,75	0,251	0,109	0,811	0,975
Ca	0,233	0,213	0,226	0,236	0,0146	0,707	0,808	0,516
P	0,136c	0,142bc	0,168ab	0,188a	0,005	0,002	0,346	0,508
Mg	0,269c	0,401b	0,421b	0,551a	0,026	0,002	0,050	0,138
K	1,075a	0,478b	0,329b	0,207b	0,056	0,0001	0,124	0,849
Na	ND	ND	ND	ND	-	-	-	-

Legenda: PB (Proteína Bruta); EE (Extrato Etéreo); FDNcp (Fibra em Detergente Neutro com correção de cinzas e proteína); CNF (Carboidratos não fibrosos); Ca (Cálcio); P (Fósforo); Mg (Magnésio); K (Potássio); Na (Sódio); ND (não detectado). EPM (Erro Padrão da Média); Adub (adubação orgânica); EM (Microrganismos Eficientes). Médias com pelo menos uma mesma letra minúscula desigual (nas linhas) diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade.

Para as características de composição químico-bromatológica do capim elefante a interação entre os fatores foi não significativa ($P > 0,05$). Não houve efeito significativo de adubação e EM, exceto efeito de adubação orgânica sobre o FDNcp, mas não evidenciado no teste de média. Houve efeito significativo ($P < 0,05$) de adubação orgânica para os minerais P, Mg e K. O teor médio de P foi maior no controle e no esterco suíno, e menor na cama de frango e bovino. A concentração média de Mg foi maior também no controle, seguido dos esterco suíno e bovino, que não diferiram entre si, e menor concentração na cama de frango. O potássio se apresentou em maior teor médio na cama de frango, sendo que os demais tratamentos não diferiram entre si (Tabela 4).

Os resultados obtidos nessa pesquisa com EM, sem efeito significativo, mostram-se contrários aos obtidos por Santos (2016), que encontrou o teor de PB de até 15,39 % no capim-marandu adubado com esterco bovino e EM, acima do esperado para a cultura que varia de 8,1 a 12,5 % de PB. Teores elevados de nitrogênio em algodão (Khaliq et al., 2006), em trigo (Hu e Qi 2013) e girassol (Sharif et al., 2015) foram encontrados quando EM e matéria orgânica foram combinados, sendo que no último também foi adicionado o fosfato de rocha.

Em relação aos minerais, há contribuição tanto de nitrogênio, quanto de outros nutrientes, dentre eles o fósforo e potássio, responsivos também para a produção da forrageira. De acordo com Carvalho et al. (1997), forrageiras, como o *Pennisetum purpureum* Schum. (Capim elefante), possuem alto potencial de produtividade, porém elevada taxa de remoção de nutrientes. Esse fator pode justificar a redução de minerais no capim elefante (Tabela 4), proporcionalmente ao aumento produtividade (Tabela 3), podendo ser comparado com os valores dos minerais nos resíduos antes da aplicação (Tabela 2). Há grande remoção de potássio por plantas que não recebem adubação potássica, que podem produzir cerca de 30 % da produção máxima em relação as plantas com melhor quantidade de potássio. Além disso, nutrientes como Ca e Mg também são extraídos pelo capim e, conseqüentemente, do solo, influenciando na qualidade da forragem (ARRUDA, 2014).

A cama de frango contém alta concentração de nutrientes, pois as aves aproveitam pouco as rações, consumindo de 40 a 60 %, eliminando o restante via excreção (KONZEN, 2003). Além disso, o nitrogênio fica disponível na cama de frango, no primeiro ano em 50 %, no segundo ano em 20 % e nos próximos anos em 30 % (MALAVOLTA, 1981; KIEHL, 1985; RIBEIRO et al., 1999), o que pode justificar resultados mais positivos de produtividade com o uso da cama de frango.

A composição química da gramínea pode sofrer alterações no valor nutritivo, principalmente dos teores de carboidratos estruturais e lignina, em função da época do ano, idade, época de corte em relação a maturidade da planta, da parte a ser cortada (colmo ou lâmina), relação colmo/folha e da fertilidade do solo que pode ser manipulada por intermédio de adubação (CÓSER e PEREIRA, 2001; TEIXEIRA, 2013; TRINDADE, 2016). Diversas pesquisas observaram que há aumento na produção de MS do capim elefante e declínio nos teores de PB, com aumento do intervalo dos cortes (MENDONÇA et al., 1983; GONÇALVES e COSTA, 1987; TEIXEIRA PRIMO e RODRIGUES, 1991; COSTA e OLIVEIRA, 1993; SANTANA et al., 1994; COSTA et al., 1995; MACHADO et al., 2008; MARTINS-COSTA et al., 2008).

Dessa forma, conforme avança a idade de corte, reduz os teores de PB e aumenta o percentual de frações pouco digeríveis como FDN. O capim da área experimental sofreu diversos cortes e foi plantado no final de 2014, sendo que o corte analisado na pesquisa foi feito no período do inverno e após cinco meses do corte anterior, fatores estes que podem justificar a redução na qualidade da forragem, embora tenha tido uma boa produtividade. A FDN acima

de 60 % impacta de forma negativa o consumo pelos animais e, para não ocorrer a diminuição na ingestão animal involuntária, o nível mínimo ideal na forragem é de 7 % de proteína bruta (Van Soest, 1994). Elevados valores de FDN, como os encontrados nesta pesquisa, aumentam as frações menos digeríveis pelos animais, como celulose, hemicelulose e lignina.

Estudos complementares devem ser conduzidos a respeito do EM. A literatura sobre os mecanismos de ação deste produto e sua utilização é escassa, principalmente em gramíneas. Dessa forma, em forrageiras, sugere-se avaliar a aplicação do EM em outras espécies, com diferentes dosagens e/ou diluições de EM, avaliar o efeito de cortes por mais tempo, testar diferentes tipos de resíduos orgânicos, aumentar a frequência de adubação e realizar pré-teste de degradação da matéria orgânica, complementando com análises de composição química e de minerais.

4 CONCLUSÕES

Não há efeito do EM sobre a produtividade, composição químico-bromatológica e de minerais do capim elefante e nem interação da adubação com o EM.

A adubação orgânica aumenta a produtividade, sendo que o resíduo animal que apresenta melhores características morfogênicas do capim elefante e de produtividade sobre o capim elefante é a cama de frango, seguida de esterco bovino e por último esterco de suínos.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ARRUDA, G. M. M. F.; FACTORI, M. A.; COSTA, C.; MEIRELLES, P. R. L.; SILVA, M. G. B.; LIMA, V. L. F.; HADLICH, J. C.; SILVA, M. P. Produtividade e composição proteica do capim-elefante recebendo adubação orgânica e mineral. **Revista Acadêmica de Ciências Agrárias e Ambientais**. Curitiba, Paraná, Brasil. v.12, n.1, p. 61-69, 2014.
- BARBOSA, M.M.; DETMANN, E.; ROCHA, G.C.; FRANCO, M.O.; VALADARES FILHO, S.C. Evaluation of laboratory procedures to quantify the neutral detergent fiber content in forage, concentrate, and ruminant feces. **Journal of AOAC International**. [s.l.]. v.98, n.4, p.883-889, 2015.
- BENEDETTI, E.; COLMANETTI, A.L.; DEMETRIO, R.A. Produção e composição bromatológica do capim *Panicum maximum* Jacq. cv. Tanzânia irrigado em solo de cerrado. [s.l.]. **Veterinária Notícias**, v.27, n.2, p.123-128, 2001.
- BONFIM, F.P.G.; HONÓRIO, I.C.G.; REIS, I.L.; PEREIRA, A.J.; SOUZA, D.B. **Caderno dos microrganismos eficientes (EM): instruções práticas sobre uso ecológico e social do EM**. Viçosa: Departamento de Fitotecnia - UFV, 2011.
- CARMO, D.L.; FREITAS, G.B. Adubação orgânica na agricultura. In: SIMPÓSIO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGROECOLOGIA (AGROECOLOGIA: ESTRATÉGIAS E PERSPECTIVAS), Viçosa. **Anais...** Viçosa, 2016, p.130-167.
- CARVALHO, M. M.; MARTINS, C. E.; VERNEQUE, R. S.; SIQUEIRA, C. Resposta de uma espécie de braquiária à fertilização com nitrogênio e potássio em um solo ácido. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**. Campinas, v. 15, p. 195-200, 1997.
- CLIMATE. **Clima Viçosa**. Disponível em: <<https://pt.climate-data.org/location/25021/>>, Acesso em: 23 set. 2018.
- CORSI, M; NUSSIO, L.G. Manejo do capim elefante: correção e adubação do solo. In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO DA PASTAGEM 1992, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: Fundação de Estudos Agrários Luiz de Queiroz (FEALQ), 1992.p. 87-116.
- CÓSER, A.C.; PEREIRA, A.V. **Forrageiras para corte e pastejo**. Circular Técnica 66. Juiz de Fora. Embrapa Gado de Leite, 2001. 37 p.
- COSTA, N. L.; MAGALHÃES, J. A.; PEREIRA, R. G. A. Efeito de regimes de cortes sobre a produção de forragem e composição química do capim-elefante (*Pennisetum purpureum* Schum). In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 32., 1995, Brasília. **Anais...** Brasília: SBZ, 1995. p.40-42.
- COSTA, R.O.; OLIVEIRA, M.E. Avaliação do capim-elefante submetido a três épocas de corte. In: REUNIÃO DE PESQUISAS DO CCA, 3. 1993, Teresina. **Anais...** Teresina: CCA/UFPI, 1993. p.295-303.

CRUZ, A. C.; PEREIRA, F.S.; FIGUEIREDO, V.S. **Fertilizantes organominerais de resíduos do agronegócio: avaliação do potencial econômico brasileiro**. Indústria química-BNDES Setorial, [s.l.], v.45, p. 137-187, 2017.

DERESZ, F. **Utilização de capim-elefante sob pastejo rotativo para produção de leite e carne**. Circular Técnica, 54. Juiz de Fora: Embrapa, 1999. 29 p.

DETMANN, E.; SOUZA, M.A.; VALADARES FILHO, S.C.; QUEIROZ, A.C.; BERCHIELLI, T.T.; SALIBA, E.O.S.; ET AL. **Métodos para Análise de Alimentos - INCT - Ciência Animal**. Visconde do Rio Branco, MG, Brasil. Suprema, 2012. 214p.

FARIA, V.P. Evolução no uso do Capim-elefante; uma visão histórica. In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO DE PASTAGEM, 10, 1993, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: FEALQ, 1993. p. 19-45.

FAVORETTO, C. M. **Caracterização da matéria orgânica humificada de um Latossolo Vermelho Distrófico através da espectroscopia de fluorescência induzida por laser**. 2007. 96f. Dissertação (Mestrado em Química Aplicada) - Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa, PR, 2007.

GONÇALVES, C.A.; COSTA, N.L. Curva de crescimento e valor nutritivo do capimelefante cv. cameroon em Rondônia. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 1987, Goiânia. **Anais...** Goiânia: SBZ, 1987. p.188.

HALL, M.B.; LEWIS, B.A.; VAN SOEST, P.J.; LARRY E CHASE. A simple method for estimation of neutral detergent-soluble fiber. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, [s.l.], v.74, n.4, p.441-449, 1997.

HU C, QI Y. Long-term effective microorganisms application promote growth and increase yields and nutrition of wheat in China. **European Journal of Agronomy**, [s.l.], v.46, p.63-67, 2013.

IPNI – INTERNATIONAL PLANT NUTRITION INSTITUTE. Fertilizantes. 2019. Disponível em: <<http://brasil.ipni.net/article/BRS-3132>>. Acesso em: 30 jan. 2019.

JACQUES, A.V.A. **Caracteres morfofisiológicos e suas implicações no manejo**. In: CARVALHO, M.M., ALVIN, M.J., XAVIER, D.F., CARVALHO, L.A. (Eds.) Capim-elefante: produção e utilização. 2. ed. Brasília: EMBRAPA – CNPGL, p.31-46, 1997.

KHALIQ, A; ABBASI, M. K.; HUSSAIN, T. Effects of integrated use of organic and inorganic nutrient sources with effective microorganisms (EM) on seed cotton yield in Pakistan. **Bioresource Technology**, [s.l.], v. 97: p. 967-972, 2006.

KIEHL, E. J. **Fertilizantes orgânicos**. São Paulo: Agronômica Ceres, 1985.

KONZEN E. A. Fertilização de lavoura e pastagem com dejetos de suínos e cama de aves. In: V SEMINÁRIO TÉCNICO DA CULTURA DE MILHO. Videira. **Anais...** Videira. 2003.

LIMA, E. S.; SILVA, J. F. C.; VAZQUEZ, H. M. Produção de matéria seca e proteína bruta e relação filha/colmo de genótipos de capim-elefante aos 56 dias de rebrota. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 36, n.5, p. 1518-1523, 2007.

LOPES, A. S. **Manual internacional de fertilidade do solo**. Tradução e adaptação de Alfredo Scheid Lopes. 2 ed., revisada e ampliada Piracicaba: Potafos, 177p., 1998.

MACHADO, P. A. S.; VALADARES FILHO, S.C.; VALADARES, R.F.D.; DETMANN, E.; PAIXÃO, M.L.; PINA, D.S. Avaliação nutricional do capim-elefante (Cameroon) em diferentes idades de rebrotação. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.37, n.6, p.1121-1128, 2008.

MAIA, C. E.; CANTARUTTI, R. B. Acumulação de nitrogênio e carbono no solo pela adubação orgânica e mineral contínua na cultura do milho. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 8, n. 1, p. 39-44, 2004.

MALAVOLTA, E. **Manual de química agrícola: adubos e adubação**. São Paulo: Agronômica Ceres, 1981.

MARTINS-COSTA, R. H. A; CABRAL, L.S; BHERING, M; ABREU, J.G.; ZERVOUDAKIS, J.T; RODRIGUES, R.C; OLIVEIRA, Í.S. Valor nutritivo do capim-elefante obtido em diferentes idades de corte. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, Bahia, v.9, n.3, p. 397-406, 2008.

MENDONÇA, J. F. B.; ROCHA, G.P.; OLIVEIRA, J.P.; TIESENHAUSEN, I. M. E. V. V. Composição química e rendimento do capim-elefante (*Pennisetum purpureum* Schum.) cv. Cameroon. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 20., 1983, Pelotas. **Anais...** Pelotas: SBZ, 1983. p.318.

MENEZES, J. F. S.; ALVARENGA, R. C.; SILVA, G.P.; KONZEN, E.A.; PIMENTA, F.F. **Cama de frango na agricultura: perspectivas e viabilidade técnica e econômica**. Boletim Técnico 3. Rio Verde: FESURV, 2004. 28 p.

MORAIS, R.F.; SOUZA, B.J.; LEITE, J.M.; SOARES, L.H.B.; ALVES, B.J.R.; BODDEY, R.M.; URQUIAGA, S. Elephant grass genotypes for bioenergy production by direct biomass combustion. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 44, p. 133-140, 2009.

PINHEIRO, V.D. **Viabilidade econômica da irrigação de pastagem de capim Tanzânia em diferentes regiões do Brasil**. 2002. 85p. Dissertação (Mestrado em Irrigação e Drenagem) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz". Piracicaba, SP, 2002.

PEREIRA, A. V.; AUAD, A.M.; LÉDO, F.J.S.; BARBOSA, S. *Pennisetum Purpureum*. In: FONSECA, D.M. & MARTUSCELLO, J.A. **Plantas Forrageiras**. Viçosa: UFV, 2010. cap. 6, p. 197-219.

QUESADA, D.M.; BODDEY, R.M.; REIS, V.M.; URQUIAGA, S. **Parâmetros qualitativos de genótipos de capim-elefante (*Pennisetum purpureum* Schum.) estudados para a produção de energia através da biomassa**. Seropédica: Embrapa, 2004. 4 p. Circular Técnica, 8.

RIBEIRO, A. C.; GUIMARÃES, P. T. G.; ALVAREZ, V. V. H. **Recomendações para uso de corretivos e fertilizantes no estado de Minas Gerais**. Comissão de fertilidade do solo de Minas Gerais, Viçosa, 1999. 359 p.

ROGERI, D.; ERNANI, P. R.; LOURENCO, K. S.; CASSOL, P. C.; GATIBONI, L. C. Mineralization and nitrification of nitrogen from poultry litter applied to soil. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v.19, n.6, p. 1415-4366, 2015.

SANTANA, J. R.; PEREIRA, J. M.; RUIZ, M. A. M. Avaliação de cultivares de capim elefante (*Pennisetum purpureum* Schum.) no Sudoeste da Bahia. II. Agrossistema Itapetinga. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 23, n. 4, p. 507-517, 1994.

SANTOS, L.F. **Micro-organismos eficientes: Diversidade microbiana e efeito na germinação, crescimento e composição química de capim-marandu**. 2016. 58p. Dissertação (Mestrado em Agroecologia) – Universidade Federal de Viçosa. Viçosa - MG, 2016.

SHARIF M.; KHAN, M.; KHAN, M.A.; WAHID, F.; MARWAT, K.B.; KHATTAK A.M., NASEER, M. Effect of rock phosphate and farmyard manure applied with effective microorganisms on the yield and nutrient uptake of wheat and sunflower crops. **Pakistan Journal of Botany**. v.47: 219-226, 2015.

STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM – SAS Institute Inc. SAS 9.4. **SAS: user's guide**. Cary, NC, USA, 2018.

TEIXERA, ALEX DE MATOS. **Valor nutricional do capim-elefante verde em diferentes idades de corte**. 2013. 102p. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2013.

TEIXEIRA P. A.; RODRIGUES, R.C. Avaliação de germoplasma de capim elefante e/ou híbridos de capim elefante/milheto sob diferentes frequências de corte, em terras baixas. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECHNIA, 28., 1991, João Pessoa. **Anais...** João Pessoa: SBZ, 1991. p.74.

TRINDADE, P.C. **Capim-elefante com adubação orgânica para uso como silagem**. 2016. 39p. Dissertação (Mestrado em Agroecologia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2016.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA. **Estação Climatológica Principal de Viçosa: Boletim meteorológico 2018**. Departamento de Engenharia Agrícola. Viçosa, 2018.

VAN SOEST, P. J. **Nutritional ecology of the ruminant**. Ithaca: Cornell University, 1994.

VAN VLIET P. C. J.; BLOEM J.; GOEDE R. G. M. Microbial diversity, nitrogen loss and grass production after addition of Effective Micro-organisms¹ (EM) to slurry manure. **Applied Soil Ecology**, v. 32, p.188-198, 2006.

CAPÍTULO II

DIVERSIDADE MICROBIANA DE SOLO CULTIVADO COM CAPIM ELEFANTE INOCULADO COM MICRORGANISMOS EFICIENTES E COM ADUBAÇÃO ORGÂNICA

RESUMO - Com a revolução verde, aumentou-se a degradação dos recursos naturais. Uma alternativa para reduzir impactos em pastagens, é com o uso de plantas perenes, como o capim elefante, gramínea de alta produtividade, que necessita de adubação. A adubação orgânica surge como uma alternativa sustentável, acessível para o produtor rural e o uso de inoculantes como EM (Microrganismos eficientes) auxiliam na decomposição da matéria orgânica, disponibilizando mais facilmente os nutrientes necessários para a planta e para o solo. Dentro desse contexto, o objetivo dessa pesquisa foi verificar se os resíduos orgânicos e o EM afetam o perfil da comunidade microbiana do solo. A área experimental com capim elefante está localizada na fazenda Boa vista, pertencente a UFV, no distrito Cachoeira de Santa Cruz, em Viçosa-MG. As parcelas receberam esterco bovino, suíno, cama de frango e testemunha, as quais foram subdivididas em aplicações com ou sem EM, no delineamento quadrado latino (DQL). Foram oito tratamentos e quatro repetições, totalizando 32 unidades experimentais de 10 m², perfazendo 320 m². Ao final do experimento, foram coletadas com trado holandês, à profundidade de 0-20 cm, amostras compostas de solo em cada subparcela. Parte dessas amostras foram coletadas para análises das características químicas do solo e outra parte foi acondicionada em freezer a -20°C. Extraíu-se e quantificou-se os esporos de FMA (Fungos micorrízicos arbusculares) das amostras pela técnica de peneiramento úmido, bem como foram avaliadas as amostras de solo em nível molecular pela técnica PCR-DGGE. Os resultados indicaram haver homogeneidade entre os grupos formados tanto para bactérias quanto para FMA, independente do resíduo aplicado e da subparcela ter recebido ou não EM. Houve maior similaridade (84 %) entre os FMA, com predominância de separação de grupos que receberam ou não EM. Houve baixa similaridade entre comunidades de bactérias, com 25 % de similaridade entre dois grupos bem homogêneos quanto aos tratamentos aplicados. Foram feitas análises estatísticas utilizando o SAS 9.4, na função PROC MIXED, para a quantificação de abundância total de esporos, índices de diversidade de FMA e bactérias. As variáveis que tiveram efeito significativo ($P < 0,05$) foram comparadas pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade. Não houve efeito significativo para abundância de esporos de FMA. Houve efeito significativo com a aplicação de EM para dominância nas comunidades de FMA, porém

reduziu-se os demais índices de diversidade. Os resíduos orgânicos não afetaram o perfil da comunidade microbiana e o EM afetou comunidade de FMA do solo com capim elefante plantado.

Palavras-chave: DGGE, esporos, índices de diversidade, PCR, perfil microbiano.

MICROBIAL DIVERSITY OF SOIL CULTIVATED WITH ELEPHANT GRASS INOCULATED WITH EFFECTIVE MICROORGANISMS AND WITH ORGANIC FERTILIZATION

ABSTRACT - With the green revolution, the degradation of natural resources has increased. An alternative to reduce impacts on pastures, is to use perennial plants, such as elephant grass, a high productivity grass, which requires fertilization. Organic fertilization emerges as a sustainable alternative, accessible to the rural producer and the use of inoculants such as EM (effective microorganisms) helps in the decomposition of organic matter, making available the nutrients needed for the plant and the soil more easily. Within this context, the objective of this research was to verify if the organic residues and the EM affect the profile of the microbial community of the soil. The experimental area of elephant grass is located on Boa Vista farm, belonging to UFV, in Cachoeira de Santa Cruz, a district of Viçosa-MG. The parcels received bovine manure, swine, chicken litter, and control, which were subdivided into applications with or without EM, in the Latin square design. There were eight treatments and four replications, totalizing 32 experimental units of 10 m², in 320 m². At the end of the experiment, samples composed of soil in each subparcel were collected with a depth of 0-20 cm. Part of these samples were collected for analysis of soil chemical characteristics and another part was stored in a freezer at -20 ° C. The spores of AMF (arbuscular mycorrhizal fungi) in the samples were extracted and quantified by the wet sieving technique, as well as the soil samples were evaluated at the molecular level by the PCR-DGGE technique. The results indicated that there was homogeneity between the groups formed for both bacteria and AMF, regardless of the residue applied and the sub parcel having received or not EM. There was greater similarity (84 %) among AMF, with a predominance of separation of groups that received or not EM. There was a low similarity between bacterial communities, with 25 % similarity between two groups, well homogeneous regarding the applied treatments. Statistical analyzes were performed using SAS

9.4, in the PROC MIXED function, for the quantification of total spore abundance, diversity indexes of AMF and bacteria. The variables that had a significant effect ($P < 0.05$) was compared by the Tukey test at 5 % of probability. There was a significant effect with the application of EM for dominance in AMF communities, but the other diversity indexes were reduced. The organic residues did not affect the profile of the microbial community and the EM affected the AMF community of the soil with elephant grass planted.

Keywords: Diversity indexes, DGGE, microbial profile, PCR, Spores.

1 INTRODUÇÃO

A Revolução verde surgiu no século XX, permitindo a construção de um modelo denominado de agricultura convencional, que priorizou o uso de agrotóxicos, cultivares de alto rendimento em monocultivo, fertilizantes sintéticos, degradação dos recursos naturais e simplificação dos agroecossistemas (DALGAARD et al., 2003). Neste contexto, para aprimorar a fertilidade do solo é necessário usar a diversidade adequada de espécies de plantas e usar plantas perenes para manter a fertilidade do solo, proteger contra a erosão e desgaste dos recursos naturais (ALTIERI, 2004).

O capim elefante (*Pennisetum purpureum* Schum.) é uma espécie perene com hábito de crescimento cespitoso, com inflorescências classificadas como panículas e com caules do tipo colmo, eretos, cilíndricos e cheios (ALCÂNTARA et al., 1980). As plantas apresentam de 3,5 cm a 6,0 m de altura, com folhas distribuídas nos colmos de forma alternada em até 1,25 m de comprimento por 4,0 cm de largura, e com raízes grossas e rizomatosas (PEREIRA et al., 2010). O capim-elefante extrai grandes quantidades de nutrientes do solo, sendo insignificante a reciclagem de nutrientes no sistema de capineira, uma vez que toda a forragem produzida é retirada do local (PEREIRA et al., 2016).

Em busca de manter os nutrientes do solo e devido ao elevado valor dos adubos minerais, com esgotamento de reservas finitas de minerais utilizados na fertilização, faz-se necessário que o produtor rural busque fontes alternativas de adubação, como os adubos orgânicos (LANA, 2009; SOUTO et al., 2005). Dentre as alternativas de adubos orgânicos mais acessíveis ao agricultor, tem-se os esterco bovinos, suínos e cama de frango. Esses adubos

proporcionam ao agroecossistemas ganhos compensatórios em qualidade do solo e produtividade, quando se compara com os adubos sintéticos (CAPORAL e COSTABEBER, 2000).

Como forma de melhorar o manejo de nutrientes, é importante o aumento no uso do potencial biológico (CARDOSO e KUYPER, 2006). Os tipos de culturas microbianas e inoculantes disponíveis no mercado vem aumentando com as novas tecnologias, sendo utilizados para superar problemas associados ao uso de fertilizantes químicos e agrotóxicos, aumentando, assim, o interesse de sua aplicação na agricultura (SINGH, 2011). Um inóculo de culturas mistas que tem sido utilizado como tecnologia social para estimular a microbiota do solo de matas, são os microrganismos eficientes (EM), conceito desenvolvido pelo Professor Teuro Higa, da Universidade de Ryukyus, no Japão, que relatou na década 70 que uma combinação de aproximadamente 80 microrganismos diferentes capazes de influenciar positivamente a matéria orgânica em decomposição, de modo que ela se reverta em um processo de promoção da vida (NAMSIVAYAM et al., 2011).

Entre os microrganismos benéficos que podem efetivamente integrar o equilíbrio microbiológico solo-planta, incluem bactérias do ácido láctico, bactérias fotossintéticas, fungos filamentosos (ou actinomicetos), leveduras e fungos micorrízicos (HIGA, 1995). A interação do ecossistema solo-planta com EM promove fornecimento de nutrientes através da decomposição de substratos orgânicos, equilíbrio da microbiota do solo, crescimento vegetal e redução de patógenos (HIGA e WIDIDANA, 2011).

Uma forma de avaliar o efeito da solução de EM com os esterco e a microbiota do solo é através de análises de DNA, como a técnica PCR-DGGE, utilizada para esse trabalho. Uma combinação de análises microbiológicas e moleculares tem sido aplicada para caracterizar e quantificar os principais grupos microbianos presentes na solução de EM (lactobacilos, leveduras e bactérias aeróbias) (VAN VLIET et al. 2006). Análises de reação em cadeia da polimerase (PCR) e a eletroforese em gel com gradiente desnaturante (DGGE) também têm sido realizadas para investigar diferenças no perfil microbiano em estudos com microrganismos eficientes (VAN VLIET et al. 2006; GAGGIÀ et al. 2013).

Apesar da utilização dos EMs em diversas áreas, incluindo agricultura e pecuária, ainda não é claro o respectivo perfil microbiano do solo e é pouco conhecido o efeito da aplicação do EM nas gramíneas tropicais (SANTOS, 2016). Diante deste contexto, objetivou-se verificar se

os resíduos orgânicos e o EM afetam o perfil da comunidade microbiana do solo cultivado com capim elefante.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Local do experimento e histórico da área

O experimento foi realizado no sítio Boa Vista, localizado no distrito de Cachoeira de Santa Cruz, em Viçosa-MG, na região da Zona da Mata, pertencente à Universidade Federal de Viçosa (UFV). O clima é do tipo Cwa (mesotérmico), segundo classificação de Köppen e Geiger, altitude de 703 m, a precipitação pluviométrica média anual é de 1229 mm e a temperatura média anual é de 20,6°C (CLIMATE, 2018).

No plantio de capim elefante variedade Cameroon, o solo foi preparado com aração e gradagem à 0,3 m da superfície. A área delineada em quadrado latino recebeu doses variáveis de cama de frango em 0, 4, 8 e 12 ton/ha⁻¹, no fundo do sulco, que foram avaliados em experimento anterior. O plantio foi feito em novembro de 2014, com espaçamento de um metro entre sulcos e 30 centímetros de profundidade, em linhas, sendo as mudas dispostas em fileira dupla (TRINDADE, 2016).

2.2 Arranjo experimental e distribuição dos tratamentos

A área experimental compreende local com capim elefante pré-estabelecido, em que as parcelas foram subdivididas no delineamento quadrado latino (DQL). Foram oito tratamentos e quatro repetições, constituindo 32 unidades experimentais de 10 m², perfazendo 320 m² (Figura 1)

C1		-----Estrada-----						
L1	1C _T	1C _{TM}	1C _{SM}	1C _S	1C _F	1C _{FM}	1C _{BM}	1C _B
	2C _B	2C _{BM}	2C _{FM}	2C _F	2C _S	2C _{SM}	2C _{TM}	2C _T
	3C _S	3C _{SM}	3C _{BM}	3C _B	3C _T	3C _{TM}	3C _{FM}	3C _F
	4C _F	4C _{FM}	4C _{TM}	4C _T	4C _B	4C _{BM}	4C _{SM}	4C _S

Legenda: C_T e C_{TM}: Capim elefante testemunha sem ou com EM; C_S e C_{SM}: Capim elefante com resíduos sólidos de suínos, sem ou com EM; C_B e C_{BM}: Capim elefante com resíduos sólidos de bovinos, sem ou com EM; C_F e C_{FM}: Capim elefante com resíduos sólidos de frangos (cama de frango), sem ou com EM. L1: Linha 1; C1: Coluna 1. Os números nas linhas, são referentes aos quatro blocos.

Figura 1 – Croqui para DQL 4 × 4, em parcelas subdivididas, sendo o tipo de adubação o fator primário e EM o secundário em experimento com capim elefante, em Viçosa-MG.

Inicialmente, foram feitas coletas de amostras compostas de solo com o auxílio de um trado holandês, à profundidade de 0-20 cm do solo, para análise de suas características físicas e químicas, antes da instalação do novo experimento. O solo da área experimental foi classificado como Argissolo Vermelho-Amarelo.

Nas parcelas, em fevereiro de 2018, foram casualizados os seguintes tratamentos: a) testemunha; b) esterco de suínos, c) esterco de bovinos e d) cama de frango. Antes de serem aplicados, os estercos foram curtidos, umedecidos e revirados a cada dois dias até a temperatura de maturação, posteriormente foram cobertos com lona. As análises de solo foram determinadas de acordo com EMBRAPA (2011), através do extrato ácido (ácido nítrico com ácido perclórico), sendo as amostras secas em estufa a 75°C. O método Walkley-Black foi utilizado para determinação do carbono orgânico. Pelo método de Kjeldahl, foi determinado o teor de nitrogênio, através desses valores em cada resíduo, foram feitos os cálculos da quantidade de esterco bovino, suíno e cama de frango que foram aplicados na área experimental. As características de composição química dos estercos foram avaliadas após a compostagem (Tabela 1).

Tabela 1 – Características químicas dos esterco utilizados como adubo no cultivo de capim elefante cv. Cameroon, em Viçosa-MG, 2018

Características	Suíno	Bovino	Cama de frango
N (%)	2,96	2,71	2,59
P (%)	2,16	0,79	1,62
K (%)	0,88	2,00	3,36
Ca (%)	3,50	1,43	2,67
Mg (%)	0,78	0,55	0,61
Na (%)	0,12	0,29	0,23
S (%)	0,68	0,63	0,71
CO (%)	15,60	23,71	20,74
C/N	5,27	8,74	8,00
Zn (ppm)	3251	140	372
Fe (ppm)	20918	12016	15577
Mn (ppm)	612	1157	975
Cu (ppm)	524	41	81
B (ppm)	18,60	21,30	66,10
pH (H ₂ O)	8,03	7,02	7,03
Teor de umidade ao ar (%)	31,02	35,50	23,72
Teor de umidade estufa 75 °C (%)	45,34	42,68	32,68

Legenda: N (Nitrogênio); P (Fósforo); K (Potássio); Ca²⁺ (Cálcio); Mg²⁺ (Magnésio); Na (Sódio); S (Enxofre); CO (Carbono Orgânico); C/N (Relação de Carbono e Nitrogênio); Zn (Zinco); Fe (Ferro), Mn (Manganês); Cu (Cobre), B (Boro); pH (Potencial Hidrognônico).

A aplicação dos esterco foi superficial e a lanço, após o corte de uniformização do capim, por meio dos cálculos obtidos com base no teor de nitrogênio, apresentados na Tabela 1. Sendo assim, foram aplicados 18 t/ha de esterco bovino, 17 t/ha de suíno e 16 t/ha de cama de frango, em cada parcela, com repetições e houve pulverização de água sem ou com EM, nas subparcelas. Nas subparcelas que não receberam EM, aplicou-se água da nascente do sítio Boa Vista. O EM consistiu em microrganismos obtidos do solo de fragmento de Mata Atlântica da fazenda Boa Vista, Viçosa/MG, utilizando 700 g arroz cozido, sem sal, como fonte inicial de crescimento dos microrganismos (BONFIM et al. 2011). Após o crescimento visível dos microrganismos, o arroz com colônias coloridas de fungos e bactérias foi inoculado em garrafa PET 2 L, com 200 g de açúcar mascavo, completando-se o volume com água de nascente do sítio Boa Vista. A solução passou por processos fermentativos que quando cessaram (com variação de 15 a 45 dias dependendo da solução), estava pronto para uso (BONFIM op. cit.).

Foram feitas cinco aplicação de EM rente ao solo durante o período experimental, compreendido de fevereiro a novembro de 2018. Na primeira aplicação de EM, logo após a aplicação dos esterco, utilizou-se a diluição 1:1000 (v:v), e 45 dias após realizou-se a segunda

aplicação. A partir da segunda aplicação, ajustou-se a diluição 1:3 (v:v). O capim elefante foi cortado novamente em julho de 2018 e a terceira aplicação foi feita em agosto, com a quarta e quinta aplicação sendo feitas 30 e 60 dias após a aplicação anterior. Dessa forma a aplicação de EM foi cessada no final de outubro.

Ao final do experimento, em meados de novembro de 2018, foram coletadas com trado holandês, à profundidade de 0-20 cm, amostras compostas de solo em cada uma das 32 unidades experimentais. Parte dessas amostras foram coletadas para análises das características químicas do solo (Tabela 2) e outra parte foi acondicionada em freezer a -20°C até serem feitas as análises de contagem de esporos e análises moleculares incluindo extração de DNA, seguido por PCR-DGGE.

Tabela 2 – Atributos químicos do solo da área experimental após a instalação do novo experimento: Capim elefante testemunha sem ou com EM (CT e CTM); Capim elefante com esterco de suínos, sem ou com EM (CS e CSM); Capim elefante com esterco de bovinos, sem ou com EM (CB e CBM); Capim elefante com esterco de frangos (cama de frango), sem ou com EM (CF e CFM), em Viçosa-MG, 2018 (Início)

Amostra	pH	P	K	Ca ²⁺	Mg ²⁺	Al ³⁺	H ⁺ Al	SB	t	T	V	m	MO	P-Rem
		mg/dm ³		cmol _c /dm ³							%		dag/kg	mg/L
1C _T	5,97	4,5	31	3,98	1,28	0	3,3	5,34	5,34	8,64	61,8	0	4,04	29,1
2C _T	6,26	6,2	34	4,74	1,44	0	2,5	6,27	6,27	8,77	71,5	0	3,91	32,9
3C _T	6,32	4,2	31	4,59	1,41	0	2,8	6,08	6,08	8,88	68,5	0	4,43	32,5
4C _T	5,77	2,6	28	3,71	1,17	0	4,1	4,95	4,95	9,05	54,7	0	4,17	30,0
1C _{TM}	6,19	4,0	27	3,92	1,27	0	3,0	5,26	5,26	8,26	63,7	0	3,78	29,2
2C _{TM}	6,39	5,0	37	4,40	1,31	0	3,0	5,8	5,80	8,80	65,9	0	4,30	29,6
3C _{TM}	6,01	4,2	37	4,00	1,3	0	3,1	5,39	5,39	8,49	63,5	0	4,30	33,1
4C _{TM}	5,85	2,0	26	3,19	1,28	0	3,7	4,54	4,54	8,24	55,1	0	4,04	33,4
1C _S	6,51	6,3	34	5,54	1,42	0	2,2	7,05	7,05	9,25	76,2	0	4,56	29,0
2C _S	6,08	20,0	38	4,20	1,48	0	2,8	5,78	5,78	8,58	67,4	0	4,43	30,3
3C _S	6,07	6,9	37	3,66	1,34	0	3,3	5,09	5,09	8,39	60,7	0	4,43	30,6
4C _S	6,25	3,4	31	4,05	1,22	0	2,7	5,35	5,35	8,05	66,5	0	4,30	32,4
1C _{SM}	6,15	8,3	32	3,97	1,4	0	2,8	5,45	5,45	8,25	66,1	0	4,30	31,4
2C _{SM}	6,26	6,3	40	4,78	1,46	0	2,7	6,34	6,34	9,04	70,1	0	4,04	25,8
3C _{SM}	6,32	10,1	37	4,13	1,46	0	2,7	5,68	5,68	8,38	67,8	0	4,56	32,8
4C _{SM}	6,14	8,3	37	4,54	1,5	0	3,0	6,13	6,13	9,13	67,1	0	4,70	33,1

Legenda: pH (Potencial Hidrogeniônico em água); P (Fósforo); K (Potássio); Ca²⁺ (Cálcio); Mg²⁺ (Magnésio); Al³⁺ (Alumínio); H + Al (Acidez Trocável); SB (Soma de Bases Trocáveis); CTC (t) (Capacidade de Troca Catiônica Efetiva); CTC (T) (Capacidade de Troca Catiônica a pH 7,0); V (Índice de Saturação de Bases); m (Índice de Saturação de Alumínio); MO (Matéria Orgânica); P-rem (Fósforo remanescente). Extratores utilizados: P, K, Zn, Cu = Extrator Mehlich1; Al³⁺, Ca²⁺ e Mg²⁺ = Extrator KCl 1 mol.L⁻¹; H + Al = Extrator acetato de Ca 0.5 mol.L⁻¹.

Tabela 2 – Atributos químicos do solo da área experimental após a instalação do novo experimento: Capim elefante testemunha sem ou com EM (CT e CTM); Capim elefante com esterco de suínos, sem ou com EM (CS e CSM); Capim elefante com esterco de bovinos, sem ou com EM (CB e CBM); Capim elefante com esterco de frangos (cama de frango), sem ou com EM (CF e CFM) , em Viçosa-MG, 2018 (Final)

Amostra	pH	P	K	Ca ²⁺	Mg ²⁺	Al ³⁺	H + Al	SB	t	T	V	m	MO	P-Rem
		mg/dm ³		cmol _c /dm ³							%		dag/kg	mg/L
1CB	6,09	5,1	40	5,05	1,32	0	3,3	6,47	6,47	9,77	66,2	0	4,30	27,9
2CB	6,09	4,5	37	4,69	1,50	0	3,3	6,28	6,28	9,58	65,6	0	4,70	27,6
3CB	6,10	4,2	42	5,14	1,57	0	3,3	6,82	6,82	10,12	67,4	0	4,56	27,9
4CB	6,06	3,2	34	4,37	1,43	0	3,6	5,89	5,89	9,49	62,1	0	4,30	30,0
1CBM	5,85	4,7	38	4,18	1,09	0	3,9	5,36	5,35	9,26	57,9	0	3,78	27,0
2CBM	6,29	4,4	38	4,70	1,57	0	2,8	6,37	6,37	9,17	69,5	0	4,30	28,3
3CBM	5,85	4,8	39	4,62	1,42	0	3,6	6,14	6,14	9,74	103,0	0	4,17	26,7
4CBM	5,96	4,0	37	4,25	1,36	0	3,7	5,70	5,70	9,40	60,6	0	4,30	30,4
1CF	6,28	9,2	34	4,15	1,42	0	2,7	5,66	5,66	8,36	67,7	0	4,56	32,5
2CF	6,22	4,0	32	4,30	1,35	0	2,7	5,73	5,73	8,43	68,0	0	3,91	34,2
3CF	5,83	7,3	41	3,79	1,48	0	4,1	5,38	5,38	9,48	56,8	0	4,30	30,3
4CF	5,82	4,1	39	4,20	1,52	0	3,9	5,82	5,82	9,72	59,9	0	4,83	29,6
1CFM	6,03	7,9	37	4,04	1,28	0	3,6	5,41	5,41	9,01	60,0	0	4,30	31,4
2CFM	6,62	7,1	39	5,15	1,62	0	2,0	6,87	0,87	8,87	77,5	0	4,70	31,1
3CFM	6,21	7,9	37	4,67	1,41	0	3,0	6,17	6,17	9,17	67,3	0	4,30	30,0
4CFM	5,99	4,0	38	4,10	1,58	0	3,4	5,78	5,78	9,18	63,0	0	4,96	30,1

Legenda: pH (Potencial Hidrogeniônico em água); P (Fósforo); K (Potássio); Ca²⁺ (Cálcio); Mg²⁺ (Magnésio); Al³⁺ (Alumínio); H + Al (Acidez Trocável); SB (Soma de Bases Trocáveis); CTC (t) (Capacidade de Troca Catiônica Efetiva); CTC (T) (Capacidade de Troca Catiônica a pH 7,0); V (Índice de Saturação de Bases); m (Índice de Saturação de Alumínio); MO (Matéria Orgânica); P-rem (Fósforo remanescente). Extratores utilizados: P, K = Extrator Mehlich1; Al³⁺, Ca²⁺ e Mg²⁺ = Extrator KCl 1 mol.L⁻¹; H + Al = Extrator acetato de Ca 0.5 mol.L⁻¹.

2.3 Extração e quantificação de esporos de FMA

Foram utilizados 100 g de solo para a quantificação dos esporos de FMA (abundância total). A separação dos esporos foi feita pelo método de peneiramento úmido (GERDEMANN e NICHOLSON, 1963). O solo peneirado foi colocado em becker com 1700 mL de água e a solução foi agitada manualmente por um minuto. Após 10 segundos deixou-se decantar as partículas mais grosseiras de solo e o sobrenadante foi transferido para peneira de malha de 0,42 e 0,044 mm, nessa ordem. Repetiu-se esse procedimento três vezes. O que ficou retido na peneira de 0,044 mm foi lavado e transferido para tubo falcon (50 mL). Os tubos foram centrifugados a 3000 rpm por cinco minutos e o sobrenadante foi descartado. Adicionou-se solução de sacarose 50 % e os tubos foram levados novamente para centrífuga a 2000 rpm por dois minutos. A solução sobrenadante foi peneirada em malha de 0,044 mm e lavada em água corrente para retirar a sacarose. Posteriormente essa solução foi colocada em placas de Petri com canaletas no estereomicroscópio, onde realizou-se as contagens de esporos.

2.4 Análises moleculares

Para a determinação do perfil da comunidade de FMA e bactérias, o DNA total do solo foi extraído empregando-se o Kit NucleoSpin® Soil (Macherey-Nagel, Alemanha), de acordo com as instruções do manual do fabricante.

O DNA extraído do solo foi amplificado pela técnica de reação em cadeia da polimerase (PCR). Na primeira PCR de FMA e de bactérias, feitos separadamente, retirou-se uma alíquota de 5 µL do DNA extraído, acrescentou-se a enzima GoTaq® Flex DNA Polimerase (Promega, Madison, USA) em 10 µL de tampão. As amostras consistiam em 5 µL do DNA extraído do solo juntamente com 2 µL de desoxinucleosídeos trifosfatados; 4 µL de MgCl₂; 2 µL de cada primer; 0,25 µL da enzima GoTaq Flex DNA polimerase e 0,8 µL (0,8 µg µL⁻¹) de albumina bovina acetilada (BSA, Promega) para otimizar a ação da polimerase. Na segunda amplificação, Nested PCR, buscou a obtenção de fragmentos menores de DNA para a realização da técnica de eletroforese em gel com gradiente desnaturante (DGGE), utilizando-se uma alíquota de 3 µL do produto da reação do primeiro PCR com a mesma mistura e condições de amplificação descritas na primeira reação de PCR.

Na primeira amplificação da fração de DNA de FMA, correspondeu ao rDNA 18S dos fungos micorrízicos arbusculares, com os primers AML1 (5'-ATC AAC TTT CGA TGG TAG GAT AGA-3) combinado com o primer AML2 (5'-GAA CCC AAA CAC TTT GGT TTC C-

3') (LEE et al., 2008). Na segunda PCR, foram utilizados os primers NS31-GC (5'-CGCCCGGGGCGCGCCCCGGGCGGGGCGGGGGCACGGGGGTTGGAGGGCAA
G TCTGGTGCC-3') (KOWALCHUK et al., 2002) e Glo1 (5'-GCCTGCTTTAAACTCTA-3') (CORNEJO et al., 2004), utilizando a mesma mistura descrita para a primeira reação de PCR.

Para bactéria, 16S rDNA gene, os primers 27F (5'-GAGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3') e 1492R (5'-TACGGYTACCTTGTACGACTT-3') (Lane 1991) foram utilizados. Posteriormente foi realizada a reação de segunda PCR, nested-PCR, com os primers 338GC (5'-CGCCCGCCGCGCGCGGGGCGGGGCG-3') e 518 (5'-ATTACCGCGGCTGCTGG -3') (Muyzer et al., 1993).

As amplificações dos fragmentos de DNA foram por meio da técnica de PCR, sendo que na primeira PCR elas ocorreram em um termociclador (Mastercycle epgradient, Eppendorf). Para FMA ocorreram as seguintes etapas: a) um ciclo de 1 min. a 94 °C, 1 min. a 50 °C, 1 min. a 72 °C por 30 vezes; b) extensão final de 10 min. a 72 °C. Nas amplificações da segunda PCR de FMA ocorreram em termociclador nas seguintes etapas: a) desnaturação inicial do DNA por 5 min. a 94 °C; b) seguido por 35 ciclos com desnaturação por 45s a 94 °C, 45s a 52 °C e 1 min. A 72°C e extensão por 30 min. a 72 °C. Para bactéria tanto para primeira PCR quanto para Nested, ocorreram as seguintes etapas no termociclador: a) 35 ciclos de 4 min. a 94 °C, 30s a 94 °C, 1 min. a 50°C, 1min. e 30 s. a 72 °C; b) extensão final de 7 min. a 72 °C.

A confirmação do produto amplificado da primeira e da segunda PCR foi efetuada com alíquotas de 5 µL dos produtos das reações de PCR, submetidas à eletroforese em gel de agarose 1,5 % (p:v), corados com brometo de etídio e visualizado sob luz UV no fotodocumentação Molecular Imaging (Loccus Biotecnologic L-Pix Chemi) para a verificação da presença de bandas indicativas do DNA genômico de FMA e bactérias.

Os produtos obtidos da segunda amplificação da PCR para FMA e bactérias foram utilizados para a análise de DGGE (Modelo DCode™ System – BIO-Rad California USA). Uma alíquota de 20 µL da reação de nested-PCR foi aplicada em gel de poliacrilamida (37,5:1 acrilamida: bisacrilamida) a 8 % (p:v) em tampão Trisacetato-EDTA (TAE) 1X (Tris/ácido acético/EDTA, pH 8,0). O gradiente foi obtido com o Formador de Gradiente Hoefer SG50 (Armstrong Biosciences) e pela mistura de duas soluções estoque de poliacrilamida, sendo a condição de 100 % de desnaturação composta de ureia 7 mol L⁻¹ (Sigma, Cat#U5378) e formamida a 40 % (v/v) (Sigma, Cat#F9037) e a de 0 % de desnaturação sem estes reagentes. O gradiente final do gel obtido pela mistura das soluções variou de 35 a 55 % para FMA e 40

a 55 % para bactérias. A eletroforese ocorreu com uso do tampão TAE 1X a temperatura constante de 60 °C a 120 V por um período de 10 min., seguidos de 100 V por 12 horas. Os géis foram corados após o término da eletroforese por 20 min. em solução 1X de SYBR GOLD® (Sigma Aldrich), conforme as recomendações do fabricante. As imagens obtidas dos géis foram observadas sob luz ultravioleta, capturadas e digitalizadas pelo sistema de fotodocumentação Molecular Imaging (Loccus Biotechnologic L-Pix Chemi).

As imagens foram analisadas com o programa Bionumerics®, que permitiu a construção de dendrogramas para avaliar a similaridade entre as comunidades de FMA e bactérias, referentes à distância e o padrão de bandas correspondentes ao gene 18S rDNA de FMA e de bactérias 16S rDNA, conforme a presença/ausência de regiões amplificadas.

2.5 Análises estatísticas

Para avaliar as características do solo antes e após os tratamentos, a abundância total de esporos, índices de diversidade de FMA e bactérias, utilizou-se delineamento em quadrado latino no esquema de parcelas subdivididas. Para a variável abundância total de esporos, foi realizado o teste de normalidade, pelo teste Kolmogorov Smirnov ($P > 0,15$). As variáveis que tiveram efeito significativo ($P < 0,05$) foram comparadas pelo teste de Tukey, com a utilização do programa estatístico SAS 9.4, no procedimento PROC MIXED.

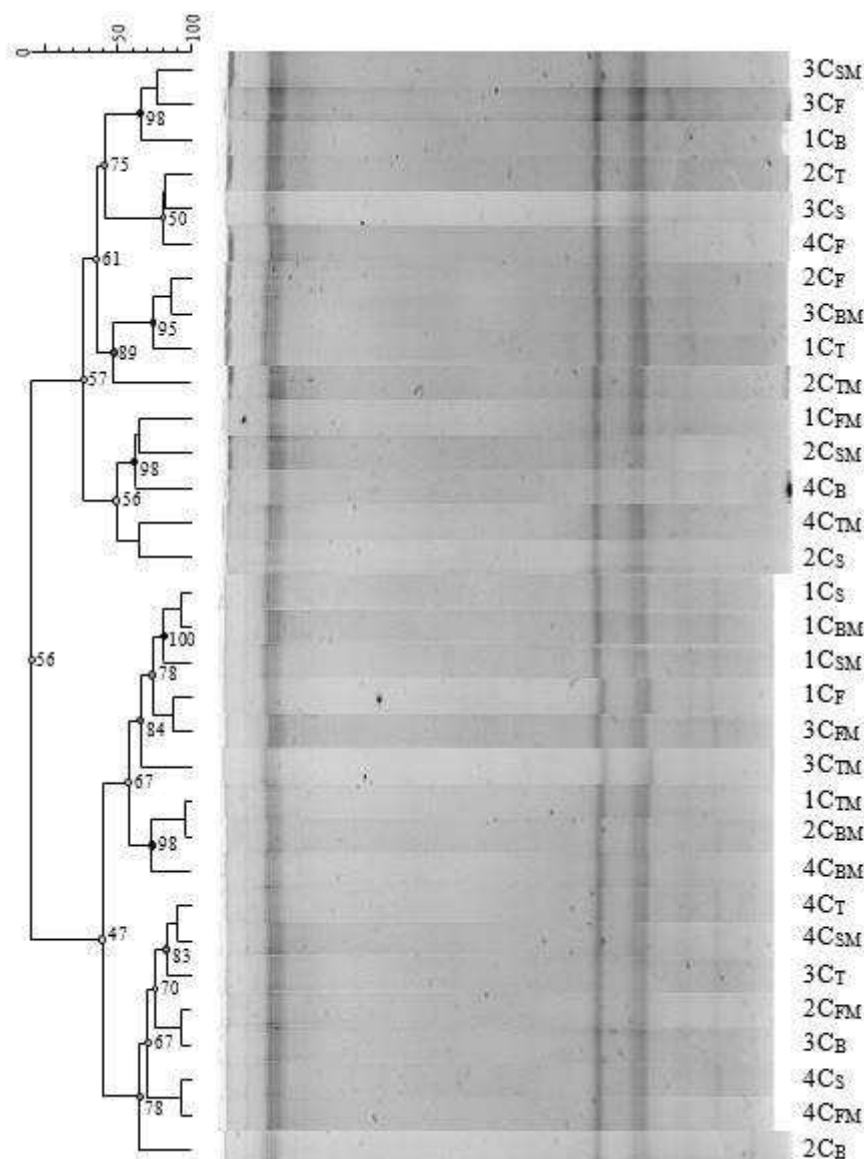
O padrão de similaridade e intensidade das bandas presentes nos géis de DGGE foi avaliado para bactérias e FMA. Em relação as bactérias optou-se pelo índice de Sorensen-Dice, seguido pela análise de agrupamento utilizando o método da variância mínima (Ward). Para FMA utilizou-se o índice de Cousine com método de variância mínima (Ward). Os índices foram avaliados para a construção de dendrogramas, com auxílio do programa Bionumerics 5.1. Os cálculos de índices de diversidade foram feitos pelo programa Past 3.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise da comunidade de FMA e de bactérias por meio da técnica de PCR-DGGE permitiu a obtenção e comparação entre os perfis de migração das bandas, com utilização do índice de Sorensen-Dice para bactérias e de Cousine para FMA, em ambos utilizando-se a análise de agrupamento pelo método da variância mínima (Ward). Os agrupamentos foram

separados por tipo de comunidade, uma para FMA (Figura 1) e outros para bactérias (Figura 2), buscando avaliar o efeito e foram representados graficamente por meio de dendrogramas.

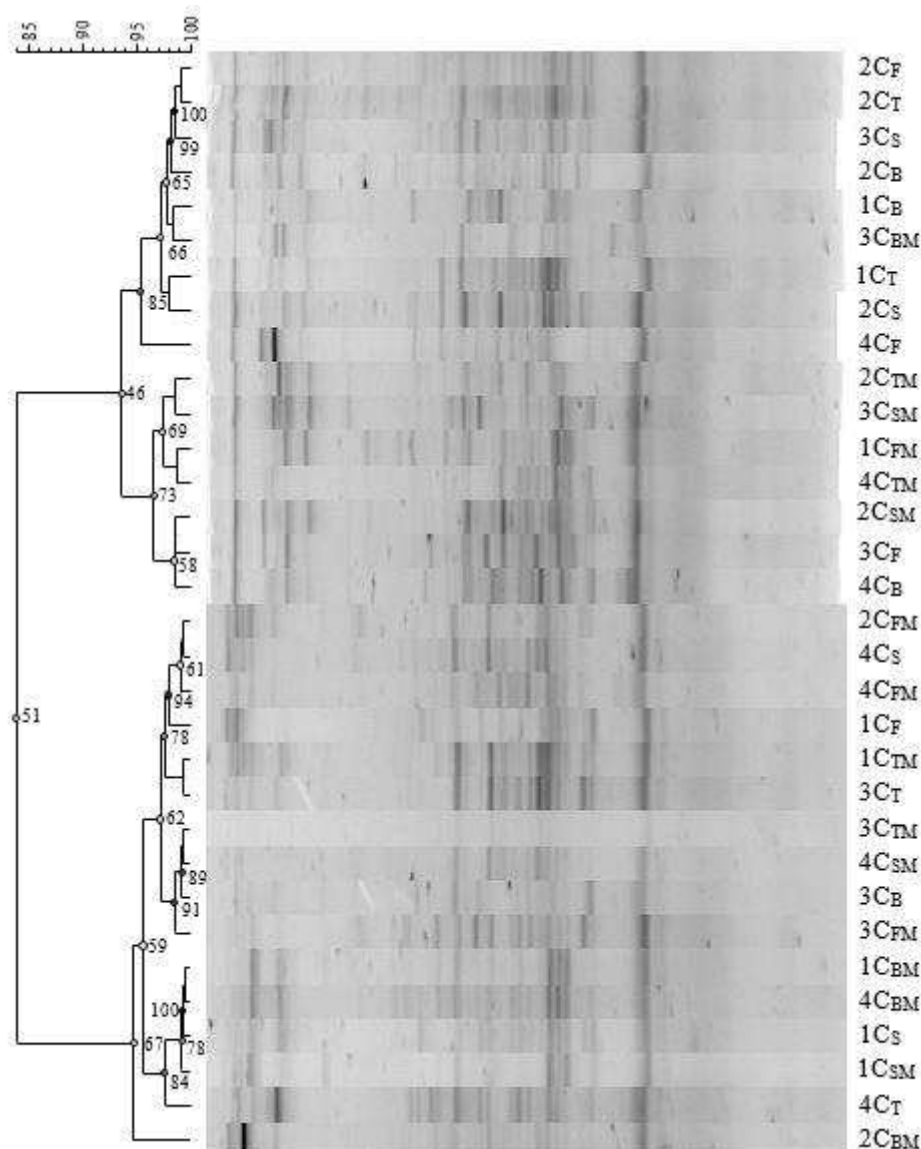
Na análise do dendrograma (Figura 1), percebe-se que houve pouca diferença entre o perfil de bandas para a comunidade de bactérias, com baixa influência da adubação orgânica e EM aplicados na área experimental, sendo no geral com distribuição de bandas homogêneas entre os grupos formados. No agrupamento maior, formado pelos dois grandes grupos, mostra a similaridade entre eles de 25 %. Um grupo foi composto por um subgrupo com 35 % de similaridade com majoritariamente subparcelas que não receberam EM, predominando subparcelas adubadas com cama de frango; o outro subgrupo com 45 % de similaridade foi homogêneo em relação aos tratamentos aplicados. O outro grupo também apresentou dois subgrupos com 40 % de similaridade. Um subgrupo com 55 %, com predomínio de parcelas que receberam EM e outro com 65 %, que em sua maioria foi composto de parcelas que não receberam EM.



Legenda: C_T e C_{TM}: Capim elefante testemunha sem ou com EM; C_S e C_{SM}: Capim elefante com resíduos sólidos de suínos, sem ou com EM; C_B e C_{BM}: Capim elefante com resíduos sólidos de bovinos, sem ou com EM; C_F e C_{FM}: Capim elefante com resíduos sólidos de frangos (cama de frango), sem ou com EM. Os números são referentes aos quatro blocos.

Figura 2- Dendrograma demonstrando a similaridade existente entre as comunidades de bactérias, durante o período experimental, por meio do índice de Sorensen-Dice método Ward, calculado pelo padrão de bandas obtidas pela técnica de PCR-DGGE, em Viçosa-MG, 2018.

No dendrograma da Figura 2, evidenciou diferenças entre as comunidades de FMA. No agrupamento maior os dois grandes grupos possuem 84 % de similaridade. Um grupo é composto por um subgrupo com 95 % de similaridade com majoritariamente de subparcelas que receberam EM e o outro grupo com 94 % de similaridade com predomínio de parcelas que não receberam EM ambos com similaridades em relação aos tratamentos aplicados.



Legenda: C_T e C_{TM}: Capim elefante testemunha sem ou com EM; C_S e C_{SM}: Capim elefante com resíduos sólidos de suínos, sem ou com EM; C_B e C_{BM}: Capim elefante com resíduos sólidos de bovinos, sem ou com EM; C_F e C_{FM}: Capim elefante com resíduos sólidos de frangos (cama de frango), sem ou com EM. Os números são referentes aos quatro blocos.

Figura 3- Dendrograma demonstrando a similaridade existente entre as comunidades de FMA, durante o período experimental, por meio do índice de Cousine método Ward, calculado pelo padrão de bandas obtidas pela técnica de PCR-DGGE, em Viçosa-MG, 2018.

Há maior abundância de filotipos de FMA do que de bactérias, analisando os padrões das bandas, e quantidade das mesmas. O perfil da comunidade de FMA, teve bandas mais abundantes com presença de mais filotipos diferentes. Já para bactérias as bandas abundantes apareciam nas mesmas posições, mostrando pertencerem aos mesmos filotipos e com uma quantidade menor de filotipos quando comparada as de FMA.

Nas análises moleculares, foram calculados os índices de diversidade. Já para a abundância de esporos de FMA após o teste de normalidade, constatou-se que não houve ausência de normalidade dos erros, sendo posteriormente feita as análises estatísticas dos mesmos conforme o item 2.5. A riqueza estima a abundância numérica de determinada comunidade ou região e a dominância quando há predomínio de uma ou mais espécies em determinada comunidade ou região. O índice de Chao estima a riqueza de espécies pelo total de unidades taxonômicas operacionais (OTUs). O índice de Shannon estima a riqueza de espécies pela abundância individual. Já Simpson estima a probabilidade de dois indivíduos pertencerem a mesma espécie (Tabela 3).

Tabela 3 – Análises da microbiota do solo em função de adubação orgânica e aplicação de microrganismos eficientes (EM) em Viçosa-MG, 2018

Variável	Adubação orgânica				Microrganismos eficientes			P valor		
	Cama de frango	Esterco bovino	Esterco suíno	Controle	Sem	Com	EPM	Adub	EM	Adub × EM
Abundância de esporos (Unidade)	591A	360A	489A	711A	509 ^a	565a	139,5	0,406	0,645	0,977
FMA										
Riqueza	32,1A	30,1A	31,2A	28,4A	33,4 ^a	27,6b	2,049	0,625	0,017	0,478
Dominância	0,0316A	0,0346A	0,0335A	0,0372A	0,0304b	0,0381a	0,003	0,631	0,013	0,713
Chao	541A	489A	525A	433A	582 ^a	412b	62,31	0,640	0,025	0,391
Simpson	0,968A	0,965A	0,966A	0,963A	0,970 ^a	0,962b	0,002	0,632	0,013	0,710
Shannon	3,461A	3,384A	3,419A	3,321A	3,500a	3,292b	0,076	0,622	0,013	0,594
Bactérias										
Riqueza	13,0A	13,1A	13,5A	13,2A	13,1a	13,4a	0,493	0,901	0,689	0,055
Dominância	0,0796A	0,0791A	0,0759A	0,0782A	0,0788a	0,0776a	0,003	0,769	0,804	0,062
Chao	93,9A	96,1A	100,0A	97,5A	94,3a	99,4a	7,344	0,944	0,638	0,056
Simpson	0,920A	0,921A	0,924A	0,922A	0,921a	0,922a	0,003	0,768	0,804	0,063
Shannon	2548A	2194A	2590A	2206A	2375a	2394a	0,049	0,839	0,747	0,058

Legenda: Nas linhas, médias seguidas por pelo menos uma mesma letra, maiúsculas para adubação e minúsculas para microrganismos eficientes, não diferem entre si pelo teste Tukey à 5 % de probabilidade. FMA= Fungos micorrízicos arbusculares; EPM = erro padrão da média; Adub = adubação orgânica; EM = microrganismos eficientes.

Como observado na Tabela 3, houve efeito significativo ($P < 0,05$) apenas para EM, sobre os índices de diversidade de FMA. Houve aumento no índice de dominância e redução nos demais índices de FMA em função da aplicação ou não de EM. Para as variáveis de interação adubação×EM; adubação; abundância de esporos e a riqueza, dominância e índices de diversidade para bactérias; não houveram efeito significativo. Nas variáveis que apresentaram efeito significativo foram realizados o Teste de Tukey a 5 % de probabilidade.

Embora a abundância de esporos, seja importante sua avaliação como fonte de inóculo e representante do histórico da comunidade de FMA, nem sempre isto pode representar ganhos em termos funcionais para os agroecossistemas. Em ecossistemas que apresentam mais equilíbrio, o fungo pode investir mais em energia para o crescimento vegetativo do que para a produção de esporos (HIGO et al., 2013).

Os padrões de bandas obtidos pela técnica PCR-DGGE para bactérias e FMA do solo estudado manifestaram uma tendência de agrupamento das amostras em função da presença ou ausência de microrganismos eficientes, com alterações na comunidade microbiana. Houve maior similaridade entre os agrupamentos dos dendogramas e índices de bactérias. Semelhanças no perfil bacteriano foram observadas em outras pesquisas, em que diferentes soluções de EM, modo de preparo e sua multiplicação podem interferir na diversidade dos microrganismos (VAN VLIET et al., 2006; SANTOS, 2016), uma vez que cada formulação é composta por diferentes grupos (HIGA e PARR, 1994). No presente trabalho foram preparadas, em épocas distintas, três soluções de EM para pulverizar a área durante o período experimental, fator que pode ter influenciado na diversidade microbiana.

Quando relacionamos a dominância de FMA com demais índices, observamos que a aplicação de microrganismos exógenos, mesmo sendo cultivados na região da pesquisa, reduziu a quantidade, a diversidade e aumentou a dominância dos mesmos na área experimental, indicando que sem aplicação de EM, ou seja, a ocorrência natural proporciona maior quantidade e diversidade de microrganismos no local da pesquisa. Possivelmente houve competição entre os microrganismos presentes no EM, nos esterco e os que existiam naturalmente. As populações de ocorrência natural estão presentes com frequência em maior quantidade e pode-se esperar que sejam adequadas para sobreviver no esterco (HO e KO, 1985; WATANABE ET AL., 2000). Microrganismos cultivados, como o EM, costumam ser maiores e melhores alimentados do que os microrganismos que ocorrem naturalmente e, portanto, preferidos por

predadores como por exemplo, os protozoários (SHERR et al., 1992), que podem estar presentes no solo e em esterco.

Além disso, a produção de metabólitos secundários na solução de EM pode ter feito com que alguns filotipos dominassem e reduzisse a diversidade de microrganismos. O termo metabólito secundário inclui um grupo heterogêneo de compostos naturais quimicamente diferentes relacionados a funções de sobrevivência para o organismo produtor, tais como competição contra outros micro e macrorganismos, simbiose, diferenciação, etc. (DEMAIN e FANG, 2000). Incluídos no grupo dos metabólitos secundários estão os antibióticos, que são produtos naturais capazes de inibir o crescimento microbiano. A produção de antibióticos no meio ambiente do solo tem uma gama de influência relativamente longa na comunidade microbiana, a qual está frequentemente correlacionada com a habilidade de biocontrole (VINALE et al., 2008). O EM produz metabólitos secundários através do processo fermentativo, como enzimas, hormônios, vitaminas e substâncias bioativas (HIGA, 2000).

Santos (2016) pesquisou a diversidade microbiana de EM de três origens diferentes, sendo dois produzidos na região da Zona da Mata, como neste trabalho e o outro EM comercial, nos quais observou que os três possuem filos comuns, incluindo Actinobacteria, Firmicutes, Proteobacteria e Synergistetes. As Actinobactérias são importantes produtoras de antibióticos, anti-helmínticos e antifúngicos; também são muito promissoras para o biocontrole de pragas, no antagonismo contra patógenos dos solos, através da colonização ou a biossíntese de antibióticos e outros metabólitos secundários que podem prevenir a contaminação (BARKA et al. 2015). A capacidade de produção de antibióticos por antagonistas pode interferir no desenvolvimento do fitopatógeno, bem como a competição destes por espaço e nutrientes (BELL et al., 1982). As actinobactérias também desempenham um papel importante no crescimento de plantas, através da simbiose que pode ocorrer de bactérias com a planta, que pode auxiliar na fixação de nitrogênio, síntese de fitohormônios e solubilização de minerais para torná-los disponíveis para captação e uso de plantas. A diversidade deste filo é grande e inclui muitas espécies benéficas, mas também algumas patogênicas (BARKA et al., 2015).

O gênero *Bacillus*, também presente no filo Firmicutes, é muito estudado pelo efeito benéfico de fitohormônios no crescimento de plantas e antagonismo a fitopatogênicos (KUMAR et al., 2012). O filo Proteobacteria, composto pela ordem Burkholderiales presentes no EM (SANTOS, 2016), é formado por bactérias promissoras por produzirem reguladores de crescimento e sideróforos (solubilizam e transportam ferro) (RING et al., 2016). Já as bactérias

do filo Proteobacteria, família Pseudomonadaceae existentes no EM (SANTOS, 2016), tem as do gênero pseudômonas, que são importantes no controle biológico, na solubilização de fósforo inorgânico e na produção de fitohormônios como o ácido indol acético (DHARN et al., 2014). Entretanto, o papel de outros metabólitos inibitórios, como toxinas e enzimas proteolíticas no processo de inibição de patógenos fúngicos, pode não ser descartado (HU et al., 2008).

Em adicional, técnicas de manejo convencional baseado no monocultivo, como do capim elefante, e menor cobertura do solo são responsáveis por reduzir a diversidade e selecionar espécies menos eficientes na utilização de substratos (MOREIRA e SIQUEIRA, 2006), o que pode interferir negativamente na estrutura da comunidade de microrganismos, como FMA e bactérias. Esses efeitos podem ser maiores em culturas anuais, pelo aumento de práticas constantes de revolvimento do solo que rompe a rede de hifas e expõe estruturas fúngicas a predadores, radiação e variações de umidade (CARRENHO et al., 2010). Outro fator pode estar relacionado à fertilização dos solos, que pode apresentar uma menor diversidade associada, através da seleção de espécies agressivas de FMA, que são capazes de drenar mais fotoassimilados das plantas hospedeiras (DOUDS JR. e MILLNER, 1999). Fatores relacionadas às características químicas do solo, dosagens de EM, fonte de matéria orgânica, histórico da área experimental, distribuição dos microrganismos ao acaso e distribuição geográfica da diversidade microbiana; relacionados a variáveis como umidade, taxa de degradação da matéria orgânica, aeração e temperatura no solo, podem influenciar na diversidade microbiana do EM e necessitam ser avaliados. As informações sobre essa tecnologia social e seu mecanismo de ação ainda são escassas na literatura e devem ser estudados.

4 CONCLUSÕES

Os resíduos orgânicos não afetaram o perfil da comunidade microbiana do solo cultivado com capim elefante. O EM proporcionou efeito sobre FMA, alterando os perfis microbianos, em que a aplicação de EM aumentou a dominância, porém reduziu os outros índices de diversidade.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALCÂNTARA, P.B.; ALCÂNTARA, V.B.G.; ALMEIDA, J.E. Estudo de vinte e cinco prováveis variedades de capim-elefante (*Pennisetum purpureum* Schum.). **Boletim da Indústria Animal**, Nova Odessa, v. 37, n. 2, p. 279-302. 1980.
- ALTIERI, M. Linking ecologists and traditional farmers in the search for sustainable agriculture. **Frontiers in Ecology Environment**, Berkeley, v.2, p.35-42, 2004.
- BARKA, E. A.; VATSA, P.; SANCHEZ, L.; GAVEAU-VAILLANT, N.; JACQUARD, C.; KLENK, H.P.; CLÉMENT, C.; OUHDOUCH, Y.; WEZEL, G. P. V. Taxonomy, physiology and natural products of Actinobacteria. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, [s.l.], v. 80, n. 1, p. 1-43, 2015.
- BELL, D. K.; WELLS, H. D.; MARKHAM, C. R. In vitro antagonism of *Trichoderma* species against six fungal plant pathogens. **Phytopathology**, [s.l.], v. 72, n. 4, p. 379-382, 1982.
- BONFIM, F. P. G.; HONÓRIO, I.C.G.; REIS, I.L.; PEREIRA, A.J.; SOUZA, D.B. **Caderno dos microrganismos eficientes (EM): instruções práticas sobre uso ecológico e social do EM**. Universidade Federal de Viçosa, Departamento de Fitotecnia, 2011.
- BLOEM, J; DIDDEN, W.A.M.; JAGERS OP AKKERHUIS, G.A.J.M.; KEIDEL, H.; RUTGERS, M.; BREURE, T. **Measuring soil biodiversity: experiences, impediments and research needs**. In: Francaviglia, R. (Ed.), *Agricultural Impacts on Soil Erosion and Soil Biodiversity: Developing Indicators for Policy Analysis*. Proceedings of the OECD Expert Meeting on Soil Erosion and Soil Biodiversity Indicators. Rome, Italy, p.109-129, 2004.
- CAPORAL, F. R.; COSTABEBER, J. A. Agroecologia e desenvolvimento rural sustentável: perspectivas para uma nova Extensão Rural. **Agroecologia e Desenvolvimento Rural Sustentável**, v.1, n.1, p.16-37, jan.-mar., 2000.
- CARRENHO, R.; GOMES-DA-COSTA, S. M.; BALOTA, E. L.; COLOZZI-FILHO, A. **Fungos micorrízicos arbusculares em agrossistemas brasileiros**. In: SIQUEIRA, J. O.; SOUZA, F. A. de.; CARDOSO, E. J. B. N.; TSAI, S. M. (Eds.) *Micorrizas: 30 anos de pesquisa no Brasil*. Lavras, UFLA, 2010, 716 p.
- CARDOSO I.M.; KUYPER, T.W. Mycorrhizas and tropical soil fertility. **Agriculture Ecosystem & Environment**. [s.l.], p.72-84, 2006.
- CLIMATE. **Clima Viçosa**. Disponível em: <<https://pt.climate-data.org/location/25021/>>, Acesso em: 23 set. 2018.
- CORNEJO, P.; AZCON-AGUILAR, C.; BAREA, J. M.; FERROL, N. Temporal Temperature Gradient Gel Electrophoresis (TTGE) as a tool for the characterization of arbuscular mycorrhizal fungi. **FEMS Microbiology Letters**, [s.l.], v. 241, p.265-270, 2004.
- DALGAARD, T.; HUTCHINGS, N.J.; PORTER, J.R. Agroecology, scaling and interdisciplinarity. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, [s.l.], n.100, p.39-51, 2003.

DEMAIN, A.L.; FANG, A. The natural functions of secondary metabolites. **Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology**, [s.l.], v.69, p.1–39, 2000.

DHARNI S, SRIVASTAVA AK, SAMAD A, PATRA DD. Impact of plant growth promoting *Pseudomonas monteilii* PsF84 and *Pseudomonas plecoglossicida* PsF610 on metal uptake and production of secondary metabolite (monoterpenes) by rose-scented geranium (*Pelargonium graveolens* cv. bourbon) grown on tannery sludge amended soil. **Chemosphere**, [s.l.], v.9, p.117-433, 2014

DOUDS JR., D. D.; MILLNER, P. D. Biodiversity of arbuscular mycorrhizal fungi in agroecosystems. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, [s.l.], n.74, p.77-93, 1999.

EMBRAPA. **Manual de Métodos de Análise de Solos**. 2011.

GAGGIÀ, F., L.; DI GIOIA, D.; ACCORSI, M.; BOSI, S.; MAROTTI, I.; BIAVATI, B.; DINELLI, G. Inoculation with microorganisms of *Lolium perenne* L.: evaluation of plant growth parameters and endophytic colonization of roots. **New Biotechnology**, v. 30, n.6, p. 695-704, 2013.

GERDEMAN, J. W.; NICHOLSON, T. H. Spores of mycorrhizal endogene extracted from soil by wet sieving and decanting. **Transactions of the British Mycological Society**, n.46, p.235-244, 1963.

HIGA T. What is EM technology? *EM World Journal*. 2000.p.1-6.

HIGA, T. E; WIDIDANA, G. N. **The concept and theory of Effective Microorganisms**. In: J. F. Parr, S. B. Hornick and C. E. Whitman (ed.). *Proceedings of the First International Conference on Kyusei Nature Farming*. Department of Agriculture, Washington, D.C., USA, p. 118-124, 1991.

HIGA, T; PARR, J. F. **Beneficial and effective microorganisms for a sustainable agriculture and environment**. Atami: International Nature Farming Research Center, 1994.

HIGA, T. Effective microorganisms: **Their role in Kyusei Nature Farming and sustainable agriculture**. In J.F. Parr, S.B. Hornick, and M.E. Simpson (ed.) *Proceedings of the Third International Conference on Kyusei Nature Farming*. Department of Agriculture, Washington, D.C., USA. (In Press). 1995.

HIGO, M.; ISOBE, K.; YAMAGUCHI, M. RHAE, A.; DRIJBER; ELIZABETH, S. JESKE; ISHII, R. Diversity and vertical distribution on indigenous arbuscular mycorrhizal fungi under two soybean rotational systems. **Biology and Fertility of Soils**, [s.l.], v.49, p.1085-1096, 2013.

HO, W.C., KO, W.H. Soil microbiostasis: effects of environmental and edaphic factors. **Soil Biology and Biochemistry**, [s.l.], 17, p.167–170, 1985.

HU, Q.P.; XU, J.G.; SONG, P.; SONG, J.N.; CHEN, W.L. Isolation and identification of a potential biocontrol agent *Bacillus subtilis* QM3 from Qinghai yak dung in China. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, [s.l.], v.24, p.2451–2458, 2008.

KOWALCHUCK, G. A.; De SOUZA F. A.; VAN VEEN, J. A. Community analysis of arbuscular mycorrhizal fungi associated with *Ammophila arenaria* in dutch coastal sand dunes. **Molecular Ecology**, [s.l.], n.11, p.571-581, 2002.

KUMAR, P.; DUBEY, R. C.; MAHESHWAR, I. D. K. *Bacillus* strains isolated from rhizosphere showed plant growth promoting and antagonistic activity against phytopathogens. **Microbiological Research**, [s.l.], v. 167, n. 8, p. 493-499, 2012.

LANA, R. P. Uso racional de recursos naturais não renováveis: aspectos biológicos, econômicos e ambientais. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.38, n.1, p.330-340, 2009.

LANE, D.J. **16S/23S rRNA sequencing**. In: **Nucleic acid techniques in bacterial systematics** (ed) Stackebrandt E, Goodfellow M. New York: Wiley, 1991. p.115-175.

LEE, J.; LEE, S.; YOUNG, J. P. W. Improved PCR primers for the detection and identification of arbuscular mycorrhizal fungi. **Federation of European Microbiological Societies**, [s.l.], n.65, p.339-349, 2008.

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

MUYZER, G.; WALL, E. C.; UITIERLINDEN, A. G. Profiling of Complex Microbial Populations by Denaturing Gradient Gel Electrophoresis Analysis of Polymerase Chain Reaction-Amplified Genes Coding for 16S rRNA. **Applied and Environmental Microbiology**, Bremen, v. 59, n. 3, p. 695-700, 1993.

RING, H.J.B; ZENTELLA, L.M.C; SIERRA, L.G.T. *Burkholderia tropica* una bacteria con gran potencial para su uso en la agricultura. **Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas**, [s.l.], v.19, n.2, p.102-108, 2016.

STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM – SAS Institute Inc. SAS 9.4. **SAS: user's guide**. Cary, NC, USA, 2018.

SHERR, B.F., SHERR, E.B., MCDANIEL, J. Effect of protozoan grazing on the frequency of dividing cells in bacterioplankton assemblages. **Applied and Environmental Microbiology**, Bremen, v. 58, n. 8, p. 2381–2385, 1992.

NAMSIVAYAM¹, S.K.R.; NARENDRAKUMAR, G.; ARVIND KUMAR, J. Evaluation of Effective Microorganism (EM) for treatment of domestic sewage. **Journal of Experimental Sciences**, [s.l.], v. 2, n.7, p. 30-32, 2011.

PEREIRA, A. V.; AUAD, A.M.; LÉDO, F.J.S.; BARBOSA, S. *Pennisetum Purpureum*. In: FONSECA, D.M. & MARTUSCELLO, J.A. **Plantas Forrageiras**. Viçosa: UFV, 2010. cap. 6, p. 197-219.

PEREIRA, A.V; MORENZ, M.J.F.; LÉDO, F.J.S.; FERREIRA.F.P.. Capim elefante: Versatilidades de uso na pecuária de leite. In: **Pecuária de leite no Brasil: cenários e avanços tecnológicos**. 1ª ed. Brasília: Embrapa, 2016. cap 3, p. 187-211.

PRATES, P. J. **Comunidade de fungos micorrízicos arbusculares em diferentes sistemas de manejo do cafeeiro**. 2014. 52 p. Dissertação (Mestrado em Agroecologia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2014.

SANTOS, L. F. **Micro-organismos eficientes: Diversidade microbiana e efeito na germinação, crescimento e composição química de capim-marandu**. 2016. 58p. Dissertação (Mestrado em Agroecologia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2016.

SINGH, J. S.; PANDEY, V.C.; SINGH, D.P. Efficient soil microorganisms: a new dimension for sustainable agriculture and environmental development. **Agriculture, Ecosystem & Environment**, [s.l.], n.140, p.339-353, 2011.

SNELL-CASTRO, R.; GODON, J.J., DELGENÈS J.P., DABERT P. Characterisation of the microbial diversity in a pig manure storage pit using small subunit rDNA sequence analysis. **FEMS Microbiology Ecology**, [s.l.], n.52, p.229-242, 2005.

SOUTO, P. C.; SOUTO, J. S.; SANTOS, R. V.; ARAÚJO, G. T.; SOUTO, L. S.;. Decomposição de esterco dispostos em diferentes profundidades em área degradada no semiárido da Paraíba. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, [s.l.], v.29, p.125-130, 2005.

TRINDADE, P.C. **Capim-elefante com adubação orgânica para uso como silagem**. 2016. 39p. Dissertação (Mestrado em Agroecologia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2016.

VAN VLIET, P. C. J.; BLOEM, J.; GOEDE, R. G. M. Microbial diversity, nitrogen loss and grass production after addition of Effective Micro-organisms (EM) to slurry manure. **Applied Soil Ecology**, [s.l.], n.32, p.188-198, 2006.

VINALE, F.; SIVASITHAMPARAM, K.; GHISALBERTI, E.L.; MARRA, R.; SHERIDAN L. WOO, S.L.; LORITO, M. Trichoderma-plant-pathogen interactions. **Soil Biology & Biochemistry**, [s.l.], v. 40, n. 1, p. 1-10, 2008.

WATANABE, K.; MIYASHITA, M.; HARAYAMA, S. Starvation improves survival of bacteria introduced into activated sludge. **Applied and Environmental Microbiology**. Bethesda, USA, n.66, p. 3905-3910, 2000.

ZOETENDAL, E.G.; AKKERMANS, A.D.L.; VOS, W.M. Temperature gradient gel electrophoresis analysis from human fecal samples reveals stable and host-specific communities of active bacteria. **Applied and Environmental Microbiology**, Bethesda, USA, n.64, p. 3854-3859, 1998.

CONCLUSÕES GERAIS

A solução de microrganismos eficientes não teve efeito na composição química do esterco e na produtividade do capim elefante. Não encontrou-se efeito da aplicação de EM sobre a diversidade bacteriana dos tratamentos com esterco bovino, cama de frango e suínos, exceto na dominância de FMA e redução nos índices de diversidade, que provavelmente pode ter causado efeito negativo sobre a diversidade microbiana.

Estudos devem ser conduzidos testando outras espécies de vegetais, com diferentes dosagens e/ou diluições de EM, análises do efeito de cortes por um período mais longo, com diferentes tipos de resíduo, maior frequência de adubação, pré-teste de degradação da matéria orgânica. Além disso, fatores como umidade, posição geográfica, aeração e temperatura do solo, devem ser investigados. Posteriormente, deve-se fazer análise da composição química, de minerais do capim e da diversidade microbiana dos solos, para se ter uma comprovação melhor sobre a efetividade do EM associado ao uso de resíduos orgânicos em gramíneas. As informações sobre essa tecnologia social e seu mecanismo de ação ainda são escassas na literatura e devem ser investigados.