

INGRID MARA BICALHO

CONVERSÃO DE FLORESTA DE PINUS EM SISTEMA PLANTIO DIRETO:
INDICADORES FÍSICOS, QUÍMICOS E MICROBIANOS EM LATOSSOLO FASE
CERRADO

Tese apresentada à Universidade Federal de Uberlândia,
como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em
Agronomia – Doutorado, área de concentração em
Fitotecnia, para obtenção do título de “Doutor”.

Orientador

Prof. Dr. Gilberto Fernandes Corrêa

Co-orientador

Prof. Dr. Adão de Siqueira Ferreira

UBERLÂNDIA
MINAS GERAIS – BRASIL
2019

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema de Bibliotecas da UFU, MG, Brasil.

B583c Bicalho, Ingrid Mara, 1984
2019 Conversão de floresta de pinus em sistema plantio direto [recurso eletrônico] : indicadores físicos, químicos e microbianos em latossolo fase cerrado / Ingrid Mara Bicalho. - 2019.

Orientador: Gilberto Fernandes Corrêa.

Coorientador: Adão de Siqueira Ferreira.

Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Uberlândia, Programa de Pós-Graduação em Agronomia.

Disponível em: <http://dx.doi.org/10.14393/ufu.te.2019.1236>

Inclui bibliografia.

Inclui ilustrações.

1. Agronomia. 2. Solos - Manejo. 3. Microorganismos do solo. 4. Plantio direto. I. Corrêa, Gilberto Fernandes, 1947, (Orient.). II. Ferreira, Adão de Siqueira, 1969, (Coorient.). III. Universidade Federal de Uberlândia. Programa de Pós-Graduação em Agronomia. IV. Título.

CDU: 631

Angela Aparecida Vicentini Tzi Tziboy – CRB-6/947

INGRID MARA BICALHO

CONVERSÃO DE FLORESTA DE PINUS EM SISTEMA PLANTIO DIRETO:
INDICADORES FÍSICOS, QUÍMICOS E MICROBIANOS EM LATOSSOLO FASE
CERRADO

Dissertação apresentada à Universidade Federal de
Uberlândia, como parte das exigências do Programa de Pós-
graduação em Agronomia – Doutorado, área de
concentração em Fitotecnia, para obtenção do título de
“Doutor”.

APROVADA em 28 de fevereiro de 2019.

Prof. Dr. Adão de Siqueira Ferreira (Co-orientador)	UFU
Prof. Dr. Gilberto de Oliveira Mendes Mendes	UFU
Prof. Dr. Heliomar Baleeiro de Melo Júnior	IFTM
Prof. Dr. Henrique Gualberto Vilela Penha	IFTM


Prof. Dr. Gilberto Fernandes Corrêa
ICIAG-UFU
(Orientador)

UBERLÂNDIA
MINAS GERAIS – BRASIL
2019

*Dedico este trabalho aos meus pais
Zózimo e Sandra, à minha Maria Luiza,
e ao meu esposo Alexandre Moreira... A
vocês todo meu amor...*

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, por me dar a oportunidade da vida e com ela de vivenciar essa experiência única de aprendizado, evolução e transformação profissional e pessoal.

Ao Professor Dr. Gilberto Fernandes Corrêa a quem tenho a grande honra de chamar de Orientador e de amigo. Obrigada por ter confiado em mim. O Senhor foi grande nesses anos e me deu todo suporte para realizar essa pesquisa estando ao meu lado em todos os momentos e tomadas de decisão. Obrigada de coração! Foi uma honra ter sido sua aluna.

Ao Professor Dr. Adão de Siqueira Ferreira pelas orientações, amizade e confiança de sempre. Levo seus ensinamentos em cada projeto que inicio. E sou agradecida por todo suporte que você me deu. Muito obrigada!

Ao Professor Dr. Gilberto Mendes, por ter me mostrado a aplicabilidade da microbiologia. Ter participado de sua disciplina me fez amar ainda mais a área que eu escolhi, e isso, eu nunca vou poder retribuir à você. Então obrigada por ser o Professor Transformador!

Aos professores Dr. Heliomar Baleeiro e Dr. Henrique Gualberto, por terem aceito o convite para essa banca. Suas contribuições são muito importantes na conclusão dessa etapa. Muito obrigada!

À Maria Luiza, minha filha, minha joia e razão da minha constante busca por dias melhores. Os dias melhores chegaram minha Flor e nós vamos vivê-los juntas! Você é minha felicidade e mamãe te ama mais alto que o céu! O óleo na blusa funcionou mesmo!

Ao meu companheiro, Alexandre Moreira Cruvinel, por toda ajuda nesse período, por cada dia de sol na cabeça e enxada na mão, por cada calo e por cada dor nas costas. Sem sua ajuda e seu apoio nada disso teria sido possível. Pra você o meu grande Muito Obrigada! Eu Amo você!

À minha família, que sempre me apoiou e que sempre se orgulhou, mesmo com as pequenas vitórias. Tudo que sou hoje e tudo que me motiva veio dos exemplos que eu tive e tenho todos os dias nessa família Souza-Bicalho. Mãe e Pai vocês não fazem ideia do quanto são importantes! Thominhas, Bele, Beah, Anna Karola, Xandicote e Teté, obrigada meus irmãos! Léo Doidão e Mayla os irmãos que meus irmãos trouxeram pra mim e Miguelzinho, meu príncipe. Como a vida é melhor com vocês!!

À família Cruvinel Moreira, nas pessoas do Sr. Carlos, D. Neuza, Clarissa, Maria e Miguel. Obrigada por nos acolherem em sua família! Dedico essa vitória também a vocês! Que Deus continue abençoando essa família tão linda e especial! Muito obrigada!!

Aos meus amigos o meu muito obrigada!! Milena e Angélica, minhas irmãs de coração, minhas companheiras mais antigas, obrigada pelo apoio de sempre. Vocês são “as caras”! Larissa, minha grande amiga, meu orgulho. Obrigada por sua amizade, por seu carinho. Devo muito à você! Nossa amizade é para vida! À minha grande amiga, Suelen Martins, que me permitiu ser mais e melhor mesmo em meio às dificuldades que surgem pelo caminho. Obrigada! Ao meu amigo Douglas Santos por toda ajuda no laboratório. Você é uma pessoa muito boa!

Ao aluno de Iniciação Científica Filipi Cardoso que juntamente com a Anna Karolina (Eng. Ambiental) me deram apoio e suporte na realização de toda essa pesquisa. Obrigada pela dedicação, amizade e companheirismo de vocês!

Aos técnicos de laboratório Jéssica, Marinho, Eduardo, Marcelo, Guilherme, Hudson, Glaicon, Márcia, Júlia e Bia que me ajudaram com motivações e ações na conclusão desse trabalho.

Ao Professor Dr. Fernando Dini Andreote e à sua equipe, Sônia, em especial. Os dias que passei com vocês foram combustível para prosseguir nessa jornada pelo conhecimento transformador. Eu nunca poderei da fato retribuir tudo que vocês fizeram por mim. Um grande abraço à Denise, Fernando, Simone e Armando e a todos aqueles com quem convivi aí na Esalq/USP. Muito obrigada!

À Professora Dr. Denise Garcia por toda inspiração! Tenho por você um apreço imenso!

À Universidade Federal de Uberlândia (UFU) que me graduou, me tornou Mestre e agora me torna Doutora! Foram 16 anos entre Graduação, Mestrado, Bolsas de Pesquisa e o Doutorado.

E a todos que de certa forma contribuíram para essa conquista! Essa vitória é de todos nós!!

SUMÁRIO

RESUMO	i
ABSTRACT	ii
INTRODUÇÃO GERAL	1
OBJETIVOS	5
CAPÍTULO I	9
RESUMO	10
ABSTRACT	11
1. INTRODUÇÃO	12
2. MATERIAL E MÉTODOS	14
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	17
4. CONCLUSÕES	25
5. REFERÊNCIAS	26
CAPÍTULO II	31
RESUMO	32
ABSTRACT	33
1. INTRODUÇÃO	34
2. MATERIAL E MÉTODOS	36
2.1 Determinação dos atributos físico-químicos do solo	37
2.2 Análise da atividade e biomassa microbiana	38
2.3 Análise de enzimas do solo	39
2.4 Análise estatística dos dados	39
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	41
3.1 Atributos físico e químicos do solo	41
3.2 Análise da atividade e biomassa microbiana	44
3.3 Análise de enzimas do solo	48
3.4 Correlação de Pearson e Análise de Redundância (RDA)	51
3 CONCLUSÕES	55
4 REFERÊNCIAS	56
CAPÍTULO III	61
RESUMO	62
ABSTRACT	63
1. INTRODUÇÃO	64
2. MATERIAL E MÉTODOS	66
2.1 Amostragens de solo e caracterização dos atributos físico-químicos	67

2.2	Análises microbiológicas	68
2.2.1	Extração de DNA das amostras de solo	68
2.2.2	Estrutura das populações microbianas por PCR-DGGE.....	68
2.2.2.1	Amplificação dos genes 16S DNAr e ITS	68
2.2.2.2	Aplicação da técnica de DGGE	69
2.2.2.3	Análise de PCR em tempo real (qPCR).....	70
2.2.3	Determinação de variáveis ambientais significativas na diversidade microbiana	71
3.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	73
3.1	Análise dos perfis das populações por DGGE	73
3.2	Quantificação das populações alvo por PCR em tempo real	77
3.3	Determinação das variáveis ambientais na diversidade de microrganismos	81
4.	CONCLUSÕES	85
5.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	86
	CONSIDERAÇÕES FINAIS	94

RESUMO

BICALHO, INGRID MARA. **Conversão de floresta de pinus em sistema plantio direto: indicadores físicos, químicos e microbianos em latossolo fase cerrado.** 2019. Uberlândia: UFU, 2019. 103 p. Tese (Doutorado em Agronomia/Solos) – Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia - MG.

Apesar do reconhecimento da importância dos microrganismos em sustentar os serviços ecossistêmicos do solo, ainda há pouca compreensão dos processos fundamentais que orientam, mantêm e afetam a diversidade microbiana no solo e o próprio papel da diversidade nos processos do solo, principalmente em razão das alterações dos sistemas de uso e manejo do solo. O objetivo do presente estudo foi verificar a interferência da substituição de floresta de pinus por sistema de plantio direto ao longo dos anos de implantação nos indicadores físicos, químicos e microbiológicos de qualidade do solo, além da interferência na estrutura, composição e abundância de microrganismos em um Latossolo Amarelo ácrico muito argiloso, fase cerrado, nas profundidades de 0,00 - 0,05 e 0,05 - 0,10 m. Para isso foram analisadas as propriedades físicas (textura, densidade do solo, macro e microporos e porosidade total), químicas (pH, P, K, Ca, Mg, Al, (H+Al), COT e N) e microbiológicas (respiração basal, biomassa microbiana, quocientes metabólico e microbiano e atividade das enzimas urease, fosfatase ácida, arilsulfatase e β -glicosidase), além das análises de PCR em tempo real para dados de abundância e PCR-DGGE para estudos de estrutura e composição de bactérias, fungos e bactérias diazotróficas. A qualidade do solo é uma função integrada de propriedades físicas, químicas e biológicas. Na conversão de áreas naturais em floresta de pinus, essas propriedades foram impactadas negativamente com a redução do nível nutricional e alteração da estrutura do solo, refletidas em menor biomassa microbiana até 10 cm de profundidade. Os indicadores físicos e químicos estudados não foram sensíveis para avaliar o impacto causado pela conversão de floresta de pinus em sistema de plantio direto de até 8 anos de idade. Entretanto, foi confirmado o efeito benéfico da adoção de sistemas mais conservacionistas com melhoria desses indicadores ao longo do tempo. O tempo de implantação do sistema de plantio direto igual a 12 anos foi o que mais se aproximou do Cerrado nos teores de carbono e características físicas do solo, bem como na atividade e biomassa microbianas. Os resultados encontrados neste trabalho refletem a menor qualidade dos solos das áreas convertidas em sistemas de cultivo, porém ressalta a importância da adoção de um sistema mais conservacionista a longo prazo, como o sistema plantio direto. Os fatores químicos analisados nesse estudo, em especial pH, Al e COT, influenciaram diretamente a estrutura, composição e abundância das populações de bactérias e fungos nas profundidades de 0,05 e 0,10 m.

Palavras-chave: sistemas de manejo do solo, indicadores microbiológicos de qualidade do solo, atividade enzimática, PCR-DGGE, qPCR, estrutura, composição e abundância de microrganismos.

ABSTRACT

BICALHO, INGRID MARA. **Conversion of Pinus forest in direct planting system: physical, chemical and microbial indicators in Typic Acrustox in the Cerrado vegetation.** 2019. Uberlandia: UFU, 2019. 103 p. Thesis (Doctorate in Agronomy/Soils) – Federal University of Uberlandia, Uberlandia – MG

Despite the acknowledgement of the importance of microorganisms to sustain the ecosystem services in soil, there's little comprehension of the fundamental processes which orient, maintain and affect the microbial diversity in soil and the role of the diversity per se in soil processes, especially due to the alterations in the systems for soil usage and management. The objective of the present study was to verify the interference of the substitution of the pinus forest by the direct planting system throughout the years of the implementation, regarding physical, chemical and microbiologic soil quality indicators, and also the interference in the structure, composition and abundance of microorganisms in yellow very argillaceous acric Latosol, in cerrado stage, in the depths of 0,00 – 0,05 and 0,05 – 0,10 m. To do so, an analysis was performed regarding physical properties (texture, soil density, macro and micropores, and total porosity) chemical properties (pH, P, K, Ca, Mg, Al, (H+Al), COT and N) and microbiologic properties (basal respiration, microbial biomass, metabolic and microbial quotients and activity of the enzymes urease, acid phosphatase, arylsulfatase and β -glycosidase) and also analysis of PCR-DGGE for studies of structure and composition of bacteria, fungi and diazotrophic bacteria. Soil quality is a function integrated by physical, chemical and biological properties. In the conversion of natural areas to pinus forests, these properties were negatively impacted with the reduction of the multinutritional level and soil structure alterations, reflected in lower microbial biomass up to 10cm in deepness. The physical and chemical indicators studied were not sensible to evaluate the impact caused by the conversion of pinus forest in direct planting system of up to the age of 8 years. However, it was confirmed the benefic effect by the adoption of more conservationist systems with improvement of these indicators through the time. The time to implement the direct planting system equal to 12 years was the closest one to cerrado in carbon content and the soil physical characteristics and in microbial biomass and activities as well. The results found in this paper reflect the lower soil quality in soils of areas converted in cultivation systems, but it highlights the importance of adopting a more conservationist system in the long term, such as the direct planting system. The chemical factors analyzed in this study, especially pH, Al and COT, influenced directly the structure, composition and abundance of bacteria and fungi communities in the depths of 0,05 and 0,10 m.

Keywords: soil management systems, microbiologic and quality soil indicators, enzymatic activities, PCR-DGGE, qPCR, microorganism structure, composition and abundance.

INTRODUÇÃO GERAL

Ecossistemas diferentes abrigam uma variedade de microrganismos com capacidade de sobreviver e prosperar sob várias condições ecológicas. O solo tipifica um dos ecossistemas mais complexos, constituindo uma enorme quantidade de massa microbiana por grama de solo. Sendo um ambiente muito heterogêneo possui múltiplos, porém, limitados recursos que variam dentro dos ecossistemas em tamanho, desde o solo de uma floresta à rizosfera de uma planta, um agregado, ou mesmo um único poro de agregado, por exemplo. Estes ecossistemas contêm áreas de atividade rica em detritos ou matéria vegetal representando, aproximadamente, 5% do volume total do solo (BATES, 2011, COELHO et al., 2008). Esses "*hotspots*" de atividade são amplamente dispersos no espaço e no tempo, mas contêm uma rica biodiversidade de organismos que controlam o ciclo biogeoquímico e a liberação de nutrientes transferidos de um ecossistema para outro por seu movimento.

Os organismos do solo são um componente integral dos ecossistemas, mas suas atividades recebem pouco reconhecimento nas estratégias de manejo agrícola. Como essas populações microbianas respondem ao manejo em áreas agrícolas é uma questão chave a ser respondida, visto esses organismos possuírem grande potencial para melhorar a prestação de serviços ecossistêmicos e demonstrar que a biodiversidade do solo promove múltiplas funções ecossistêmicas.

A ligação entre a biodiversidade e o ciclo biogeoquímico nem sempre é evidente. Muitos organismos em um solo são redundantes e servem a um propósito similar (por exemplo, os heterótrofos envolvidos na ciclagem de C), outros organismos têm maior influência sobre os processos do solo do que seus números indicariam (GELSOMINO e CACCO, 2006). Os nitrificantes, por exemplo, são organismos "chave" que controlam as transformações em uma parte do ciclo N, mas constituem menos de 1% da população microbiana total.

Os organismos do solo desempenham numerosas funções: 1) formação e renovação da matéria orgânica do solo (M.O.S.) que inclui mineralização e sequestro de carbono (C); 2) ciclagem de nutrientes; 3) transmissão e prevenção de doenças, 4) degradação de poluentes e 5) melhoria da estrutura do solo (HARRISON, 2007; ALMEIDA ET AL., 2014), entre outras. Dessas, a regulação dos ciclos biogeoquímicos

é considerada a mais importante. Os subprodutos da oxidação metabólica ou redução de compostos de C e N em solos incluem os chamados gases de efeito estufa (GEE) (MANDER et al., 2012).

As bactérias e os fungos apresentam um papel fundamental nos ciclos biogeoquímicos (KIRK et al., 2008). A ciclagem dos nutrientes depende intensamente da atividade dos microrganismos edáficos, porém, qualquer alteração no ambiente pela atividade antrópica pode alterar a diversidade e funcionalidade dos microrganismos. Nesse contexto, organismos edáficos têm sido estudados e usados como indicadores biológicos no monitoramento das alterações ambientais decorrentes do uso de práticas agrícolas (VASCONCELLOS et al., 2013; COSTA et al., 2018).

Considerando-se que os microrganismos constituem excelente indicador das condições biológicas do solo, além de seu efeito sobre a produtividade agrícola, torna-se importante o conhecimento do manejo do solo e da cobertura vegetal sobre a população microbiana (MATSUOKA et al., 2003).

Os estudos baseados em culturas, independentes de cultivo, proporcionam estudos abrangentes das mais variadas populações microbianas dentro dos diversos habitats do solo, além de permitir estudos abrangentes sobre os papéis que os mesmos desempenham. A pesquisa de características funcionais leva a uma maior compreensão dos impactos da biodiversidade nos ecossistemas. No entanto, as abordagens de características funcionais não têm sido amplamente aplicadas aos sistemas agrícolas e a compreensão da importância da agrobiodiversidade permanece limitada a alguns processos e serviços ecossistêmicos. Para melhorar essa compreensão, faz-se necessária uma abordagem de características funcionais à agroecologia que adote avanços recentes na pesquisa de características para ecossistemas multitróficos e espacialmente heterogêneos (CABALLERO, 2016).

As práticas de manejo do solo envolvem a intensidade de revolvimento, o tipo de equipamentos utilizados, as condições do solo (no momento do preparo) e o manejo de resíduos vegetais (RANJARD et al., 2000). Pesquisas diversas mostram tendência de solos sob sistemas mais conservacionistas, como sistema plantio direto apresentarem maiores valores de densidade do solo e microporosidade. Desse modo, há aumento do volume total de poros e macroporos até 15 cm de profundidade, onde, abaixo dessa camada, os valores são semelhantes ao sistema convencional (CÂMARA, 2009; DE-POLI e GUERRA, 2008).

O ambiente microbiano de solos não arados é caracterizado por uma camada de restos culturais sobre a superfície e a presença constante de resíduos radiculares não afetados pelos distúrbios provocados por equipamentos mecânicos, o que assemelha áreas de plantio direto a solos sob floresta (SANZ e KÖCHILING, 2006; WECHTER et al., 2006).

A população microbiana tende a ser maior na superfície de solos onde os resíduos não são incorporados do que sob solos arados. A camada de palhada superficial proporciona um ambiente favorável aos fungos que podem deliberar vantagens sobre as bactérias já que as hifas fúngicas não se restringem ao filme de água e podem manter seu crescimento e atividade abaixo do teor de umidade e pH (GRIFFITHS et al., 2011; HOBBIÉ, 2006). O aumento da decomposição fúngica pode ajudar na retenção da matéria orgânica pela eficiência da assimilação do carbono, que ocorre em taxas mais elevadas para fungos do que para bactérias (MOREIRA e SIQUEIRA, 2008), significando que a maior parte do carbono metabolizado pelos fungos é retido na biomassa e não liberado como CO₂.

Apesar do reconhecimento da importância dos microrganismos em sustentar os serviços ecossistêmicos do solo, ainda há pouca compreensão dos processos fundamentais que orientam, mantêm e afetam a diversidade microbiana no solo e o próprio papel da diversidade nos processos do solo (EILERS et al., 2010).

Nos últimos anos, nosso conhecimento da estrutura das populações microbianas do solo tem ganhado impulso em razão do desenvolvimento e uso de ferramentas moleculares permitindo à microbiologia relatar o que está presente no solo e a desvendar problemas-chave que incluem: 1) distribuição espacial de microrganismos do solo a nível local, regional e escalas continentais (EILERS et al., 2012), 2) distribuição da estrutura da população microbiana do solo, 3) os padrões de co-ocorrência entre o solo, bactérias, fungos e plantas e 4) a influência da mudança do uso da terra e da mudança climática na estrutura da população microbiana do solo (GRIFFITHS et al., 2011).

Ferramentas moleculares têm facilitado a investigação de populações de microrganismos locais, conhecida como diversidade alfa (número total de espécies em um habitat) (ACOSTA-MARTÍNEZ et al., 2008), regionais (diversidade gama - número total de espécies observados em todos os habitats) (DE-POLLI et al. 2009; GRIFFITHS et al., 2011) e globais (LAUBER et al., 2009). Estes estudos revelaram que as populações

microbianas exibem padrões biogeográficos e possuem semelhança com outras populações geograficamente distanciadas (MARTINY et al., 2011).

Estudos de diversidade beta (variação na composição da população) produzem percepções sobre como a diversidade é mantida. A diversidade beta pode ser impulsionada por diferenças nas condições ambientais. A visão tradicional é que os microrganismos do solo ocorram em todos os lugares (ou seja, sem limitações de dispersão) e o ambiente determina quais organismos são abundantes.

Esta visão sugere que a estrutura de uma população microbiana do solo é influenciada por fatores bióticos e abióticos, incluindo o tipo de solo, a composição mineral e textura, disponibilidade de nutrientes (C, N, S e P, entre outros), umidade, teores de oxigênio e populações vegetais associadas. Investigações recentes, no entanto, indicam que o principal influenciador das populações microbianas do solo é o pH (LAUBER et al., 2009).

Compreender como os sistemas de manejo interferem na estrutura, composição e abundância dos microrganismos do solo pode contribuir para um maior entendimento do comportamento desses no solo e das interações existentes entre ambos, além de permitir o acesso a espécies microbianas possivelmente desconhecidas. Esse conhecimento deve ser usado para desenvolver estratégias de manejo que possam ser implementadas pelos agricultores para melhor manejo das práticas agrícolas e sustentabilidade dos agrossistemas.

OBJETIVOS

O manejo do solo influencia fortemente sua biodiversidade e os ecossistemas agrícolas. Diferentes práticas de manejo causam mudanças na qualidade do habitat e na disponibilidade dos substratos, resultando em mudanças na abundância de espécies individuais. Desse modo, o objetivo geral do presente estudo foi verificar a interferência da substituição de floresta de pinus por sistema de plantio direto, ao longo dos anos de implantação, nos indicadores físicos, químicos e microbiológicos de qualidade do solo, além da interferência na estrutura, composição e abundância de microrganismos em um latossolo Amarelo ácrico de textura muito argilosa, fase cerrado, nas profundidades de 0,0 - 0,05 e 0,05 - 0,10 m. Para isso, os objetivos específicos foram:

Verificar como os sistemas de manejo florestais e plantio direto interferem em alguns atributos físicos, químicos e microbiológicos do solo;

Avaliar os impactos da substituição de florestas de pinus por sistema plantio direto na atividade, estrutura, composição e abundância de microrganismos em especial, fungos, bactérias e bactérias diazotróficas;

Avaliar como as propriedades químicas do solo interferem na estrutura, composição e abundância dos microrganismos do solo, em especial, fungos, bactérias e bactérias diazotróficas,

Estabelecer relações da profundidade com os atributos físicos, químicos e biológicos do solo e

Comparar os dados obtidos com área de referência com vegetação de cerrado.

REFERÊNCIAS

ACOSTA-MARTÍNEZ, V.; DOWD, S.; SUN, Y.; ALLEN, V. Tag-pyrosequencing analysis of bacterial diversity in a single soil type as affected by management and land use. *Soil Biology & Biochemistry*, Oxford, v. 40. p. 2762-2770. 2008.

<https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2008.07.022>

ALMEIDA, F. L.; CALONEGO, J. C.; CATUCHI, T. A.; TIRITAN, C. S.; ARAÚJO, F. F.; SILVA, P. C. G. Produtividade de soja em diferentes posições entre renques de Eucalipto em cultivo consorciado, *Colloquium Agrariae*, v. 10, n.1, p.33-44, 2014.

<https://doi.org/10.5747/ca.2014.v10.n1.a098>

BATES, S.T.; BERG-LYONS, D. B.; CAPOROSA, J.G.; WALTERS, W.A.; KNIGHT, R.; FIERER, N. Examining the global distribution of dominant archaeal populations in soils. *The ISME Journal*, v. 5, p. 908-917. 2011.

<https://doi.org/10.1038/ismej.2010.171>

CABALLERO, S. U. O nitrogênio e as plantas. 2016. Disponível em:

<http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/cana-de-acucar/arvore/CONTAG01_31_711200516717.html. Acesso em 01 de dez. 2018.

CÂMARA, G. M. S. Fisiologia da produção de soja. In: CAMARA, G. M. S (Coord.). *Soja & Cia*. Piracicaba: ESALQ/USP, p.150-179, 2009.

COELHO, D. G.; SANTOS, T. M. C.; ALBUQUERQUE, L. S. Quantificação de fungos celulolíticos em solos de três ecossistemas. *Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável*, Mossoro, v. 3, n. 1, p. 45-49. 2008.

COSTA, R. S. Variabilidade e diversidade genética de populações bacterianas associadas a rizosfera de milho (*Zea mays* L. Merrill) em um agrossistema do Rio de Janeiro. Dissertação de Mestrado - Universidade Federal do Rio de Janeiro. P.127. 2001.

COSTA, R. S. Variabilidade e diversidade genética de populações bacterianas associadas a rizosfera de milho (*Zea mays* L. Merrill) em um agrossistema do Rio de Janeiro. 2001. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2001.

DE-POLLI, H.; GUERRA, J. G. M. Carbono, nitrogênio e fosforo na biomassa microbiana do solo. In: SANTOS, G. A.; SILVA, L. S.; CANELLAS, L. P.; DEQUIEDT S, THIOULOUSE J, JOLIVET C, SABY PPA, LELIEVRE M, MARON P-A, et al. Biogeographical patterns of soil bacterial communities. *Environmental Microbiology Reports*, 1: 251-255. 2009.

<https://doi.org/10.1111/j.1758-2229.2009.00040.x>

EILERS, K.G.; DEBENPORT, S.; ANDERSON, S.; FIERER, N. Digging deeper to find unique microbial communities: the strong effect of depth on the structure of bacterial and archaeal communities in soil. *Soil Biology & Biochemistry*, Oxford, v. 50, p. 58-65. 2012.

<https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2012.03.011>

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

<https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2010.02.003>

GELSOMINO, A.; CACCO, G. Compositional shifts of bacterial groups in a solarized and amended soil as determined by denaturing gradient gel electrophoresis. *Soil Biological Biochemical*, v. 38, p. 91-102. 2006.

<https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2005.04.021>

GRIFFITHS, R.I.; THOMSON, B.C.; JAMES, P.; BELL, T.; BAILEY, M.; WHITELEY, A.S. The bacterial biogeography of British soils. *Environmental Microbiology*, v. 13, p. 1642-1654. 2011.

<https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2011.02480.x>

HARRISON, J.J.; CERI, H.; TURNER, R. Multiresistance and tolerance in microbial biofilms. *Nature Reviews in Microbiology*, v. 5 p. 928-938. 2007.

<https://doi.org/10.1038/nrmicro1774>

HOBBIE, E.A. Carbon allocation to ectomycorrhizal fungi correlates with total below ground allocation in culture studies. *Ecology*, v. 87 p. 563-569. 2006.

<https://doi.org/10.1890/05-0755>

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

<https://doi.org/10.1128/AEM.00335-09>

MANDER, C.; WAKELIN, S.; YOUNG, S.; CONDRON, L.; O'CALLAGHAN, M. Incidence and diversity of phosphate-solubilising bacteria are linked to phosphorus status in grassland soils. *Soil Biology & Biochemistry*, v. 44 p. 93-101. 2012.

<https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2011.09.009>

MARTINY, J.B.H.; EISEN, J.A.; PENN, K.; ALLISON, S.D.; HORNER-DEVINE, M.C. Drivers of β -diversity depend on spatial scale. *Proceedings of the National Academy of Sciences (USA)*, v. 108, p. 7850-7854. 2011.

<https://doi.org/10.1073/pnas.1016308108>

MATSUOKA, M.; MENDES, I. C.; LOUREIRO, M. F. R. Biomassa microbiana e atividade enzimática em solos sob vegetação nativa e sistemas agrícolas anuais e

perenes na região de Primavera do Leste. Revista Brasileira Ciência do Solo, v. 27, p. 425-433, 2003.

<https://doi.org/10.1590/S0100-06832003000300004>

MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O.; BRUSSAARD, L. Biodiversidade do solo em ecossistemas brasileiros. Lavras: Ed. UFLA, p. 768, 2008.

RANJARD, L.; POLY, F.; NAZARET, S. Monitoring complex bacterial communities using culture-independent molecular techniques: application to soil environment. Research Microbiology, v. 151 (3), p. 167-177. 2000.

[https://doi.org/10.1016/S0923-2508\(00\)00136-4](https://doi.org/10.1016/S0923-2508(00)00136-4)

SANZ, J. L; KÖCHILING, T.; Molecular biology techniques used in wastewater treatment: An overview. Process Biochemistry, v. 22 p. 61-76. 2006

VASCONCELLOS, R. L.; SEGAT, J. C.; BONFIM, J. A.; BARETTA, D.; CARDOSO, E. J. B. N. Soil macrofauna as an indicator of soil quality in an undisturbed riparian forest and recovering sites of different ages. European Journal of Soil Biology, v. 58, p. 105-112, 2013.

<https://doi.org/10.1016/j.ejsobi.2013.07.001>

WECHTER, P.; WILLIAMSON, J.; ROBERTON, A.; KLUEPFEL, D. A rapid, cost-effective procedure for the extraction of microbial DNA from soil. Journal of Microbiology & Biotechnology. V. 19, p. 85-91, 2006.

<https://doi.org/10.1023/A:1022587806945>

CAPÍTULO I

EFEITO DA SUBSTITUIÇÃO DE SISTEMA FLORESTAL POR PLANTIO DIRETO NOS INDICADORES QUÍMICOS E FÍSICOS DO SOLO

RESUMO

BICALHO, INGRID MARA. **Efeito da substituição de sistema florestal por plantio direto nos indicadores químicos e físicos do solo.** 2019. Uberlândia: UFU, 2019. p.8 - 27. Tese (Doutorado em Agronomia/Fitotecnia) – Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia - MG.

A intensificação do uso da terra para fins agrícolas tem gerado muitos impactos negativos sobre as propriedades físicas, químicas e biológicas do solo, afetando o funcionamento e os processos ecológicos. O objetivo desse trabalho foi avaliar o impacto causado pela substituição de floresta de pinus por sistema de plantio direto nos indicadores físicos e químicos de qualidade do solo em duas profundidades (0,0 – 0,05 e 0,05 a 0,10 m). O solo se enquadra na classe Latossolo Amarelo ácrico típico textura muito argilosa. As amostras foram submetidas às análises físicas de textura, densidade do solo, macroporos, microporos e porosidade total e às análises químicas de pH, Al, (H+Al), P, K, Ca, Mg, C, N. Para frações orgânicas do solo foram feitas análises de carbono orgânico do solo (COT), C solúvel e substâncias húmicas (ácido húmico, ácido fúlvico e humina). Não foram observadas diferenças estatísticas significativas entre as profundidades de estudo. A substituição da floresta de pinus por sistema de plantio direto levou a uma alteração nas propriedades físicas do solo com aumento da microporosidade e densidade do solo. Os indicadores químicos se mostram mais sensíveis às variações causadas pela mudança de uso do solo. Houve predomínio da fração humina, cujo conteúdo foi significativamente maior no sistema plantio direto com 12 anos de implantação. As áreas se agrupam de modo que o cerrado se distancia dos sistemas de uso, indicando efeito negativo dos sistemas em questão quanto às características físicas e químicas.

Palavras-chave: propriedades físicas e químicas do solo, frações húmicas, sistema de plantio direto, floresta de pinus, cerrado.

ABSTRACT

BICALHO, INGRID MARA. **Effect of substitution of the forest system by direct planting in chemical and physical indicators in soil.** 2019. Uberlandia: UFU, 2019. P. 8 – 27. Thesis (Doctorate in Agronomy/Phytotehcny) – Federal University of Uberlandia, Uberlandia.

The intensification of the land usage to agricultural means generated many negative impacts regarding physical, chemical and biologic soil properties, affecting its functioning and ecologic processes. The objective of this paper was to evaluate the impact caused by the substitution of pinus forests by the direct planting system regarding physical and chemical soil indicators in twodepths (0.0 – 0,05 and 0,05 a 0,10 m). The soil is classified as yellow typical acric latosol with very argillaceous texture. The samples were submitted to physical analysis to measure texture, soil density, macropores, micropores and total porosity and chemical analysis to measure pH, Al (H+Al), P, K, Ca, Mg, C, N. In the organic soil fractions, it was analyzed for soil organic carbon (COt), soluble C and humic substances (humic acid, fulvic acid and humin). It was not observed any significant statistical differences between the studied depths. The substitution of pinus forests by direct planting system caused alteration in the soil physical properties, with the increase of soil microporosity and density. The chemical indicators showed up as more sensible to variations caused by the change of use in the soil. There was predominance of the humin fraction, which content was significantly greater in the direct planting with 12 years of implantation. The areas are grouped in a way that the cerrado is distant from the use systems, indicating negative effect in the given systems regarding chemical and physical characteristics.

Keywords: soil chemical and physical properties, humic fractions, direct planting system, pinus forest, cerrado.

1. INTRODUÇÃO

Os impactos humanos sobre os solos, em grande parte, emergem da necessidade de atender às demandas de alimentos, fibras e combustíveis de uma população crescente, mediante a conversão de áreas de vegetação nativa em áreas agrícolas.

No cerrado, as atividades agrícolas foram intensificadas na década de 80 e 90 com a produção de grãos e florestas comerciais de espécies exóticas como eucalipto e pinus (SMITH et al., 2012). No entanto, essa alteração levou à degradação de muitos solos com a perda, principalmente, de matéria orgânica e impacto importante sobre as propriedades físico-químicas.

As florestas plantadas ocupam no Brasil 7,84 milhões de hectares representando menos de 1% do território nacional e sendo responsáveis por 90% de toda madeira utilizada para fins produtivos, isso, graças a utilização de avançadas técnicas de manejo sustentável, que contribuem para a conservação da biodiversidade, preservação do solo, regulação dos recursos hídricos, recuperação de áreas degradadas e geração de energia renovável. Entretanto, com a redução nas demandas de consumo por carvão, a retração da indústria siderúrgica e a crescente demanda por áreas agrícolas para produção de alimentos, os incentivos para o plantio de florestas foram reduzidos e vem ocorrendo uma gradual substituição dessas áreas pela agricultura extensiva (LATHAM et al., 2014).

Os ecossistemas florestais desempenham importante papel no armazenamento de carbono, reduzindo emissões de gás carbônico para a atmosfera. A substituição de espécies florestais exóticas por sistema de plantio direto modifica a entrada anual de matéria orgânica, tanto qualitativa quanto quantitativamente (BAI et al., 2008). Como consequência, há alterações na atividade biológica, nos processos de biodegradação e mineralização da matéria orgânica, bem como na liberação, mobilidade e ciclagem de nutrientes.

Como um estado de função complexo, a qualidade do solo não pode ser medida diretamente (CORINGA et al., 2012), mas pode ser inferida a partir de parâmetros de qualidade do solo que são propriedades mensuráveis. Para a avaliação da intensidade desses efeitos faz-se necessária a avaliação de algumas propriedades físicas e químicas do solo que podem ser direta ou indiretamente afetadas pelo sistema de manejo (NOLTE et al., 2013) e mensurar a qualidade do solo mediante determinado manejo.

Muitas vezes é difícil separar claramente as funções do solo em processos químicos, físicos e biológicos devido à natureza dinâmica e interativa desses processos. Essa interconexão é proeminente entre indicadores químicos e físicos de qualidade que determinam a capacidade de retenção, fornecimento e ciclo de nutrientes no solo, o movimento e a disponibilidade de água, interferindo em relações nutricionais e afetando a atividade biológica dos microrganismos do solo (NOLTE et al., 2013).

O objetivo deste trabalho foi avaliar o impacto causado pela substituição de floresta de pinus por sistema de plantio direto nos indicadores físicos e químicos de qualidade do solo em duas profundidades (0,0 – 0,05 e 0,05 a 0,10 m).

2. MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa foi realizada a campo numa fazenda (Floresta do Lobo) no município de Uberlândia, no Estado de Minas Gerais (MG). O clima da região é definido como Cwa de acordo com a classificação de Köppen (1923), apresentando verão quente e chuvoso e inverno seco, com duas estações bem definidas, uma quente e chuvosa e outra fria e seca sendo a temperatura do mês mais quente superior a 22°C. Amostras de solos foram coletadas em duas profundidades (0,00 – 0,05 e 0,05 – 0,10 m) sob diferentes sistemas e históricos de uso, a saber: área de cerrado; área de pinus recentemente cortada, após 40 anos de plantio; e quatro áreas de plantio direto (SPD) com 1, 3, 8 e 12 anos após o uso com pinus. Os solos possuem a mesma textura (muito argilosa). A caracterização das áreas de estudo está na tabela 1.

Tabela 1. Caracterização das áreas de estudo.

Sistema de uso	Coordenadas	Área total --- ha ---	Altitude --- m ---
Cerrado	19°05'41" S 48°09'33" W	113	950
Pinus	19°04'49" S 48°08'45" W	9,5	964
SPD 1 ano	19°05'22" S 48°09'57" W	27,7	965
SPD 3 anos	19°04'35" S 48°08'53" W	28,16	968
SPD 8 anos	19°02'49" S 48°07'01" W	154	965
SPD 12 anos	19°03'39" S 48°08'44" W	65	954

As amostragens foram realizadas em março de 2018 em duas profundidades 0-0,05 e 0,05-0,10 m por ser a região do solo que abriga a maior quantidade de microrganismos biologicamente ativos e por ser a região que mais sofre com as alterações diárias de temperatura e umidade, conforme recomendado por David (2012). Foram coletadas 3 amostras compostas em cada área. Para as amostragens (FIGURA 1) foram traçados dois transectos perpendiculares entre si e marcados os cinco pontos. Cerca de 1 m ao redor destes foram coletadas cinco amostras simples distanciadas do ponto central em aproximadamente 1 m. As amostras compostas continham aproximadamente 500 g de solo.



Fig. 1. Localização das áreas de estudo: 1 – Cerrado; 2 – Pinus; 3 – Sistema de Plantio direto (SPD) 1 ano; 4 – SPD 3 anos, 5 – SPD 8 anos e 6 – SPD 12 anos. Latossolo Amarelo ácrico típico textura muito argilosa.

Desta forma o delineamento foi composto por seis locais de amostragem, duas profundidades e três repetições totalizando 36 amostras.

Após a coleta, as amostras foram acondicionadas em sacos plásticos, devidamente identificados e encaminhadas para preparo (peneiradas a 4 mm) e análises físicas e químicas. As amostras foram armazenadas sob refrigeração a temperatura de 8°C.

Para a determinação dos atributos físicos do solo (textura, densidade do solo, macro e microporos e porosidade total, foram retiradas três amostras indeformadas de cada área na profundidade de 0,0 – 0,05 e 0,05 – 0,10 m. As características físicas determinadas foram: textura, pelo método da pipeta; porosidade (macro e microporos), pelo método da mesa de tensão e densidade do solo, pelo método do anel volumétrico, conforme Embrapa (2013).

Todas as análises químicas foram realizadas de acordo com metodologia proposta pela Embrapa (2011). Foram realizadas as seguintes análises: pH em água na relação solo-solução de 1:2,5, Carbono orgânico total do solo (COT) determinado por oxidação com dicromato de potássio (YEOMANS; BREMNER, 1988); fósforo (P) e potássio (K⁺) disponíveis foram extraídos com H₂SO₄ 0,025 mol L⁻¹ + HCl 0,05 mol L⁻¹ (extrator Mehlich⁻¹), acidez potencial (H⁺+Al³⁺) com a solução tampão SMP, nitrogênio total (N)

pelo método Kjeldahl (BLACK, 1965), cálcio (Ca^{2+}), magnésio (Mg^{2+}) e alumínio trocável (Al^{3+}) extraídos com a solução de KCl ($1,0 \text{ mol L}^{-1}$).

Para extração e fracionamento químico da matéria orgânica [C solúvel em água - CSA, matérias húmicas (ácidos fúlvicos - CAF, ácidos húmicos - CAH) e humina - CHU], foi utilizado o método adaptado de Schnitzer (1982), que consiste nos seguintes procedimentos: 10,0 g de TFSA (Terra Fina Seca ao Ar) colocados em tubo de centrífuga com 50,0 mL de água deionizada e agitados por 30 minutos e centrifugados por 20 minutos, a 13.232g. Posteriormente, transferiu-se o sobrenadante para um frasco (C solúvel em água). O material retido no tubo foi recolado em suspensão com 25,0 mL de NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ em agitador horizontal por uma hora e centrifugado por 12 minutos a 10.131g. Em sequência, 100 mL do sobrenadante (matérias húmicas) foram novamente colocados no tubo de centrífuga e ajustou-se o pH com HCl $6,0 \text{ mol L}^{-1}$ até 2,0, deixando a solução em repouso por 30 minutos e, posteriormente centrifugando por 10 minutos a 5.168g. O sobrenadante (ácidos fúlvicos) foi transferido em frascos e o precipitado (ácidos húmicos) foi recolado em suspensão com 25,0 mL de NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. A fração humina foi calculada pela diferença entre o C orgânico (Walkley-Black) e C encontrado na fração matérias húmicas.

As propriedades do solo foram analisadas por meio da análise de variância e as diferenças significativas entre as médias foram avaliadas pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de significância, utilizando o software SISVAR (FERREIRA, 2011). Para verificar a interferência dos atributos físicos e químicos no comportamento das áreas estudadas foram realizadas análises de componentes principais (ACP) pelo software Canoco 4.5.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados referentes às avaliações físicas encontram-se na tabela 2. Não foram observadas diferenças estatísticas significativas entre as profundidades avaliadas. Apenas a microporosidade do solo mostrou sensibilidade em relação aos sistemas de manejo, sendo os maiores valores observados para o sistema de plantio direto (em ambas profundidades) com idades de 1 e 3 anos de implantação.

Tabela 2. Alteração das propriedades físicas das áreas de estudo nas camadas de 0,0 – 0,05 e 0,05 – 0,10 m de profundidade, sob cerrado, floresta de pinus e sistema de plantio direto com diferentes idades.

Sistemas	Areia	Silte --- g kg ⁻¹ ---	Argila	Textura	Ds --- g cm ⁻³ ---	Macro --- (%) ---	Micro --- (%) ---	Pt --- (%) ---
Profundidade					0,0 – 0,05 m			
Cerrado	185,6	171,0	643,4	Muito argilosa	0,821 A a	29,990 A a	23,437 B a	53,427 A a
Pinus	187,0	166,3	646,7	Muito argilosa	0,808 A a	25,437 A a	27,864 AB a	53,30 A a
SPD 1 ano	176,0	180,7	643,3	Muito argilosa	0,841 A a	12,201 A a	39,540 A a	51,741 A a
SPD 3 anos	188,9	173,0	638,1	Muito argilosa	1,013 A a	9,629 A a	39,993 A a	49,622 A a
SPD 8 anos	183,4	184,6	632,0	Muito argilosa	1,124 A a	7,956 A a	37,790 AB a	45,746 A a
SPD 12 anos	180,8	140,1	679,1	Muito argilosa	0,852 A a	18,831 A a	35,228 AB a	54,059 A a
Média	183,61	169,3	647,1	-	0,910	17,340	33,975	51,316
Profundidade					0,05 – 0,10 m			
Cerrado	183,4	169,8	646,8	Muito argilosa	0,930 A a	20,519 A a	32,453 A a	52,972 A a
Pinus	184,2	165,2	650,6	Muito argilosa	0,796 A a	14,044 A a	29,975 A a	44,019 A a
SPD 1 ano	174,3	179,2	646,5	Muito argilosa	0,880 A a	12,098 A a	36,026 A a	48,124 A a
SPD 3 anos	186,5	171,0	642,5	Muito argilosa	0,952 A a	12,077 A a	34,867 A a	46,945 A a
SPD 8 anos	181,8	183,6	634,6	Muito argilosa	1,085 A a	8,460 A a	36,841 A a	45,301 A a
SPD 12 anos	182,8	139,0	678,2	Muito argilosa	0,898 A a	13,953 A a	34,712 A a	48,665 A a
Média	182,1	167,9	649,8	-	0,923	13,525	34,146	47,671
C.V. (%)	12,41	14,55	11,44 a	-	15,58	57,65	12,78	12,21

*letras maiúsculas iguais na coluna (dentro de uma profundidade) e minúsculas iguais na coluna (entre profundidades) não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 0,05 de significância.

A textura do solo é a propriedade física que influencia a maioria das outras propriedades e processos que ocorrem no solo (AHERNE e POSCH, 2013).

Solos mais argilosos estabelecem relações de proteção física e química às substâncias húmicas garantindo uma estabilidade maior à estrutura (BADINI et al., 2007;

ALEXANDER, 2012; ALAKUKKU, 2012) e permitindo maiores teores de carbono orgânico total (COT).

A densidade do solo varia entre solos de diferentes texturas, estruturas e conteúdo de matéria orgânica dentro de um determinado tipo de solo (BATEY, 2009) e pode ser usada para monitorar o grau de compactação do solo (BENDER e WEIGEL, 2011; BERENGUER et al., 2014). Embora não tenham sido observadas diferenças significativas entre as densidades do solo nos sistemas avaliados, é possível observar que a implantação do sistema plantio direto levou a aumento nos valores de densidade em relação àqueles encontrados na floresta de pinus onde os solos são mais soltos e porosos.

Dos indicadores físicos do solo mostrados na tabela 2, observa-se diferença estatística apenas para microporos entre os sistemas. No solo sob plantio direto (PD) foi constatado maior volume de microporos do que sob o cerrado. Esta diferença não foi observada para o pinus quando comparado com PD e cerrado. O aumento de microporos pode ser um indicativo importante em sistemas agrícolas, pois com implicações relevantes na retenção de água no solo, diminuir a lixiviação de nutrientes e melhorar os atributos microbiológicos do solo (BLANCO-CANQUI e LAL, 2008; BRYAN et al., 2013; BARCENA, et al., 2014). No entanto, essa alteração foi observada apenas na profundidade 0-5 cm de profundidade no solo.

A substituição do sistema florestal pelo plantio direto levou a alterações na distribuição de macro e microporos do solo, sendo observadas reduções de 52% nos percentuais de macroporos e aumento de 41% no percentual de microporos no sistema plantio direto com apenas 1 ano de implantação, confirmando o efeito negativo das práticas de preparo e correção nas propriedades físicas do solo. Esse aumento no percentual de microporos está associado à compactação do solo e aumento da densidade aparente, conforme podemos verificar na tabela 1. Solos com elevados percentuais de microporos podem interferir negativamente no desenvolvimento radicular das culturas, no trânsito de animais da macro e mesofauna do solo, na infiltração e condução de água *em subsuperfície*, nas trocas gasosas do solo e atmosfera e conseqüentemente no desenvolvimento e produtividade das culturas (CARLSON e CURRAN, 2013; DALAL et al., 2013; DELGADO-BAQUERIZO et al., 2013).

Entretanto, a prática continuada do sistema de manejo plantio direto por 12 anos de implantação, levou a uma melhoria na distribuição de macro e microporos, sendo observados aumento de 54% no percentual de macroporos e redução de 11% nos

microporos em relação ao sistema recém implantado com 1 ano de uso. Esses dados confirmam o efeito benéfico do sistema plantio direto em propriedades físicas do solo. Tendência semelhante foi encontrada na camada de 0,05 a 0,1 m, embora não tenham sido observadas diferenças estatísticas significativas entre as áreas de estudo.

Os dados referentes aos atributos químicos desse estudo encontram-se na tabela 3. De uma maneira geral, as profundidades de estudo não influenciaram nos teores avaliados, exceto para fósforo (P) e potássio (K) dentro de uma mesma área de estudo.

Tabela 3. Propriedades químicas das áreas de estudo nas camadas de 0,0 – 0,05 e 0,05 – 0,10 m de profundidade, sob floresta de pinus e sistema de plantio direto com diferentes idades em relação a solo sob cerrado.

Sistemas	Cerrado	Pinus	Sistema plantio direto				C.V. (%)
			1 ano	3 anos	8 anos	12 anos	
Profundidade			0,0 – 0,05 m				
pH (H ₂ O)	4,9 CD a	4,0 D a	5,25 BC a	5,55 AB a	6,15 A a	6,15 A a	6,19
COT (g kg ⁻¹)	11,98 AB a	9,86 BC a	7,44 C a	10,86 BC a	12,56 AB a	14,88 A a	14,13
N.T. (g kg ⁻¹)	2,21 A a	0,72 C a	0,80 C a	0,83 C a	1,05 B a	1,02 B a	5,50
C/N	5,42 C a	13,61 AB a	9,27 BC a	13,04 AB a	11,90 AB a	14,58 A a	17,58
P (mg kg ⁻¹)	0,30 B a	0,15 B a	0,55 B a	1,00 B a	1,35 B a	14,8 A a	43,81
K (cmolc dm ⁻³)	0,11 B a	0,08 B a	0,26 A a	0,28 A a	0,25 A a	0,29 A a	7,55
Ca (cmolc dm ⁻³)	0,65 C a	0,70 C a	3,8 B a	4,6 B a	4,7 B a	7,05 A a	15,82
Mg (cmolc dm ⁻³)	0,18 C a	0,12 C a	0,78 B a	1,30 AB a	1,25 AB a	1,75 A a	17,15
Al (cmolc dm ⁻³)	1,55 B a	0,87 AB a	0,25 A a	0,30 A a	0,25 A a	0,20 A a	40,94
H + Al (cmolc dm ⁻³)	7,85 D a	5,85 CD a	4,5 BC a	4,2 BC a	2,00 AB a	2,75 A a	16,81
SB (cmolc dm ⁻³)	0,94 C a	0,90 C a	4,84 B a	6,18 B a	6,20 B a	9,09 A a	13,93
CTC (cmolc dm ⁻³)	8,79 AB a	6,75 B a	9,34 A a	10,38 A a	8,95 AB a	11,09 A a	12,56
V (%)	10,69 C a	13,40 C a	51,27 B a	59,98 B a	69,28 AB a	81,93 A a	11,48
m (%)	61,98 A a	49,06 A a	5,29 B a	4,64 B a	2,17 B a	3,88 B a	23,38
Profundidade			0,05 – 0,1 m				
pH (H ₂ O)	4,7 BC a	4,0 C a	5,3 AB a	5,65 AB a	6,20 A a	6,25 A a	-
COT (g kg ⁻¹)	13,82 A a	13,00 A a	8,31 C a	8,89 BC a	12,56 AB a	9,95 BC a	-
N.T. (g kg ⁻¹)	2,09 A a	0,66 C a	0,76 C a	0,80 C a	1,01 B a	1,01 B a	-
C/N	6,02 B a	15,12 A a	10,90 AB a	11,14 A a	12,85 A a	13,65 A a	-
P (mg kg ⁻¹)	0,1 B a	0,15 B a	0,55 B a	1,25 B a	1,35 B a	5,4 A b	-
K (mg kg ⁻¹)	0,08 B a	0,07 B a	0,22 A b	0,22 A b	0,25 A a	0,26 A b	-
Ca (cmolc dm ⁻³)	0,75 C a	0,45 C a	3,65 B a	3,75 B a	4,3 B a	6,40 A a	-
Mg (cmolc dm ⁻³)	0,16 C a	0,10 C a	1,10 B a	1,15 B a	1,45 B a	2,10 A a	-
Al (cmolc dm ⁻³)	1,40 B a	0,62 A a	0,27 A a	0,35 A a	0,20 A a	0,22 A a	-
H + Al (cmolc dm ⁻³)	5,95 B b	5,45 B a	4,55 B a	4,50 B a	3,55 AB a	1,95 A a	-
SB (cmolc dm ⁻³)	1,00 C a	0,62 C a	4,97 B a	5,12 B a	6,01 B a	8,75 A a	-
CTC (cmolc dm ⁻³)	9,95 B b	6,07 B a	9,52 A a	9,62 A a	9,56 A a	10,70 A a	-
V (%)	14,66 C a	10,29 C a	51,85 B a	53,83 B a	62,63 AB a	81,75 A a	-
m (%)	56,78 A a	49,05 A a	5,49 B a	6,40 B a	2,23 B a	3,58 B a	-

*médias seguidas de letras maiúsculas iguais na linha e minúsculas iguais na coluna (diferentes profundidades) são estatisticamente iguais de acordo com o teste de Tukey a 0,05 de significância.

Os indicadores químicos se mostraram mais sensíveis às variações causadas pela mudança de uso do solo que os indicadores físicos. Independente da profundidade de estudo, os solos sob cerrado apresentaram baixa fertilidade natural com teores de nutrientes (P, K, Ca e Mg) considerados baixos e teor de Al trocável considerado alto (superior a 1,0 cmolc dm⁻³) (CFSEMG, 1999).

O pH do solo variou de 4,0 na área de pinus a 6,15 nas áreas de plantio direto. Como essas áreas são manejadas anualmente em razão da atividade agrícola esses resultados já eram esperados. O pH na área de cerrado ficou em torno de 4,9 típico dos solos de cerrado, caracterizados por baixa fertilidade natural e acidez elevada (MENDES et al., 2012). O pH influencia no ciclo e disponibilidade de nutrientes, nas reações químicas e biológicas que ocorrem no solo, na diversidade e atividade dos microrganismos do solo (MOREIRA e SIQUEIRA, 2006).

Os menores valores de pH e nutrientes trocáveis (P, K, Ca e Mg) foram encontrados no solo sob floresta de pinus em comparação ao sistema de plantio direto. Decréscimos no pH e nos teores de bases em plantações de pinus podem ser explicados em razão da liberação de ácidos orgânicos por acículas em decomposição e a maior adsorção de cátions em relação aos ânions (HENDERSON et al., 2015). Ademais, em plantios dessa espécie florestal o acúmulo de acículas na superfície do solo promove a retenção de quantidades consideráveis de nutrientes na serapilheira, alterando o equilíbrio solo-planta (ESHEL et al., 2014).

A acidez potencial ($H + Al$) variou de 2,0 a 7,85 $cmolc\ dm^{-3}$, sendo os maiores valores encontrados na área de cerrado e os menores encontrados nas áreas de plantio direto. Os teores de alumínio trocável variam entre 1,55 $cmolc\ dm^{-3}$ (cerrado) e 0,2 $cmolc\ dm^{-3}$ (Plantio direto). Na área de pinus a acidez potencial ficou em torno de 5,85 $cmolc\ dm^{-3}$. Como as áreas de plantio direto são constantemente manejadas a fim de correção de solo e aplicação de insumos agrícolas, os menores valores de acidez potencial nessas áreas já eram esperados.

Os solos do cerrado apresentam baixa fertilidade natural e elevada acidez. Nas áreas de pinus e cerrado mais de 80% da acidez potencial tem origem no H^+ presente no solo, sendo a concentração de alumínio dessas áreas 0,87 e 1,55 $cmolc\ dm^{-3}$, respectivamente. Com a prática da calagem nas áreas de plantio direto, o alumínio não representa limitação ao desenvolvimento das culturas, sendo a concentração desse elemento de 0,25, 0,30, 0,25 e 0,20, respectivamente para os sistemas de plantio direto com 1, 3, 8 e 12 anos. Em Latossolos, o alumínio bloqueia as cargas negativas, interferindo na dinâmica da CTC e na disponibilidade das bases, favorecendo e até promovendo a lixiviação das mesmas (ESHEL et al., 2014).

As áreas também se distinguiram com relação às concentrações de P, K, Ca e Mg, sendo os menores valores encontrados no solo sob pinus em relação às demais áreas de

estudo. Em algumas áreas de plantio direto a concentração dessas bases chegou a ser 10 vezes superior em relação à área de pinus em razão da prática frequente de calagem e adubações. O suprimento de nutrientes pode melhorar o crescimento das plantas, o que aumenta a matéria orgânica e que, por sua vez, pode melhorar a qualidade do solo. Portanto, o fornecimento equilibrado de nutrientes tem um impacto positivo sobre os solos (SMITH et al, 2015).

Embora não tenham sido observadas diferenças estatísticas significativas entre as áreas de estudo com relação à profundidade, foram observadas perdas de aproximadamente 50% nos teores de nitrogênio entre os sistemas avaliados em comparação com a área de cerrado. Por ser o nutriente requerido em maior quantidade pelas plantas, esse elemento pode ser um regulador das atividades metabólicas dos solos de regiões tropicais (RAMIREZ et al., 2010; RAMIREZ et al., 2012).

A área de plantio direto com um ano de implantação apresentou os menores teores de carbono orgânico total ($7,44 \text{ g kg}^{-1}$) tendo uma redução de 25% em relação à área de pinus. Se compararmos a área de plantio direto mais recente com a área de referência, o cerrado, nota-se que essa redução foi próxima dos 40%. O preparo da área para a implantação do sistema plantio direto envolve operações de aração e gradagem que resultam em perdas líquidas de carbono porque aumentam as perturbações do solo e interferem negativamente na estabilidade dos agregados, além de aumentarem a disponibilidade de carbono lábil para os decompositores (DITTMAR et al., 2012; CHOUDHURY et al., 2014). O carbono orgânico presente no solo é muito sensível às atividades de manejo podendo ser facilmente oxidado devido as atividades de preparo do solo. A riqueza de espécies vegetais existentes na área de cerrado em relação à área de pinus contribui para um maior percentual de carbono orgânico nesse local (DON et al., 2011; EL-MASRI et al., 2013).

No plantio de pinus, ocorrem reduções significativas nos teores de matéria orgânica em relação às áreas de cerrado. Essas reduções estão associadas à oxidação biológica da matéria orgânica original do solo causada pelo seu preparo e cultivo, ao declínio inicial da produção de serapilheira e às mudanças em sua composição qualitativa que ocorrem em razão do plantio de espécies florestais (BADDELEY et al., 2017).

A continuidade da prática do sistema de plantio direto tende a promover uma recuperação nos conteúdos de carbono orgânico do solo. O não revolvimento e a permanência dos restos culturais leva a aumentos gradativos nos teores de COT, sendo

observado aumento de cerca de 45, 68 e 100% nos teores de carbono orgânico nas áreas de plantio direto com 3, 8 e 12 anos de implantação, respectivamente na camada mais superficial do estudo (0,00 – 0,05 m), sendo esse resultado superior, inclusive, à área de cerrado tida como referência para esse estudo e que apresentou um conteúdo de carbono 20% inferior à área de 12 anos de plantio direto. A qualidade do material vegetal utilizado para formar a palhada pode interferir positivamente nos teores de carbono orgânico no solo (CHOUDHURY et al., 2014; SAMUEL, et al., 2018).

Encontramos maior relação C/N no plantio de pinus (13,61) e nas áreas de plantio direto com 1, 3, 8 e 12 anos (9,27; 13,04; 11,90 e 14,58, respectivamente) em relação ao cerrado (5,42). Embora o pinus seja uma espécie eficiente com alto uso de nutrientes e grande produção de biomassa, suas folhas possuem baixa concentração de nitrogênio (COYLE et al., 2016) assim como os materiais utilizados para palhada nas áreas de plantio direto.

A figura 2 mostra a análise de componentes principais (ACP), onde podemos discriminar três grupos distintos do ponto de vista físico-químico do solo, considerando os dois primeiros eixos que juntos explicam mais de 90% das informações, sendo o eixo 1 com alto percentual (77,3 e 84,2%, respectivamente para as profundidades de 0 – 0,05 e 0,05 – 0,1 m) de explicação e o eixo 2 com um baixo percentual (11,4 e 7,2%, respectivamente para as duas profundidades avaliadas) das variações representadas.

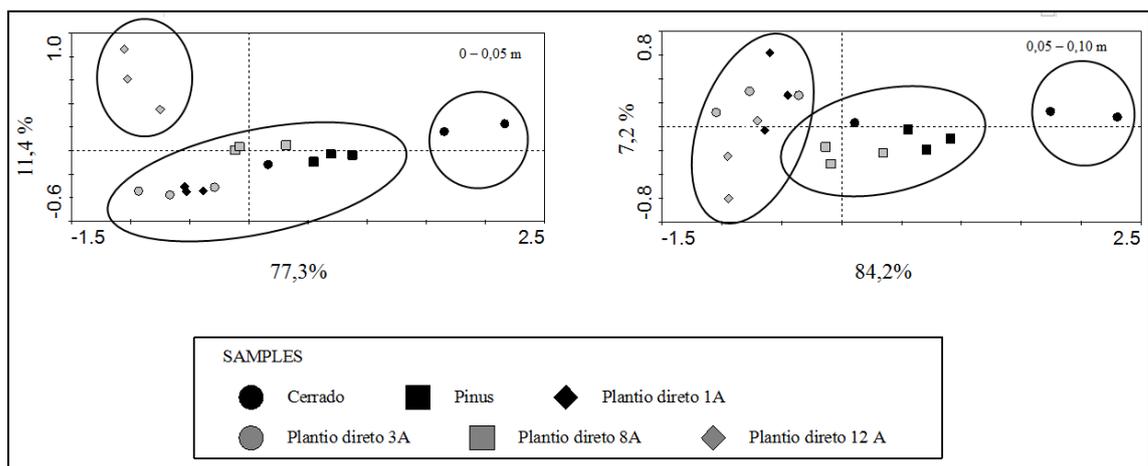


Figura 2. Análise de componentes principais das áreas avaliadas, nas profundidades de 0,0 – 0,05 e 0,05 – 0,10 m utilizando variáveis químicas (pH, P, K, Ca, Mg, Al, (H+Al), COT, NT e C/N) e físicas (densidade do solo, macro e microporos e porosidade total).

De uma maneira geral, o comportamento das amostras foi semelhante nas duas profundidades analisadas, sendo que as áreas agrícolas se agruparam próximas a valores negativos, à exceção do plantio direto instalado há 12 anos que, na profundidade de 0,0 – 0,05 m, se agrupou em valores positivos no eixo. Na camada de 0,05 – 0,10 m não houve essa distinção em plantio direto de 12 anos e as demais áreas de uso agrícola, havendo separação entre essas áreas e a área de cerrado. As práticas de manejo que envolvem alterações nas características físicas e químicas do solo contribuem de maneira negativa para o equilíbrio das características físicas e químicas dessas áreas.

Analisando as frações da matéria orgânica (TABELA 4), verificou-se o predomínio da fração humina, seguida pelas frações ácidos fúlvicos e húmicos, sendo significativamente maior na área sob plantio direto com 12 anos de implantação.

Tabela 4. Substâncias húmicas de um Latossolo Amarelo ácrico típico, nas profundidades de 0,0 – 0,05 e 0,05 – 0,10 m, sob cerrado, pinus e Plantio direto com diferentes anos de implantação.

Áreas	C (solúvel em água)	Humina	Ácido húmico	Ácido fúlvico
g.kg ⁻¹				
Profundidade 0,00 – 0,05 m				
Cerrado	0,84 A a	10,38 AB a	0,38 B a	1,22 B a
Pinus	0,73 A a	8,14 BC a	0,37 B a	1,35 B a
SPD 1 ano	0,69 A a	5,92 C a	0,37 B a	1,15 B a
SPD 3 anos	0,67 A a	9,11 BC a	0,46 B a	1,28 B a
SPD 8 anos	0,79 A a	10,76 AB a	0,45 B a	1,35 B a
SPD 12 anos	0,82 A a	11,36 A a	1,00 A a	2,51 A a
Profundidade 0,05 – 0,10 m				
Cerrado	0,89 A a	11,98 A a	0,43 B a	1,41 A a
Pinus	0,82 A a	10,73 A a	0,49 B a	1,78 A a
SPD 1 ano	0,62 A a	6,61 C a	0,42 B a	1,28 A a
SPD 3 anos	0,59 A a	7,46 BC a	0,38 B a	1,05 B a
SPD 8 anos	0,75 A a	10,76 AB a	0,45 B a	1,35 A a
SPD 12 anos	0,79 A a	7,60 BC a	0,67 A a	1,68 A b

*letras maiúsculas iguais na coluna (dentro de uma profundidade) e minúsculas iguais na coluna (entre profundidades) não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 0,05 de significância.

Os elevados valores da fração humina podem estar relacionados ao tamanho das moléculas e ao maior grau de estabilidade desta fração. Sendo assim, a maior permanência da fração humina no solo foi em razão de sua insolubilidade e resistência à biodegradação, causada pela formação de complexos metálicos estáveis e, ou, complexos argilo-húmicos (LONGO e ESPÍNDOLA, 2000). O carbono da fração humina (C-humina), foi a presente em maior proporção, sendo mais elevada no solo sob plantio direto com 12 anos, fato esse que pode ser explicado pelo constante aporte de restos culturais sobre e sob o solo em

razão da atividade agrícola da área e da relação C/N dos materiais que se desenvolvem ao longo do ano nesse local.

O carbono ligado à fração humina não apresentou diferença significativa entre as profundidades de estudo, havendo locais em que ele foi maior na camada mais superficial (0,00 – 0,05 m), como nas áreas de plantio direto a partir de 3 anos de implantação, e em outros o conteúdo na camada mais subsuperficial (0,05 – 0,10 m) como nas áreas de cerrado, pinus e plantio direto com 1 ano de implantação.

A maior presença da fração humina pode ser devido à menor estabilidade dos ácidos húmicos e fúlvicos que podem ter sido polimerizados e/ou mineralizados e por isso tiveram menor teor residual no solo. Maiores valores de carbono da fração humina podem implicar numa maior expressão das propriedades da fração coloidal da matéria orgânica, destacando maior retenção de cátions, características de grande importância especialmente para solos tropicais (WEY et al., 2014).

O solo sob plantio direto de 12 anos apresentou maior quantidade ($p \leq 0,05$) de ácidos húmicos e fúlvicos, que os solos sob cerrado e pinus nas profundidades de estudo. Esse maior conteúdo, principalmente, de ácidos húmicos no solo é indicativo da melhor eficiência na humificação ocasionada pelo aumento da atividade microbiana, responsável pela síntese de substâncias mais condensadas (RANGEL e SILVA, 2007; PORTUGAL et al., 2008).

O conteúdo de ácidos húmicos das áreas estudadas foi menor que os ácidos fúlvicos, conferindo assim valores menores que 1 para a razão ácido húmico por ácido fúlvico. Essa razão é usada como indicador da qualidade do húmus por expressar o grau de evolução do processo de humificação da matéria orgânica. Normalmente em solos tropicais essa razão é inferior a 1 em razão da maior intensidade do processo de humificação, condensação e síntese que são atribuídas à intensa mineralização dos resíduos orgânicos, às restrições edáficas e ao baixo conteúdo de bases trocáveis restringindo a atividade microbiana nos solos mais intemperizados (COYLE et al., 2016).

A conversão de floresta de pinus para plantio direto afetou as características físicas e químicas do solo, apresentando impactos relevantes na qualidade do solo dessas áreas, em razão dos tratamentos culturais exigidos pelas culturas, levando-os a uma degradação, mesmo com a utilização de um sistema conservacionista como o plantio direto. Sabe-se que com o desenvolvimento desse sistema ao longo dos anos ocorre uma recuperação lenta e contínua da qualidade do solo promovida pelo não revolvimento.

4. CONCLUSÕES

Indicadores físicos e químicos estudados não foram sensíveis para avaliar o impacto causado pela conversão de floresta de pinus em sistema de plantio direto de até 8 anos de idade. Entretanto, confirmamos o efeito benéfico da adoção de sistemas mais conservacionistas com melhoria desses indicadores ao longo do tempo.

Dessa forma, sugere-se que nas áreas de conversão a curto prazo (até 8 anos) o uso de indicadores mais sensíveis como os microbianos, bioquímicos e genéticos de modo a avaliar de forma mais profunda as transformações ocorridas na parte viva do solo.

5. REFERÊNCIAS

AHERNE, J.; POSCH, M. Impacts of nitrogen and sulphur deposition on forest ecosystem services in Canada. *Current Opinion in Environmental Sustainability*, v. 5, p. 108-115. 2013.

<https://doi.org/10.1016/j.cosust.2013.02.005>

ALAKUKKU, L. Soil compaction. In: *Ecosystem Health and Sustainable Agriculture 1: Sustainable Agriculture* (ed. Jakobsson C). Uppsala University. 2012

ALEXANDER, A.B. Soil compaction on skid trails after selective logging in moist evergreen forest of Ghana. *Agriculture and Biology Journal of North America*, v. 3, p. 262-264, 2012.

<https://doi.org/10.5251/abjna.2012.3.6.262.264>

BADDELEY, J.A.; EDWARDS, A.C.; WATSON, C.A. Changes in soil C and N stocks and C:N stoichiometry 21 years after land use change on an arable mineral topsoil *Geoderma*, v. 303, p. 19-26. 2017.

<https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2017.05.002>

BADINI, O.; STOCKLE, C.O.; JONES, J.W.; NELSON, R.; KODIO, A.; KEITA, M. A simulation-based analysis of productivity and soil carbon in response to time-controlled rotational grazing in the West African Sahel region. *Agricultural Systems*, v. 94, p. 87-96. 2007.

<https://doi.org/10.1016/j.agsy.2005.09.010>

BAI Z.G., DENT D.L., OLSSON L., SCHAEPMAN M.E. Global assessment of land degradation and improvement: 1. Identification by remote sensing. Report 2008/01, ISRIC - World Soil Information, Wageningen. 2008.

BÁRCENA, T.G.; KIÆR, L.P.; VESTERDAL L.; STEFÁNSDÓTTIR H.M.; GUNDERSEN P.; SIGURDSSON B.D. Soil carbon stock change following afforestation in Northern Europe: a meta-analysis. *Global Change Biology*, v. 20, p. 2393-2405, 2014.

<https://doi.org/10.1111/gcb.12576>

BATEY, T. Soil compaction and soil management - a review. *Soil Use and Management*, v. 12, p. 335-345. 2009.

<https://doi.org/10.1111/j.1475-2743.2009.00236.x>

BENDER J.; WEIGEL H-J. Changes in atmospheric chemistry and crop health: a review. *Agronomy for Sustainable Development*, v. 31, p. 81-89. 2011.

<https://doi.org/10.1051/agro/2010013>

BERENGUER E.; FERREIRA J.; GARDNER T. A. A large-scale field assessment of carbon stocks in human-modified tropical forests. *Global Change Biology*, v. 20, p. 3713-3726. 2014.

<https://doi.org/10.1111/gcb.12627>

BLACK, C.A. *Methods of Soil Analysis, Part II and I*. American Society Inc. Publishing, Madison, U.S.A, p. 770-779, 1965.

BLANCO-CANQUI, H.; LAL, R. No-tillage and soil-profile carbon sequestration: an on farm assessment. *Soil Science Society of America Journal*, v. 72, p. 693-701. 2008.

<https://doi.org/10.2136/sssaj2007.0233>

BRYAN, J.E.; SHEARMAN, P.L.; ASNER, G.P.; KNAPP, D.E.; AORO, G.; LOKES, B. Extreme differences in forest degradation in Borneo: comparing practices in Sarawak, Sabah, and Brunei. *PloS one*, v. 8, p. 69-79. 2013.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0069679>

CARLSON, K.M.; CURRAN, L.M. Refined carbon accounting for oil palm agriculture: disentangling potential contributions of indirect emissions and smallholder farmers. *Carbon Management*, v. 4, p. 347-349. 2013.

<https://doi.org/10.4155/cmt.13.39>

CHOUDHURY, S.G.; SRIVASTAVA, S.; RANBIR SINGH, S.K.; CHAUDHARI, D.K.; SHARMA, S.K.; SINGH, D.S. Tillage and residue management effects on soil aggregation, organic carbon dynamics and yield attribute in rice-wheat cropping system under reclaimed sodic soil. *Soil and Tillage Research*, v. 136, p. 76-83. 2014.

<https://doi.org/10.1016/j.still.2013.10.001>

COYLE, C.; CREAMER, R.E.; Schulte, R.P.O.; O'Sullivan, L.; JORDAN, P. A. Functional Land Management conceptual framework under soil drainage and land use scenarios. *Environmental Science & Policy*, v. 56, p. 39-48, 2016.

<https://doi.org/10.1016/j.envsci.2015.10.012>

DALAL R.C.; THORNTON C.M.; COWIE B.A. Turnover of organic carbon and nitrogen in soil assessed from $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ changes under pasture and cropping practices and estimates of greenhouse gas emissions. *Science of the Total Environment*, v. 465, p. 26-35. 2013.

<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2013.04.101>

DAVID, L.K. *Processes in microbial ecology*. Oxford: Oxford University Press. p. 328. 2012.

DELGADO-BAQUERIZO M.; MAESTRE F.T.; GALLARDO A. Decoupling of soil nutrient cycles as a function of aridity in global drylands. *Nature*, v. 502, p. 672-

676.

<https://doi.org/10.1038/nature12670>

DITTMAR T.; REZENDE C.E.; MANECKI M.; NIGGEMANN J.; OVALLE A.R.C.; STUBBINS A.; BERNARDES M.C. Continuous flux of dissolved black carbon from a vanished tropical forest biome. *Nature Geoscience*, v. 5, p. 618-622. 2012.

<https://doi.org/10.1038/ngeo1541>

DON, A.; SCHUMACHER, J.; FREIBAUER, A. Impact of tropical land-use change on soil organic carbon stocks - a meta-analysis. *Global Change Biology*, v. 17, p. 1658-1670. 2011.

<https://doi.org/10.1111/j.1365-2486.2010.02336.x>

EL-MASRI, B.; BARMAN, R.; MEIYAPPAN, P.; SONG Y.; LIANG M.; JAIN, A. Carbon dynamics in the Amazonian basin: integration of eddy covariance and ecophysiological data with a land surface model. *Agricultural & Forest Meteorology*, v. 182, p. 156-167. 2013.

<https://doi.org/10.1016/j.agrformet.2013.03.011>

EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisas de Solos. Manual de métodos de análises de solos. 2. ed. Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 230 p. 2011.

EMBRAPA. Sistema Brasileiro de Classificação de Solos. 3 ed. Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 353 p. 2013.

ESHEL, G.; SHEPON, A.; MAKOV, T.; MILO, R. Land, irrigation water, greenhouse gas, and reactive nitrogen burdens of meat, eggs, and dairy production in the United States. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, v. 111, p. 11996-12001. 2014.

<https://doi.org/10.1073/pnas.1402183111>

FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. *Ciência e Agrotecnologia, Lavras*, v. 35, n. 6, p. 1039-1042, 2011.

<https://doi.org/10.1590/S1413-70542011000600001>

HENDERSON, B. B.; GERBER, P. J.; HILINSKI, T. E.; FALCUCCHI, A.; OJIMA, D. S.; SALVATORE, M.; CONANT, R. T. Greenhouse gas mitigation potential of the world's grazing lands: modeling soil carbon and nitrogen fluxes of mitigation practices. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, v. 207, p. 91-100. 2015.

<https://doi.org/10.1016/j.agee.2015.03.029>

KÖPPEN, W. Die klimare der erde. Walter de Gruyter, Berlin, Leipzig, 1923.

LATHAM, J; CUMANI, R; ROSATI, I; BLOISE, M. Global Land Cover SHARE (GLC SHARE) Database Beta-Release 1.0. FAO, Rome. 2014.

LONGO R. M.; SPÍNDOLA, C. R. C-orgânico, N-total e substâncias húmicas sob influência da introdução de pastagens (*Brachiaria* sp.) em áreas de cerrado e floresta amazônica. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, Viçosa, v. 24, p. 723-729, 2000.
<https://doi.org/10.1590/S0100-06832000000400004>

MENDES, I. C. Biological functioning of Brazilian Cerrado soils under different vegetation types. *Plant and Soil*, Hague, Holanda, v. 359, p. 183-195, 2012.
<https://doi.org/10.1007/s11104-012-1195-6>

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

NOLTE, C.; AGRAWAL, A.; SILVIUS, K. M.; SOARES-FILHO, B.S. Governance regime and location influence avoided deforestation success of protected areas in the Brazilian Amazon. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, v. 110, p. 4956-4961. 2013.
<https://doi.org/10.1073/pnas.1214786110>

PORTUGAL, A. F.; JUCKSCH, I.; SCHAEFER, C. E. G. R.; WENDLING, B. Determinação de estoques totais de carbono e nitrogênio e suas frações em sistemas agrícolas implantados em argissolo vermelho-amarelo. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, Viçosa, v. 32, n. 5, p. 2091-2100, 2008.
<https://doi.org/10.1590/S0100-06832008000500030>

RAMIREZ, K. S. Consistent effects of nitrogen fertilization on soil bacterial communities in contrasting systems. *Ecology*, Arizona, v. 91, p. 3463-3470, 2010.
<https://doi.org/10.1890/10-0426.1>

RAMIREZ, K. S.; CRAINE, J. M.; FIERER, N. Consistent effects of nitrogen amendments on soil microbial communities and processes across biome. *Global Change Biology*, Oxford, v. 18, p. 1918-1927, 2012.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-2486.2012.02639.x>

RANGEL, O. J. P.; SILVA, C. A. Estoques de carbono e nitrogênio e frações orgânicas de Latossolo submetido a diferentes sistemas de uso e manejo. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, Viçosa, v. 31, p. 1609-1623, 2007.
<https://doi.org/10.1590/S0100-06832007000600037>

SAMUEL, E.; SHEILA, M.; PALMER, P. J. C. Soil organic carbon stock and fractional distribution in upland grasslands. *Geoderma*, v. 314, p. 175-183. 2018.
<https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2017.11.017>

SMITH, P.; COTRUFO, M. F.; RUMPEL, C.; PAUSTIAN, K.; KUIKMAN, P.J.; ELLIOTT, J. A. Biogeochemical cycles and biodiversity as key drivers of

ecosystem services provided by soils. *Soil Discussions*, v. 2, p. 537-586. 2015.
<https://doi.org/10.5194/soild-2-537-2015>

SMITH, P. Soils and climate change. *Current Opinion in Environmental Sustainability*, 4, 539-544. 2012.
<https://doi.org/10.1016/j.cosust.2012.06.005>

SCHNITZER, M. Organic matter characterization. In: PAGE, A.L. (ed.) *Methods of soil analysis*. Madison. Soil Science Society of America, p.581-594. 1982.

WEI, X.; HUANG, L.; XIANG, Y.; SHAO, M.; ZHANG, X.; GALE, W. The dynamics of soil OC and N after conversion of forest to cropland. *Agricultural and Forest Meteorology*, v. 194, p. 188-196. 2014.
<https://doi.org/10.1016/j.agrformet.2014.04.008>

YEOMANS, J.; BREMNER, J. M. A rapid and precise method for routine determination of organic carbon in soil. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, New York, v. 19, p. 1467-1476, 1988.
<https://doi.org/10.1080/00103628809368027>

CAPÍTULO II

ATIVIDADE MICROBIANA NO SOLO EM RAZÃO DA SUBSTITUIÇÃO DE FLORESTA DE PINUS POR SISTEMA PLANTIO DIRETO

RESUMO

BICALHO, INGRID MARA. **Atividade microbiana no solo em razão da substituição de sistema florestal por plantio direto**. 2019. Uberlândia: UFU, 2019. p. 28 – 55. Tese (Doutorado em Agronomia/Solos) – Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia - MG.

O sistema de manejo do solo influencia os processos químicos, físicos e biológicos do solo podendo modificar suas características e, muitas vezes, promover a sua degradação. Todas as formas de agricultura causam mudanças no balanço e no fluxo dos ecossistemas, limitando dessa forma as suas funções de auto regulação. O objetivo deste estudo foi verificar os impactos da substituição de floresta de pinus por sistema plantio direto na atividade de microrganismos do solo por meio de indicadores químicos, físicos e microbiológicos em duas profundidades (0,00 – 0,05 e 0,05 – 0,10 m) em Latossolo Amarelo ácrico típico fase cerrado. As amostragens foram realizadas em Latossolo Amarelo ácrico típico na Fazenda Floresta do Lobo no município de Uberlândia – MG, a classificação climática da região é Cwa, segundo a classificação de Köppen, e os solos possuíam textura muito argilosa, porém estão sob diferentes sistemas de uso, a saber: floresta de pinus e sistema plantio direto (SPD) com 1, 3, 8 e 12 anos de implantação, além de uma área de cerrado nativo utilizada para controle. As amostragens foram realizadas no mês de março de 2018, nas profundidades já mencionadas. Estas amostragens, compostas, constituíram um delineamento de seis locais, duas profundidades e três repetições, totalizando 36 amostras. Foram realizadas análises químicas (pH, P, K, Ca, Mg, Al, (H+Al), COT e N), físicas (textura, densidade do solo (Ds), porosidade total (PT), macroporos e microporos) e microbiológicas (respiração basal do solo (RBS), carbono da biomassa microbiana do solo (C-BMS), quociente metabólico (qCO₂) e microbiano (qMic), e as enzimas β-glicosidase, urease, arilsulfatase e fosfatase). A substituição da floresta de pinus pelo sistema plantio direto promoveu alterações na estrutura e atividade biológica e, conseqüentemente na fertilidade das áreas avaliadas com reflexos negativos na qualidade do solo quando comparados ao cerrado nativo. Em razão da conversão de floresta de pinus para sistema plantio direto houve aumento na densidade do solo e percentual de microporos. Os teores de nutrientes foram maiores nos solos manejados sob sistema plantio direto e este promove, ao longo dos anos, a manutenção da qualidade do solo em condições semelhantes ou melhores que a condição de cerrado nativo. As variáveis microbiológicas estudadas mostram-se eficientes indicadores da qualidade do solo com destaque para o C-CBM e o qCO₂.

Palavras-chave: sistemas conservacionistas, indicadores físico-químicos, indicadores microbiológicos de qualidade do solo, sustentabilidade agrícola, degradação do solo.

ABSTRACT

BICALHO, INGRID MARA. **Microbial activity in soil due to the substitution of forest system by direct planting** 2019. Uberlandia: UFU, 2019. p. 28 – 55. Thesis (Doctorate in Agronomy/Soils) – Federal University of Uberlandia, Uberlandia – MG

The soil management system influences the chemical, physical and biologic soil processes, being able to modify its characteristics and often promoting its degradation. Every form of agriculture brings harm to the balance and flow of ecosystems, thus limiting its self-regulation functions. The objective of this study was to verify the impacts of the substitution of pinus Forests by the direct planting system in the activity of microorganisms in soil by means of chemical, physical and microbiologic indicators in two depths (0.0 – 0,05 and 0,05 a 0,10 m) in yellow acric typical latosol in cerrado stage. The samplings were performed in yellow acric typical latosol in the *Floresta do Lobo* Farm in the municipality of Uberlandia – MG, the region climate was classified as Cwa, according to the Köppen classification, and the soils presented very argillaceous texture, but they are in different usage systems, which are: pinus forest and direct planting system (DPS) with 1, 3, 8 and 12 years of implantation, and also an area of native cerrado utilized as control. The samplings were performed in March 2018, in the aforementioned depths. These samplings, composed, constituted the outlining of six areas, two depths and three repetitions, totalizing 36 samples. It were performed chemical analysis (pH, P, K, Ca, Mg, Al, (H+Al), COT and N), physical analysis (texture, soil density (sD), total porosity (PT) macro and micropores) and microbiologic analysis (basal soil respiration (RBS), soil microbial carbon biomass (C-BMS), metabolic quotient (qC O₂) and microbial quotient (qMic), and the enzymes β -glycosidase, urease, arylsulfatase e phosphatase). The substitution of the pinus forest by the direct planting system promoted alterations in the structure and biologic activity and, consequently, in the fertility of the evaluated areas with negative reflections in soil quality in comparison with native cerrado. Due to the conversion of pinus forest to direct planting system, it was noted an increase in soil density and micropore percentage. The amount of nutrients were higher in soils managed under the direct planting system and it promotes, through the years, the maintenance of quality of soil in conditions which are similar or better than the conditions of the native cerrado. The microbiologic variables studied turned out to be soil quality indicators, with highlights to C-CBM and qCO₂.

Keywords: conservationist systems, physical-chemical indicators, microbiological indicators of soil quality, agricultural sustainability, soil degradation.

1. INTRODUÇÃO

As práticas de manejo do solo causam alterações em atributos físicos, químicos e biológicos, levando à perda de qualidade além de afetar a sustentabilidade ambiental e econômica das atividades agrícolas. De modo contrário, a boa qualidade destes atributos propicia condições adequadas para o crescimento e desenvolvimento de plantas e a manutenção da diversidade de organismos que se desenvolvem no solo. Por isso, a compreensão e quantificação do impacto do uso e manejo do solo na sua qualidade são fundamentais no desenvolvimento de sistemas agrícolas sustentáveis.

As crescentes demandas dos mercados globais e a intensificação das operações madeireiras vem contribuindo para uma maior pressão sobre os ecossistemas florestais. As florestas desempenham um papel fundamental na sustentabilidade global por fornecer matérias-primas e desempenhar funções ecossistêmicas como biodiversidade, sequestro de carbono e proteção do solo e água. A avaliação da sustentabilidade do manejo florestal requer indicadores de sustentabilidade baseados no solo, já que a silvicultura tem um grande impacto no sistema solo.

Solos sob plantio direto possuem maiores teores de biomassa vegetal, resultando em manutenção da umidade do solo e baixa variação térmica, melhor estrutura agregada e melhoria considerável nas propriedades do solo com aumento dos conteúdos de matéria orgânica, carbono, nitrogênio, melhoria da CTC e atividade biológica entre outros.

Os estudos dos impactos da substituição de sistemas florestais por sistemas agrícolas, como o plantio direto, podem impactar na atividade dos microrganismos do solo e com isso alterar propriedades físicas, químicas e biológicas com resultados diretos sobre a qualidade do solo. Para a avaliação desses efeitos, faz-se necessário, então, estudos com indicadores de qualidade do solo. Esses podem ser físicos, químicos e biológicos, mas, como as propriedades do solo estão inter-relacionadas, o desafio é identificar e quantificar o conjunto principal de propriedades que podem ser usadas para confirmar a utilidade da tecnologia de produção para a melhoria da qualidade do solo.

A atividade e a diversidade microbiana do solo desempenham papéis importantes na sustentabilidade, mantendo funções essenciais na qualidade do solo, envolvendo o ciclo de carbono e nutrientes. Os indicadores microbianos são mais suscetíveis que os atributos físicos e químicos às mudanças impostas ao ambiente, como o uso e manejo do solo, e por isso, podem indicar qualquer alteração na sustentabilidade de um meio ambiente.

Biomassa microbiana e respiração do solo têm sido amplamente utilizadas como indicadores sensíveis dessas alterações em solos florestais e agrícolas.

Mudanças na vegetação, como o desmatamento, reduzem a respiração microbiana a longo prazo devido à diminuição das entradas de carbono orgânico no solo via superfície ou rizosfera. Em sistemas agrícolas, o manejo do solo afeta a atividade microbiana e, em geral, os manejos menos impactantes resultam em maior atividade. Além da atividade microbiana e da biomassa, os indicadores bioquímicos, como enzimas do solo, também podem ser indicadores úteis da qualidade do solo. Elas estão envolvidas em vários processos metabólicos e também respondem às mudanças no uso e manejo do solo.

Uma mudança em uma propriedade do solo pode não afetar significativamente outras, sendo individualmente insignificante. Porém, se considerarmos as inter-relações existentes entre as propriedades (químicas, físicas e biológicas), essas podem ter um impacto significativo no agroecossistema. Portanto, o objetivo deste estudo foi verificar os impactos da substituição de floresta de pinus por sistema plantio direto na atividade de microrganismos do solo por meio de indicadores químicos, físicos e microbiológicos em duas profundidades (0,00 – 0,05 e 0,05 – 0,10 m) em Latossolo Amarelo ácrico típico fase cerrado.

2. MATERIAL E MÉTODOS

As amostragens foram realizadas em Latossolo Amarelo ácrico típico na Fazenda Floresta do Lobo no município de Uberlândia – MG, onde a classificação climática de acordo com Köppen (1923) é Cwa, apresentando verão quente e chuvoso e inverno seco com duas estações bem definidas. Os solos utilizados possuem a mesma textura (muito argilosa), porém, estão sob diferentes sistemas de uso, floresta de pinus e sistema plantio direto (SPD) com 1, 3, 8 e 12 anos de implantação, além de uma área de cerrado nativo utilizada para controle. As áreas de estudo estão assim caracterizadas:

- Cerrado – localizado nas coordenadas 19°05'41" S e 48°09'33" W, possui área total de 113 ha e está a uma altitude de 950 m;
- Plantio de pinus – com 40 anos de implantação, está a 964 m de altitude, com área de 9,5 ha está localizado nas coordenadas 19°04'49" S e 48°08'45" W;
- Sistema plantio direto (SPD) com 1 ano de implantação – localizado em 19°05'22" S e 48°09'57" W, está a uma altitude de 965 m e possui área de 27,7 ha. Logo após a retirada do pinus, limpeza e preparação do terreno, foi implantada lavoura de milho na safra 16/17, seguida de braquiária (safrinha) e safra 17/18 de soja. Na data da coleta estava com lavoura de soja.
- SPD 3 anos de implantação - com área total de 28,16 ha está localizado a 19°04'35" S e 48°08'53" W e altitude de 968 m. Desde sua implantação vem alternando entre soja e milho na safra com braquiária na safrinha. Na data da coleta estava com plantio de soja.
- SPD 8 anos de implantação – área total de 154 ha e altitude de 965 m, está localizado em 19°02'49" S e 48°07'01" W. Assim como as demais áreas vem alternando soja e milho, na data da coleta estava com lavoura de soja.
- SPD 12 anos de implantação – localizado a 19°03'39" S e 48°08'44" W, com altitude de 954 m e área total de 65 ha, assim como as demais áreas de plantio direto, é feita rotação de culturas de soja e milho e na data da coleta havia lavoura de milho.

As amostragens foram realizadas no mês de março de 2018, nas profundidades de 0,0 – 0,05 e 0,05 – 0,10 m em razão da maior atividade e biodiversidade, já relatada por outros pesquisadores (DAVID, 2012). Em cada área (FIGURA 1) foram traçados

transectos, perpendiculares entre si, onde foram coletadas 3 amostras compostas a partir de cinco amostras simples (distanciadas em mais ou menos 1 m do ponto central) que foram homogeneizadas e utilizadas para compor a amostra principal (com aproximadamente 500 g) por ponto e profundidade, resultando em um delineamento de 36 amostras (seis locais, duas profundidades e três repetições).



Fig. 1. Localização das áreas de estudo: 1 – Cerrado; 2 – Pinus; 3 – Sistema plantio direto (SPD) 1 ano; 4 – SPD 3 anos, 5 – SPD 8 anos e 6 – SPD 12 anos. Latossolo Amarelo ácrico típico, textura muito argilosa.

Concluídas as coletas, as amostras foram devidamente identificadas, acondicionadas em sacos plásticos e encaminhadas para o Laboratório de Pedologia da Universidade Federal de Uberlândia, onde foram peneiradas em malhas de 4 e 2 mm para caracterização físico-química e análises microbiológicas, respectivamente. As amostras foram armazenadas sob refrigeração à temperatura de 8°C.

2.1 Determinação dos atributos físico-químicos do solo

A textura do solo foi determinada pelo método da pipeta, para determinação da densidade do solo, bem como macroporos e microporos e a porosidade total. Foram retiradas amostras indeformadas com auxílio de anéis volumétricos e utilizou-se o método

da mesa de tensão, seguindo metodologia proposta pela Embrapa (2013). A porosidade total do solo foi calculada pelo somatório de macro e microporos (PT = macroporosidade + microporosidade) e a densidade do solo foi calculada pelo método do anel (Ds = massa da amostra seca (105°C) / volume do anel).

Todas as análises químicas foram realizadas de acordo com metodologia proposta pela Embrapa (2011). Foram realizadas as seguintes análises: pH em água na relação terra-solução de 1:2,5, carbono orgânico total do solo (COT) determinado por oxidação com dicromato de potássio (YEOMANS; BREMNER, 1988), fósforo (P) e potássio (K⁺) disponíveis extraídos com H₂SO₄ 0,025 mol L⁻¹ + HCl 0,05 mol L⁻¹ (extrator Mehlich-1), acidez potencial (H⁺+Al³⁺) com a solução tampão SMP, nitrogênio total (N) pelo método Kjeldahl (BLACK, 1965), cálcio (Ca²⁺), magnésio (Mg²⁺) e alumínio trocável (Al³⁺) extraídos com a solução de KCl (1,0 mol L⁻¹).

2.2 Análise da atividade e biomassa microbiana

A respiração basal do solo (RBS) foi avaliada em condições de laboratório pela quantificação de C – CO₂ liberado em 24 dias de incubação, conforme metodologia usual descrita por Stotzky (1965). Porção de 100g de solo foram transferidas para frascos de vidro herméticos de 500 mL, juntamente com copo plástico (40 mL) contendo 10 mL de NaOH (1 mol L⁻¹) para a captura de CO₂. Os frascos foram hermeticamente fechados e mantidos em temperatura de ensaio de 25°C. A determinação do C – CO₂ liberado foi realizada aos 3, 10, 17 e 24 dias após a instalação do experimento. Após cada período de incubação, foram retirados os copos plásticos dos frascos e nestes colocados 5 mL de BaCl₂.2H₂O (1 mol L⁻¹) e três gotas de fenolftaleína (1% em solução de etanol, 50%), sendo o excesso de NaOH titulado com HCl (0,5 mol L⁻¹). Novos copos plásticos com NaOH foram colocados nos frascos de vidro para subsequentes períodos de incubação. A amostra do branco foi constituída em frasco sem a porção de solo. A respiração do solo foi estimada em mg de CO₂ kg⁻¹ solo seco, usando o valor 12 (massa molar do C) descrito nos princípios de proporcionalidade de reação do dióxido de carbono com hidróxido de sódio conforme definido por Silva (2007).

O carbono da biomassa (C-BMS) foi determinado pelo método da irradiação-extração (FERREIRA, et al., 1999; VANCE et al., 1987), utilizando K₂SO₄ 0,5 mol.L⁻¹ como agente extrator. O carbono orgânico nos extratos foi estimado pela oxidação do

$K_2Cr_2O_7$ e determinação em espectrofotômetro a 540 nm com reagente de carbazida. O C-BMS foi determinado pela diferença entre as amostras irradiadas e não irradiadas. Os resultados foram expressos em $\mu\text{g.kg}^{-1}$ solo seco.

O quociente metabólico (qCO_2) que representa a quantidade de C- CO_2 produzida por unidade de carbono da biomassa microbiana, foi determinado pela relação entre o carbono liberado via respiração e o carbono quantificado na biomassa microbiana (ANDERSON, DOMSCH, 1993), sua unidade foi expressa em $\text{mg kg}^{-1} \text{ dia}^{-1}$. O quociente microbiano foi determinado pela relação entre o carbono da biomassa microbiana (BMS) e o carbono orgânico total (COT), sua unidade foi expressa em mg kg^{-1} .

2.3 Análise de enzimas do solo

As atividades da β -glicosidase e fosfatase ácida foram determinadas de acordo com metodologia de Eivazi e Tabatabai (1988) e Tabatabai e Bremner (1969) onde adicionamos, a 1 g de solo, solução com substrato sintético em tampão universal modificado. As amostras foram incubadas em banho-maria, a 37 °C e durante 1 hora. O produto formado, o p -nitrofenol (PNF), foi medido em espectrofotômetro a 410 nm de absorbância. Fizemos a quantificação a partir de uma curva de concentração (referência) contendo diferentes concentrações de PNF. A atividade da arilsulfatase foi realizada da mesma maneira que a β -glicosidase, mas aqui substituímos o substrato sintético pelo p -nitrofenil-sulfato 0,05 mol L^{-1} em tampão acetato de sódio pH 5,8. Os resultados foram expressos em $\text{mg PNF g}^{-1} \text{ solo seco h}^{-1}$.

A atividade da urease foi determinada de acordo com metodologia modificada de Kandeler e Gerber (1988), utilizando-se 5 g de solo com tampão citrato pH 6,7 e substrato de solução de ureia 10%. As amostras foram incubadas em banho-maria, a 37 °C por 3 horas. O produto formado foi o N- NH_4 liberado, determinado em espectrofotômetro a 600 nm de absorbância com auxílio do kit comercial Uréia 500® (Doles). Os resultados foram expressos em $\text{mg N-NH}_4 \text{ g}^{-1} \text{ solo seco h}^{-1}$.

2.4 Análise estatística dos dados

As características físicas, químicas e microbiológicas do solo foram analisadas por meio da análise de variância e as diferenças significativas entre as médias foram avaliadas

pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de significância, utilizando o software SISVAR (FERREIRA, 2011).

Os dados foram submetidos à Análise de Correspondência retificada (DCA) para verificar qual o comportamento das características microbiológicas estudadas em relação ao gradiente ambiental. Como a DCA mostrou um comprimento de gradiente inferior à 3 cada característica biológica assumiu um comportamento linear em relação ao gradiente (TER BRAAK; SMILAUER, 2002) confirmando a análise de redundância (RDA) para se verificar a relativa contribuição e significância das variáveis ambientais na variabilidade total dos dados microbiológicos com auxílio do programa Canoco versão 4.5 (TER BRAAK; SMILAUER, 2002). Para verificar a significância da variabilidade dos dados foi realizado o teste de permutação de Monte Carlo, com 999 permutações ($p < 0,05$). A partir disso verificamos a significância das correlações sugeridas através da Correlação de Pearson.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Atributos físico e químicos do solo

Dados referentes à caracterização física das áreas de estudo estão na tabela 1. Independentemente da área avaliada, não foram observadas diferenças significativas entre as profundidades de estudo (0,0 – 0,05 e 0,05 – 0,10 m), tendo a microporosidade demonstrado ser um indicador sensível aos sistemas de manejo, onde as áreas sob plantio direto com 1 e 3 anos de implantação apresentaram os maiores valores dessa característica (em ambas profundidades).

Tabela 1. Caracterização das propriedades físicas das áreas de estudo, nas camadas de 0,0 – 0,05 e 0,05 – 0,10 m de profundidade, sob cerrado, floresta de pinus e Sistema de Plantio Direto com diferentes idades.

Sistemas	Areia	Silte --- g kg ⁻¹ ---	Argila	Classe de textura	Ds --- g cm ⁻³ ---	Macro --- (%) ---	Micro --- (%) ---	Pt --- (%) ---
Profundidade					0,00 – 0,05 m			
Cerrado	185,6	171,0	643,4	Muito argilosa	0,821 A a	29,990 A a	23,437 B a	53,427 A a
Pinus	187,0	166,3	646,7	Muito argilosa	0,808 A a	25,437 A a	27,864 AB a	53,30 A a
SPD 1 ano	176,0	180,7	643,3	Muito argilosa	0,841 A a	12,201 A a	39,540 A a	51,741 A a
SPD 3 anos	188,9	173,0	638,1	Muito argilosa	1,013 A a	9,629 A a	39,993 A a	49,622 A a
SPD 8 anos	183,4	184,6	632,0	Muito argilosa	1,124 A a	7,956 A a	37,790 AB a	45,746 A a
SPD 12 anos	180,8	140,1	679,1	Muito argilosa	0,852 A a	18,831 A a	35,228 AB a	54,059 A a
Média	183,61	169,3	647,1	-	0,910	17,340	33,975	51,316
Profundidade					0,05 – 0,10 m			
Cerrado	183,4	169,8	646,8	Muito argilosa	0,930 A a	20,519 A a	32,453 A a	52,972 A a
Pinus	184,2	165,2	650,6	Muito argilosa	0,796 A a	14,044 A a	29,975 A a	44,019 A a
SPD 1 ano	174,3	179,2	646,5	Muito argilosa	0,880 A a	12,098 A a	36,026 A a	48,124 A a
SPD 3 anos	186,5	171,0	642,5	Muito argilosa	0,952 A a	12,077 A a	34,867 A a	46,945 A a
SPD 8 anos	181,8	183,6	634,6	Muito argilosa	1,085 A a	8,460 A a	36,841 A a	45,301 A a
SPD 12 anos	182,8	139,0	678,2	Muito argilosa	0,898 A a	13,953 A a	34,712 A a	48,665 A a
Média	182,1	167,9	649,8	-	0,923	13,525	34,146	47,671
C.V. (%)	12,41	14,55	11,44 a	-	15,58	57,65	12,78	12,21

*letras maiúsculas iguais na coluna (dentro de uma profundidade) e minúsculas iguais na coluna (entre profundidades) não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 0,05 de significância.

Com relação à granulometria, todos os sistemas estão em solos de textura muito argilosa. Esta propriedade está diretamente relacionada ao controle de água, adsorção e absorção de nutrientes, além de interferir nas trocas gasosas, pois está relacionada à porosidade do solo. Além da elevada capacidade de retenção de água, estabelecem relações de proteção física e química às substâncias húmicas garantindo uma estabilidade maior à estrutura (BADINI et al., 2007; ALEXANDER, 2012) e interage com maiores teores de carbono orgânico total (C.O.T.).

As áreas não se diferiram significativamente com relação à densidade do solo embora tenhamos observado aumento nos valores da densidade do solo em razão da implantação do sistema agrícola de plantio direto em comparação aos valores encontrados na floresta de pinus com solos mais soltos e com maior percentual de macroporos. A densidade do solo varia entre solos de diferentes texturas, estruturas e conteúdo de matéria orgânica dentro de um determinado tipo de solo (BATEY, 2009) e pode ser usada para monitorar o grau de compactação do solo (BENDER e WEIGEL, 2011).

A substituição da floresta de pinus por sistema plantio direto levou a alterações na distribuição de macroporos e microporos, sendo observados aumentos de 41% no percentual de microporos e redução de 52% nos percentuais de macroporos no sistema plantio direto com 1 ano de implantação em comparação ao solo (Latossolo) sob pinus. Como a microporosidade está relacionada ao nível de compactação, solos que apresentam elevados percentuais de microporos podem interferir negativamente no desenvolvimento do sistema radicular das culturas, na atividade da pedofauna, na infiltração e condução de água em subsuperfície, nas trocas gasosas entre o solo e a atmosfera e, conseqüentemente, no desenvolvimento e produtividade das culturas (DALAL et al., 2013; DELGADO-BAQUERIZO et al., 2013). Foi possível observar também que a continuidade na prática do sistema plantio direto levou a uma melhoria na distribuição de macroporos e microporos do solo com aumento de 54% no percentual de macroporos e redução de 11% no percentual de microporos em comparação ao sistema com 1 ano de implantação na primeira profundidade de estudo.

Com relação às características químicas das áreas avaliadas, não foram observadas diferenças significativas com relação às profundidades de estudo (TABELA 2), exceto para fósforo e potássio. As características químicas do solo foram mais sensíveis às alterações causadas pelos sistemas de manejo, sendo que, independente da profundidade

avaliada, a área de cerrado apresentou baixa fertilidade natural com baixos teores de nutrientes (P, K, Ca e Mg).

Tabela 2. Alteração das propriedades químicas das áreas de estudo nas camadas de 0,0 – 0,05 e 0,05 – 0,10 m de profundidade, sob cerrado, floresta de pinus e Sistema plantio direto com diferentes idades.

Sistemas	Cerrado	Pinus	Sistema plantio direto				C.V. (%)
			1 ano	3 anos	8 anos	12 anos	
Profundidade			0,0 – 0,05 m				
pH (H ₂ O)	4,9 CD a	4,0 D a	5,25 BC a	5,55 AB a	6,15 A a	6,15 A a	6,19
COT (g kg ⁻¹)	11,98 AB a	9,86 BC a	7,44 C a	10,86 BC a	12,56 AB a	14,88 A a	14,13
N.T. (g kg ⁻¹)	2,21 A a	0,72 C a	0,80 C a	0,83 C a	1,05 B a	1,02 B a	5,50
C/N	5,42 C a	13,61 AB a	9,27 BC a	13,04 AB a	11,90 AB a	14,58 A a	17,58
P (mg kg ⁻¹)	0,30 B a	0,15 B a	0,55 B a	1,00 B a	1,35 B a	14,8 A a	43,81
K (cmolc dm ⁻³)	0,11 B a	0,08 B a	0,26 A a	0,28 A a	0,25 A a	0,29 A a	7,55
Ca (cmolc dm ⁻³)	0,65 C a	0,70 C a	3,8 B a	4,6 B a	4,7 B a	7,05 A a	15,82
Mg (cmolc dm ⁻³)	0,18 C a	0,12 C a	0,78 B a	1,30 AB a	1,25 AB a	1,75 A a	17,15
Al (cmolc dm ⁻³)	1,55 B a	0,87 AB a	0,25 A a	0,30 A a	0,25 A a	0,20 A a	40,94
H + Al (cmolc dm ⁻³)	7,85 D a	5,85 CD a	4,5 BC a	4,2 BC a	2,00 AB a	2,75 A a	16,81
SB (cmolc dm ⁻³)	0,94 C a	0,90 C a	4,84 B a	6,18 B a	6,20 B a	9,09 A a	13,93
CTC (cmolc dm ⁻³)	8,79 AB a	6,75 B a	9,34 A a	10,38 A a	8,95 AB a	11,09 A a	12,56
V (%)	10,69 C a	13,40 C a	51,27 B a	59,98 B a	69,28 AB a	81,93 A a	11,48
m (%)	61,98 A a	49,06 A a	5,29 B a	4,64 B a	2,17 B a	3,88 B a	23,38
Profundidade			0,05 – 0,1 m				
pH (H ₂ O)	4,7 BC a	4,0 C a	5,3 AB a	5,65 AB a	6,20 A a	6,25 A a	-
COT (g kg ⁻¹)	13,82 A a	13,00 A a	8,31 C a	8,89 BC a	12,56 AB a	9,95 BC a	-
N.T. (g kg ⁻¹)	2,09 A a	0,66 C a	0,76 C a	0,80 C a	1,01 B a	1,01 B a	-
C/N	6,02 B a	15,12 A a	10,90 AB a	11,14 A a	12,85 A a	13,65 A a	-
P (mg kg ⁻¹)	0,1 B a	0,15 B a	0,55 B a	1,25 B a	1,35 B a	5,4 A b	-
K (cmolc dm ⁻³)	0,08 B a	0,07 B a	0,22 A b	0,22 A b	0,25 A a	0,26 A b	-
Ca (cmolc dm ⁻³)	0,75 C a	0,45 C a	3,65 B a	3,75 B a	4,3 B a	6,40 A a	-
Mg (cmolc dm ⁻³)	0,16 C a	0,10 C a	1,10 B a	1,15 B a	1,45 B a	2,10 A a	-
Al (cmolc dm ⁻³)	1,40 B a	0,62 A a	0,27 A a	0,35 A a	0,20 A a	0,22 A a	-
H + Al (cmolc dm ⁻³)	5,95 B b	5,45 B a	4,55 B a	4,50 B a	3,55 AB a	1,95 A a	-
SB (cmolc dm ⁻³)	1,00 C a	0,62 C a	4,97 B a	5,12 B a	6,01 B a	8,75 A a	-
CTC (cmolc dm ⁻³)	9,95 B b	6,07 B a	9,52 A a	9,62 A a	9,56 A a	10,70 A a	-
V (%)	14,66 C a	10,29 C a	51,85 B a	53,83 B a	62,63 AB a	81,75 A a	-
m (%)	56,78 A a	49,05 A a	5,49 B a	6,40 B a	2,23 B a	3,58 B a	-

*médias seguidas de letras maiúsculas iguais na linha e minúsculas iguais na coluna (diferentes profundidades) são estatisticamente iguais de acordo com o teste de Tukey a 0,05 de significância.

O pH das áreas em geral sofreu variações de cerca de 53% entre a área de pinus (4,0) e a área de plantio direto com 8 e 12 anos de implantação (6,15) na camada mais superficial do solo (0,0 – 0,05 m). A disponibilidade de fósforo também sofreu alteração em razão dos sistemas de manejo, sendo inferior na área de pinus em relação às áreas de plantio direto e ao cerrado. Observação semelhante pode ser feita aos nutrientes K, Ca e Mg cujos maiores valores foram encontrados nas áreas de plantio direto em relação ao cerrado e ao pinus. Baixos valores de pH e nutrientes encontrados na área de pinus podem ser explicados pelo fato da liberação de ácidos orgânicos por acículas em decomposição (HENDERSON et al., 2015). Além disso, em plantios de pinus o acúmulo de acículas na

superfície promove retenção de quantidades elevadas de nutrientes na serapilheira o que altera o equilíbrio solo-planta (ESHEL et al., 2014).

O carbono orgânico presente no solo é muito sensível às atividades de manejo podendo ser facilmente oxidado devido às atividades de preparo do solo. A riqueza de espécies existentes na área de cerrado em relação à área de pinus contribui para um maior percentual de carbono orgânico nesse local (DON et al., 2011; EL-MASRI et al., 2013). O plantio de espécies florestais leva a alterações qualitativas na composição da serapilheira e quantitativas com relação à sua formação inicial. Desse modo, foram observadas reduções significativas nos teores de carbono na área de pinus em relação ao cerrado (11,98 para 9,86 g kg⁻¹).

Como o preparo da área para implantação de outro sistema envolve práticas de revolvimento do solo, são esperadas perdas de carbono em razão do maior contato dos microrganismos decompositores ao material vegetal (antes condicionado apenas à superfície do solo). A área de plantio direto, com 1 ano de implantação, apresentou menores teores de carbono orgânico total (7,44 g kg⁻¹), tendo uma redução de 25% em relação à área de pinus. Se compararmos a área de plantio direto mais recente com a área de referência, o cerrado, nota-se que essa redução foi próxima dos 40%.

A prática continuada do sistema de plantio direto tende a promover aumento nos conteúdos de carbono orgânico do solo tendo sido observados aumentos de aproximadamente 45, 68 e 100% nos teores de carbono orgânico nas áreas de plantio direto com 3, 8 e 12 anos de implantação, respectivamente na camada mais superficial de amostragem (0,00 – 0,05 m) sendo esse resultado superior, inclusive, à área de cerrado, tomada como referência para esse estudo e que apresentou um conteúdo de carbono 20% inferior à área de 12 anos de plantio direto.

A relação C/N foi maior no plantio de pinus e nas áreas de plantio direto com 1, 3, 8 e 12 anos (9,27, 13,04, 11,90 e 14,58, respectivamente) em relação ao cerrado (5,42). Como as acículas do pinus possuem baixos teores de nitrogênio (COYLE et al., 2016), assim como os materiais utilizados para palhada (milho e braquiária) nas áreas de plantio direto.

3.2 Análise da atividade e biomassa microbiana

Os valores de respiração basal do solo (RBS) aos 24 dias de incubação e o carbono da biomassa microbiana (C-BMS) estão na figura 2. As áreas não se diferiram significativamente em relação às taxas de RBS nas duas profundidades estudadas, sendo que os maiores valores foram encontrados nas áreas de plantio direto de 8 anos (20,52 mg kg⁻¹ ss⁻¹) e os menores na área de pinus (11,14 mg kg⁻¹ ss⁻¹) a 0,05 m de profundidade. A área de cerrado apresentou taxas de respiração superiores à área de pinus e cerrado em razão do constante aporte de material vegetal depositado sobre o solo que favorece a atividade de microrganismos. O mesmo pode ser mencionado para as áreas de plantio direto que possuem maior quantidade de material orgânico.

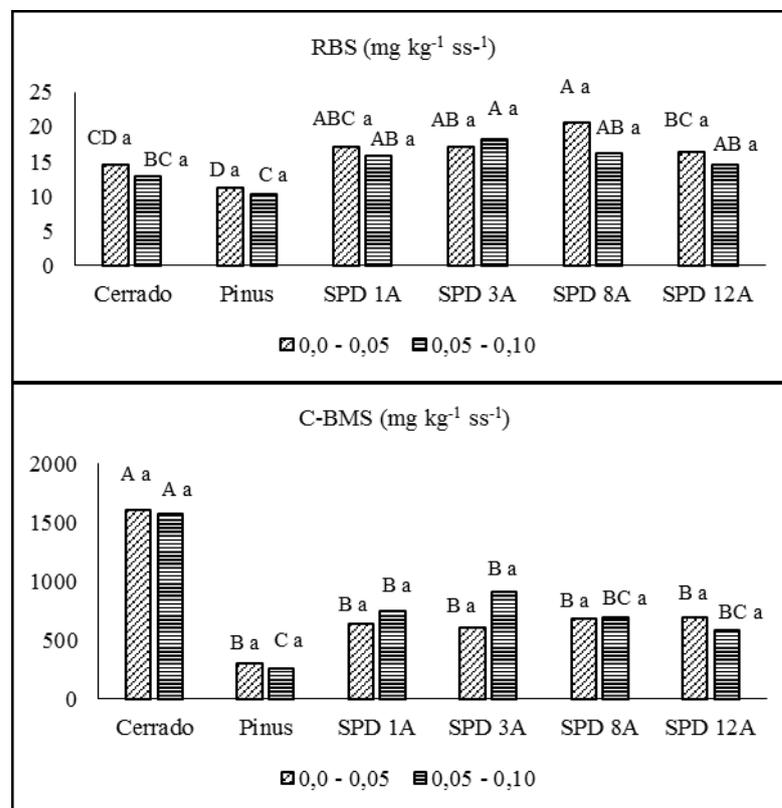


Figura 2. Efeito da substituição de pinus por sistema plantio direto na Respiração Basal do Solo (RBS) aos 24 dias de incubação e no Carbono da Biomassa Microbiana do Solo (C-BMS) nas profundidades de 0,0 – 0,05 e 0,05 – 0,10 m. Letras maiúsculas representam as diferenças encontradas entre as áreas e letras minúsculas representam as diferenças entre as profundidades (considerando uma mesma área).

A área sob pinus apresentou os menores valores de carbono da biomassa microbiana (FIGURA 2) em ambas as profundidades estudadas (301,67 e 256,51 mg kg⁻¹ ss⁻¹, respectivamente para 0 – 0,05 e 0,05 – 0,10 m), uma redução de mais de 80% na

biomassa microbiana em relação ao cerrado. Embora não tenha sido verificada diferença significativa entre a área de pinus e as áreas de plantio direto, essas áreas apresentaram conteúdo de C-BMS bem superior ao pinus nas duas profundidades estudadas, 635, 608, 981 e 699 mg kg⁻¹ ss⁻¹, respectivamente para o sistema plantio direto de 1, 3, 8 e 12 anos (0,0 – 0,05 m) e 753, 915, 699 e 590 mg kg⁻¹ ss⁻¹ (0,05 – 0,10 m).

A partir de vários estudos com diversas classes de solos, Lopes e colaboradores (2013) propuseram classes de interpretação para os índices microbiológicos mais utilizados em estudos de solo, similares àquelas usadas para nutrientes e fertilidade do solo, considerando 405 mg kg⁻¹ ss⁻¹ o nível adequado para C-BMS. Todas as áreas avaliadas apresentaram condições satisfatórias, à exceção da área de pinus. A partir dessa avaliação, pode-se dizer, de maneira geral, que o sistema plantio direto tende a estabelecer ao longo dos anos condições mais adequadas à atividade biológica no solo.

Provavelmente, as diferenças encontradas com relação à RBS e C-BMS, devem-se à constituição físico-química do material aportado pelos diferentes tipos de cobertura vegetal (ROSCOE; MACHADO, 2002; FERNANDES et al., 2012), ou seja, à presença de compostos inibidores à atividade microbiana na necromassa das espécies de pinus, como compostos fenólicos e resinas, que apresentam alta toxicidade microbiana (BRAGA et al, 2013). Isso fica bastante evidente no caso do pinus, visto seus galhos e acículas possuírem compostos orgânicos em grande quantidade, dificultando e especializando o processo de decomposição (DENARDINI et al., 2014).

Para sistemas de uso similares, onde há manutenção das condições de solo e clima, há tendência de homogeneização dos índices de atividade microbiana a longo prazo, respondendo a uma limitação de sítios (WINK et al., 2013). Há também um processo diferenciado de estresse fisiológico agindo sobre os microrganismos para cada sistema. Com isso, a energia necessária para processar os materiais aportados no solo é condicionada pela complexidade química destes materiais (FERNANDES et al., 2012).

Em condições de estresse, os microrganismos podem derivar uma maior porção de energia para a manutenção dos mecanismos celulares, havendo maior custo de manutenção ou taxa de respiração relativa em detrimento ao crescimento da biomassa. Assim, em solos com adição de serapilheira, de baixa qualidade nutricional, a biomassa microbiana encontra-se sob estresse e é incapaz de utilizar toda energia obtida na decomposição para o seu crescimento (WINK et al., 2013). Além disso, baixos teores de nutrientes no material vegetal também se relacionam com baixas taxas de decomposição.

Materiais com elevada relação C/N, altos teores de lignina e polifenóis sofrem decomposição bem mais lenta (TORRES et al., 2014). A serapilheira de pinus apresenta alta relação C/N, alta relação C/P e C/S, o que contribui para o incremento de elevados estoques de carbono no solo (COBO et al., 2002).

O quociente metabólico é um importante índice que permite avaliar o estado metabólico dos microrganismos do solo por meio da relação entre a quantidade de C-CO₂ produzida pela respiração e a quantidade incorporada pela biomassa microbiana do solo. Não foram observadas diferenças significativas para esse índice entre as profundidades de estudo. Apenas para os sistemas estudados (FIGURA 3), onde as menores atividades respiratórias por unidade de biomassa foram observadas na área de cerrado (0,01 mg kg⁻¹ ss⁻¹ em ambas profundidades) e as maiores na área de pinus (0,03 e 0,04 mg kg⁻¹ ss⁻¹, respectivamente para a profundidade de 0,05 e 0,05 – 0,10 m) seguida das áreas com sistema plantio direto que apresentaram variação de 0,02 mg kg⁻¹ ss⁻¹ (SPD 12 anos) até 0,04 (SDP 3 anos).

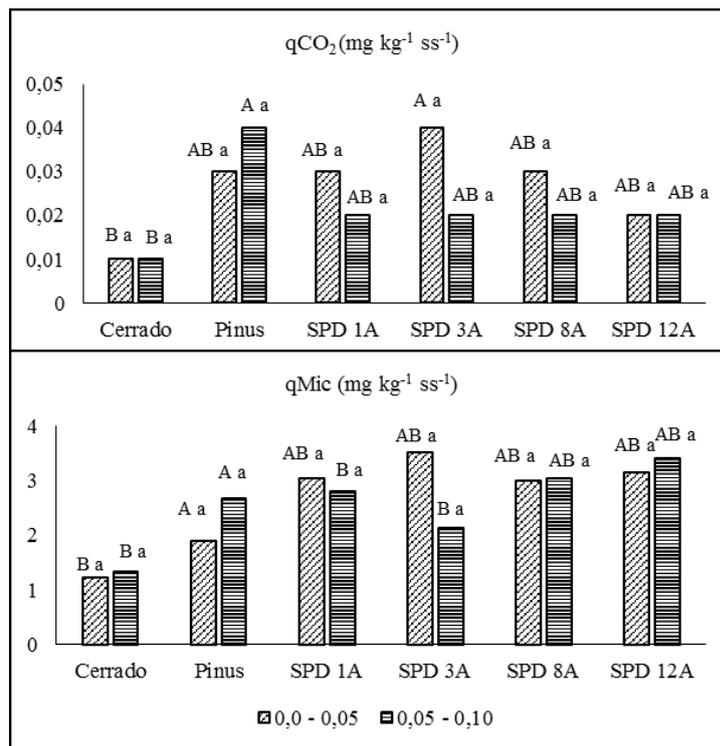


Figura 3. Efeito da substituição de pinus por sistema plantio direto no quociente metabólico do solo (qCO₂) e no quociente microbiano do solo (qMic) nas profundidades de 0,0 – 0,05 e 0,05 – 0,10 m. Letras maiúsculas representam as diferenças encontradas entre as áreas e letras minúsculas representam as diferenças entre as profundidades (considerando uma mesma área).

Embora não tenham sido verificadas diferenças significativas entre os sistemas de manejo pinus e plantio direto com relação ao qCO_2 , valores elevados desse índice em relação ao cerrado indicam que pode estar ocorrendo maior gasto de energia para a manutenção da população microbiana, ou seja, devido a uma situação de estresse ou distúrbio, os microrganismos necessitam de um consumo maior de substratos para sua sobrevivência.

No que se refere ao quociente microbiano ($qMic$), que expressa a quantidade de carbono orgânico do solo que está imobilizado na biomassa microbiana (Duarte et al., 2014), os menores valores foram encontrados na área de cerrado (FIGURA 3) independente da profundidade (1,22 e 1,34, respectivamente para 0,0 – 0,05 e 0,05 – 0,10 m). Por sua vez, as áreas de pinus e plantio direto apresentaram os maiores valores desse índice, mostrando uma alta eficiência na conversão de carbono orgânico para biomassa microbiana, ou seja, nessas áreas os microrganismos imobilizaram menos carbono em suas células. SILVA et al. (2010) afirmam que essa relação tem sido utilizada como indicador da qualidade da matéria orgânica do solo, indicando a quantidade de carbono orgânico que está imobilizado na biomassa e demonstrando, ainda, a eficiência dos microrganismos na utilização dos compostos orgânicos.

3.3 Análise de enzimas do solo

As enzimas têm importante papel nos processos relacionados à qualidade do solo, visto ser por meio delas que ocorre a degradação de moléculas orgânicas, permitindo aos microrganismos acesso à energia e substrato vindos da degradação desses compostos. No presente estudo, não foram observadas diferenças significativas para a atividade enzimática com relação às profundidades avaliadas (FIGURAS 4 e 5). A área de cerrado apresentou as maiores respostas enzimáticas (urease, β -glicosidase, arilsulfatase e fosfatase ácida).

A maior atividade da urease foi medida na área sob cerrado com valores médios de 146,81 e 134,43 $mg\ NH_4^+ g^{-1}\ solo\ seco\ h^{-1}$ nas profundidades de 0,00 – 0,05 e 0,05 – 0,10 m, respectivamente. Nas áreas de pinus e plantio direto não foram observadas diferenças significativas sendo que os valores variaram de 51,74 $mg\ NH_4^+ g^{-1}\ solo\ seco\ h^{-1}$ na área de plantio direto com 12 anos de implantação a 74,18 $mg\ NH_4^+ g^{-1}\ solo\ seco\ h^{-1}$ na área de pinus (camada de 0,00 – 0,05 m).

A β -glicosidase atua na etapa final do processo de decomposição da celulose. Ela é responsável pela hidrólise dos resíduos de celobiose formando o açúcar simples β -D-glucose (TABATABAI, 1994; PAUL e CLARK, 1996). Essa enzima apresentou variações de $67,19 \mu\text{g PNP g}^{-1} \text{ ss h}^{-1}$ na área de plantio direto, com 1 e 3 anos de implantação, até $188,43 \mu\text{g PNP g}^{-1} \text{ ss h}^{-1}$ na área de pinus. Essa, por sua vez, mostrou uma redução de duas vezes ($395,54 \mu\text{g PNP g}^{-1} \text{ ss h}^{-1}$) em comparação ao cerrado para a profundidade de $0,00 - 0,05 \text{ m}$.

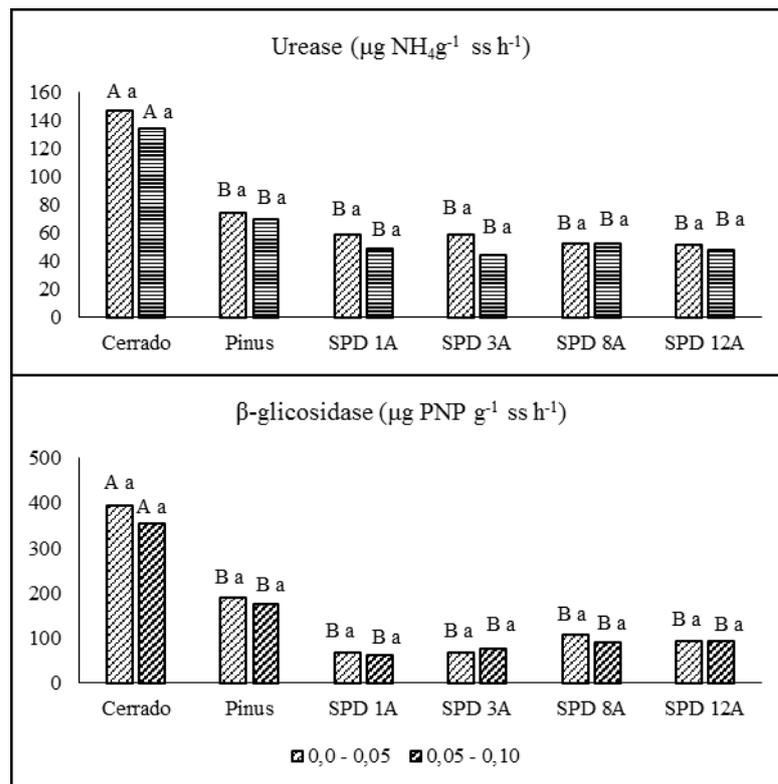


Figura 4. Efeito da substituição de pinus por sistema plantio direto na atividade das enzimas Urease e β -glicosidase nas profundidades de $0,0 - 0,05$ e $0,05 - 0,10 \text{ m}$. Letras maiúsculas representam as diferenças encontradas entre as áreas e letras minúsculas representam as diferenças entre as profundidades (considerando uma mesma área).

A atividade da fosfatase (FIGURA 5) foi superior à das demais enzimas em ambas as profundidades estudadas e em todos os sistemas avaliados. Os maiores valores foram encontrados na área de cerrado nativo ($1025,61$ e $901,76 \mu\text{g PNP g}^{-1} \text{ ss h}^{-1}$ para as profundidades de $0,00 - 0,05$ e $0,05 - 0,10 \text{ m}$), não havendo diferença significativa entre as áreas de cultivo de pinus e sistema plantio direto, onde os maiores valores foram observados nas áreas de plantio direto com 8 e 12 anos de implantação ($517,90$ e $515,62$

$\mu\text{g PNP g}^{-1} \text{ ss h}^{-1}$, respectivamente) e os menores na área de pinus ($339,21 \mu\text{g PNP g}^{-1} \text{ ss h}^{-1}$) na camada mais superficial do solo.

Os valores mais elevados de atividade dessa enzima no cerrado pode ser uma resposta dos microrganismos à deficiência de fósforo comum em solos altamente intemperizados como é o caso dos latossolos. Nessa condição, a produção da fosfatase pode ser estimulada para suprir a necessidade em fósforo, o que não ocorre em solos cultivados onde há inibição da produção dessa enzima em razão do suprimento de fósforo via adubação mineral (MENDES et al., 2012).

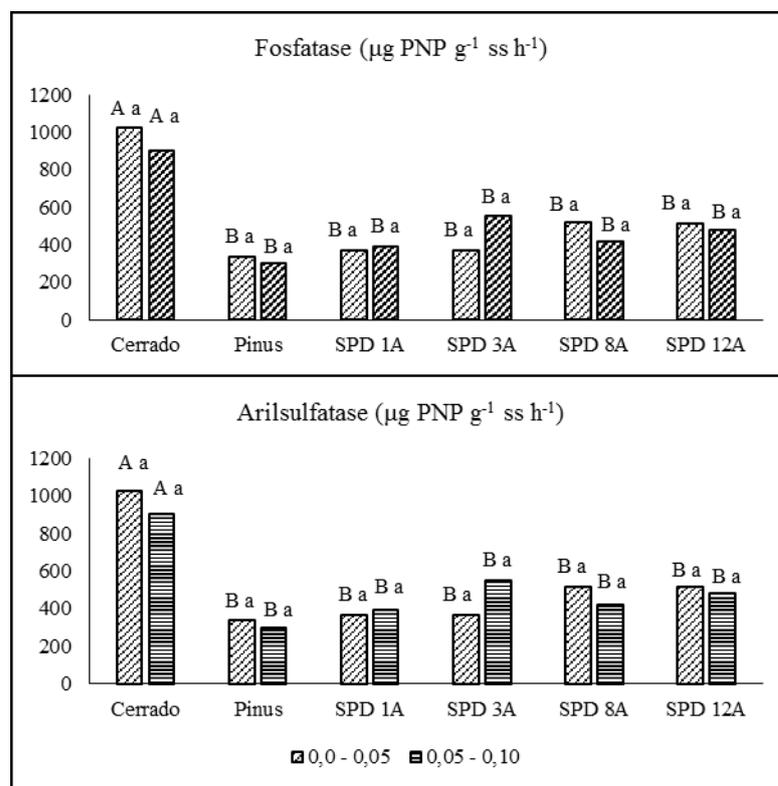


Figura 5. Efeito da substituição de pinus por sistema plantio direto na atividade das enzimas fosfatase ácida e arilsulfatase nas profundidades de 0,0 – 0,05 e 0,05 – 0,10 m. Letras maiúsculas representam as diferenças encontradas entre as áreas e letras minúsculas representam as diferenças entre as profundidades (considerando uma mesma área).

A arilsulfatase é uma enzima envolvida com a mineralização de sulfatos de ésteres no solo e de grande importância no ciclo do enxofre. A área de cerrado apresentou maior atividade dessa enzima em relação a área de pinus e às áreas de plantio direto, não sendo observada diferença significativa entre as áreas de cultivo. Na camada de 0,00 – 0,05 m

a área de cerrado apresentou valores de 134,93 $\mu\text{g PNP g}^{-1} \text{ ss h}^{-1}$ que foi 1,5 x superior a atividade encontrada na área de pinus, evidenciando a importância da ciclagem do enxofre orgânico pela arilsulfatase nas áreas nativas.

Os perfis de atividade enzimática podem refletir uma parte essencial da diversidade funcional do solo, que é controlada pela diversidade genética de microrganismos do solo, plantas e animais do solo, em estreita relação com os efeitos ambientais e interações ecológicas (HAMIDO e KPOMBLEKOU-A, 2009). No entanto, uma das principais limitações para o uso de atividades enzimáticas como indicadores é a sua variabilidade natural dentro e entre os solos. Por essa razão, os resultados obtidos com um solo não podem ser generalizados para outros solos que diferem em suas propriedades e características intrínsecas.

3.4 Correlação de Pearson e Análise de Redundância (RDA)

As correlações de Pearson foram realizadas entre as características físicas, químicas (pH, P, K, Ca, Mg, (H+Al), Al, COT, N, densidade do solo (Ds), macroporos, microporos e porosidade total (PT)) e as microbiológicas (respiração basal do solo (RBS), carbono da biomassa microbiana (C-BMS), quociente metabólico ($q\text{CO}_2$) e microbiano ($q\text{Mic}$), Urease, β -glicosidase, fosfatase e arilsulfatase), e permitem avaliar o grau de associação entre as variáveis, de essencial importância para os estudos de ecologia funcional do solo. Os atributos microbiológicos foram submetidos à análise de redundância (RDA), que permitiu verificar a interferência dos sistemas de manejo e da disponibilidade de nutrientes na variabilidade de atributos microbiológicos do solo, e o teste de Monte Carlo, que se mostrou estatisticamente significativo ($p < 0,01$) em ambas profundidades de estudo (FIGURA 6).

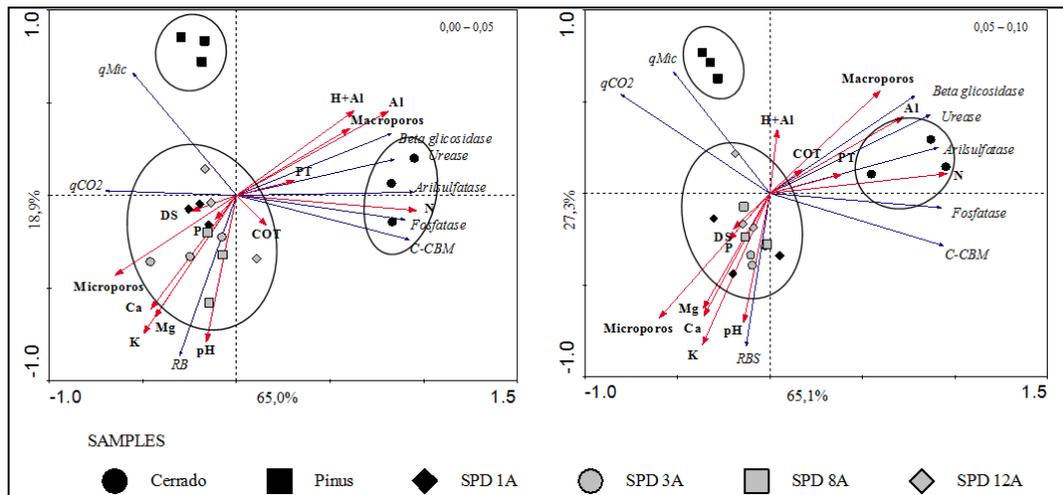


Figura 6. Análise de redundância (triplo) (RDA) dos atributos microbiológicos (RBS, C-BMS, qCO₂, qMic, fosfatase, urease, arilsulfatase e β-glicosidase) e variáveis ambientais (pH, P, K, Ca, Mg, Al, (H+Al), COT, N, Ds (densidade do solo), macroporos, microporos, PT (porosidade total)) em área de cerrado, pinus e plantio direto com 1, 3, 8 e 12 anos de implantação nas profundidades de 0,00 – 0,05 e 0,05 – 0,10 m.

Para a profundidade de 0,00 – 0,05 m, as variáveis ambientais explicaram 93,5% da variabilidade dos dados microbiológicos. O primeiro e segundo eixos explicam 83,9% da ordenação, sendo que o eixo 1 explica 65% e o eixo 2 explica 18,9%. Na profundidade de 0,05 – 0,10 m, as variáveis ambientais explicam 93,4% da variabilidade dos dados microbiológicos, sendo que os dois primeiros eixos explicam 92,4% da variabilidade, onde o primeiro eixo explica 65,1% e o segundo eixo 27,3%. Na RDA podemos observar, em ambas profundidades, a separação de 3 grupos, um formado pela área de cerrado, outro pela área de pinus e um terceiro grupo formado pelas áreas de plantio direto (1, 3, 8 e 12 anos de implantação).

Independentemente da profundidade avaliada, alguns atributos microbiológicos e algumas variáveis ambientais relacionam-se às mesmas áreas. A área de cerrado relacionou-se positivamente com a atividade enzimática do solo (fosfatase, urease, arilsulfatase e β-glicosidase) e com as variáveis ambientais (H+Al), Al, N, PT e macroporos. As enzimas correlacionam-se positivamente com a área de cerrado, onde, em razão do não fornecimento de adubação, a atividade de enzimas é maior devido à necessidade por nutrientes.

A correlação de Pearson é positiva entre o C-BMS e as enzimas fosfatase, urease, arilsulfatase e β -glicosidase ($r_p = 0,24$, $p < 0,05$; $r_p = 0,51$, $p < 0,01$; $r_p = 0,21$, $p < 0,01$ e $r_p = 0,43$, $p < 0,05$, respectivamente). Além disso, as enzimas correlacionam-se positivamente (fosfatase x urease $r_p = 0,71$, $p < 0,01$; fosfatase e arilsulfatase $r_p = 0,89$, $p < 0,001$; fosfatase e β -glicosidase $r_p = 0,73$, $p < 0,01$; urease e arilsulfatase $r_p = 0,78$, $p < 0,01$; urease e β -glicosidase $r_p = 0,81$, $p < 0,01$ e arilsulfatase e β -glicosidase $r_p = 0,84$, $p < 0,01$).

O quociente microbiano é a variável microbiológica que mais interfere na ordenação da área de pinus, confirmando a baixa eficiência da biomassa desse local em imobilizar carbono orgânico.

As áreas de plantio direto (independente do ano de implantação) apresentam relação positiva com as variáveis microbiológicas RBS e quociente metabólico e com as variáveis ambientais pH, P, K, Ca, Mg, microporos e a densidade do solo. A correlação de Pearson é positiva entre o qCO_2 e a RBS ($r_p = 0,56$, $p < 0,05$) e o $qMic$ ($r_p = 0,45$, $p < 0,05$).

O COT influenciou a ordenação da área de cerrado e das áreas de plantio direto (independentemente do tempo de implantação). Esse atributo apresentou correlação positiva com a RBS ($r_p = 0,79$, $p < 0,05$) e o C-BMS ($r_p = 0,83$, $p < 0,05$). Em geral, o manejo do solo que leva a um acúmulo de carbono orgânico promove benefícios ao ecossistema. Contudo, o uso incorreto da terra pode causar a degradação do solo e conseqüentemente a redução dos níveis de carbono solúvel (LAL, 2004). A conversão de terras de florestas nativas para terras agrícolas é propensa a perdas de solo C (CAMARA-FERREIRA et al., 2014).

Mudanças no uso do solo e no manejo interferem diretamente na biomassa microbiana, que é a porção viva da matéria orgânica do solo e está envolvida em diversos processos (ciclagem de nutrientes, decomposição, mineralização e imobilização de nutrientes, entre outros), os quais também são afetados pelas mudanças de uso e manejo do solo (ZHAO et al., 2013), conforme verificamos na figura 6 com a baixa relação entre o C-BMS e as áreas de pinus e de plantio direto.

A biomassa microbiana e a atividade enzimática têm sido amplamente utilizadas para avaliar os impactos da mudança do uso da terra, na qualidade do solo. Dalal et al. (2012) relataram que o C-BMS é altamente sensível a mudanças no uso da terra. Complementarmente, Mijangos et al. (2014) observaram que a substituição de plantio de

pinus influencia as atividades enzimáticas e a ciclagem de nutrientes. Além disso, a atividade enzimática é sensível às alterações induzidas pelo homem (TISCHER et al., 2014; ZHAO et al., 2014).

O quociente metabólico, que representa a respiração específica por parte da biomassa microbiana, pode indicar a eficiência de uma biomassa na utilização do C. Desse modo, um ambiente em equilíbrio perde menos C na forma de CO₂ durante a respiração e imobiliza mais C nas células microbianas (ZHANG et al., 2003, TOLEDO et al., 2012). Assim, em uma comparação entre sistemas naturais e agrícolas, os sistemas agrícolas sempre vão apresentar um desequilíbrio em relação a esse atributo microbiológico.

A relação positiva entre o qCO₂ e as áreas de plantio direto pode ser devido à quantidade e qualidade do material depositado constantemente e que se difere da serapilheira da floresta de pinus, que em sua maior parte é composta por acículas de alta concentração de lignina e de difícil decomposição (ARMENISE et al., 2013).

As práticas de manejo do solo provocam alterações em seus atributos químicos, físicos e microbiológicos, resultando em perda de qualidade e afetando de uma maneira geral a sustentabilidade ambiental das atividades agrícolas (NIERO et al., 2010). Podemos verificar isso ao comparar as respostas obtidas com a análise dos indicadores microbiológicos na substituição da floresta de pinus pelo sistema de plantio direto. Há um grande impacto na qualidade do solo, representado pelo aumento na densidade, aumento na quantidade de microporos, baixa eficiência na imobilização e utilização do carbono orgânico e outras consequências. O uso continuado da prática de plantio direto pode levar à recuperação desses atributos e a um novo equilíbrio no sistema solo-planta-organismos.

3 CONCLUSÕES

A qualidade do solo é uma função integrada de propriedades físicas, químicas e biológicas. Na conversão de áreas naturais em floresta de pinus, essas propriedades foram impactadas negativamente com a redução do nível nutricional e alteração da estrutura do solo, refletidas em menor biomassa microbiana até 10 cm de profundidade.

Embora a substituição da floresta de pinus pelo sistema de plantio direto tenha melhorado a fertilidade ela promoveu aumento na densidade e microporosidade do solo, além de redução na atividade microbiana quando em comparação com o cerrado.

O tempo de implantação do sistema de plantio direto igual a 12 anos foi o que mais se aproximou do cerrado nos teores de carbono e características físicas do solo, bem como na atividade e biomassa microbianas.

Os resultados encontrados neste trabalho refletem a menor qualidade dos solos das áreas convertidas em sistemas de cultivo, porém ressalta a importância da adoção de um sistema mais conservacionista a longo prazo, como o sistema plantio direto.

4 REFERÊNCIAS

ALEXANDER, A. B. Soil compaction on skid trails after selective logging in moist evergreen forest of Ghana. *Agriculture and Biology Journal of North America*, v. 3, p. 262-264. 2012.

<https://doi.org/10.5251/abjna.2012.3.6.262.264>

ANDERSON, J. P. E.; DOMSCH, K. H. The metabolic quotient (qCO₂) as a specific activity parameter to assess the effects of environmental conditions, such as pH, on the microbial biomass of forest soils. *Soil Biology and Biochemistry*, Elmsford, v. 25, n.3, p. 393-395, 1993.

[https://doi.org/10.1016/0038-0717\(93\)90140-7](https://doi.org/10.1016/0038-0717(93)90140-7)

ARMENISE, E.; REDMILE-GORDON, M. A.; STELLACCI, A. M.; CICCARESE, A.; RUBINO, P. Developing a soil quality index to compare soil fitness for agricultural use under different managements in the Mediterranean environment, *Soil Tillage Research*, v. 130, p. 91-98, 2013.

<https://doi.org/10.1016/j.still.2013.02.013>

BADINI, O.; STOCKLE, C.O.; JONES, J.W.; NELSON, R.; KODIO, A.; KEITA, M. A simulation-based analysis of productivity and soil carbon in response to time-controlled rotational grazing in the West African Sahel region. *Agricultural Systems*, v. 94, p. 87-96. 2007.

<https://doi.org/10.1016/j.agsy.2005.09.010>

BATEY T. Soil compaction and soil management - a review. *Soil Use and Management*, v. 12, p. 335-345. 2009.

<https://doi.org/10.1111/j.1475-2743.2009.00236.x>

BENDER, J.; WEIGEL, H-J. Changes in atmospheric chemistry and crop health: a review. *Agronomy for Sustainable Development*, v. 31, p. 81-89. 2011.

<https://doi.org/10.1051/agro/2010013>

BLACK, C.A. *Methods of Soil Analysis, Part II and I*. American Society Inc. Publishing, Madison, U.S.A, p. 770-779, 1965.

BRAGA, R. M.; DIAS JUNIOR, M. S.; BRAGA, F. A.; PROTÁSIO, T. P. Physical influence of dystroferic red latosol under four eucalypt species over the long term. *Ciência e Agrotecnologia*, Lavras, v. 37, n. 4, p. 313-322, jul./ago. 2013.

<https://doi.org/10.1590/S1413-70542013000400004>

CAMARA-FERREIRA, A. C.; CARVALHO-LEITE, L. F.; FERREIRA DE ARAUJO, A.; EISENHAEUER, N. Land-use type effects on soil organic carbon and microbial properties in a semi-arid region of Northeast Brazil, *Land Degradation*

Development., online first, doi:10.1002/ldr.2282, 2014.

<https://doi.org/10.1002/ldr.2282>

COYLE, C.; CREAMER, R. E.; SCHULTE, R. P. O.; O'Sullivan, L.; JORDAN, P. A. Functional Land Management conceptual framework under soil drainage and land use scenarios. *Environmental Science & Policy*, v. 56, p. 39-48. 2016.

<https://doi.org/10.1016/j.envsci.2015.10.012>

DALAL, R. C.; THORNTON, C. M.; COWIE, B. A. Turnover of organic carbon and nitrogen in soil assessed from $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ changes under pasture and cropping practices and estimates of greenhouse gas emissions. *Science of the Total Environment*, v. 465, p. 26-35. 2013.

<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2013.04.101>

DAVID, L. K. Processes in microbial ecology. Oxford: Oxford University Press. 328 p. 2012.

DELGADO, B. M.; MAESTRE F.T.; GALLARDO A. Decoupling of soil nutrient cycles as a function of aridity in global drylands. *Nature*, v. 502, p. 672-676. 2013.

DENARDIN, R. B. N.; MATTIAS, J. L.; WILDNER, L. P.; NESI, C. N.; SORDI, A.; KOLLING, D. F.; BUSNELLO, F. J.; CERUTTI, T. Estoque de carbono no solo sob diferentes formações forestais. *Ciência Florestal*, Santa Maria, v. 24, n. 1, p. 59-69, 2014.

<https://doi.org/10.5902/1980509813323>

DON, A.; SCHUMACHER, J.; FREIBAUER, A. Impact of tropical land-use change on soil organic carbon stocks - a meta-analysis. *Global Change Biology*, v. 17, p. 1658-1670. 2011.

<https://doi.org/10.1111/j.1365-2486.2010.02336.x>

EIVAZI, F.; TABATABAI, M. A. Glucosidases and galactosidases in soils. *Soil Biology and Biochemistry*, Elmsford, v. 20, p. 601-606, 1988.

[https://doi.org/10.1016/0038-0717\(88\)90141-1](https://doi.org/10.1016/0038-0717(88)90141-1)

EL, M. B.; BARMAN, R.; MEIYAPPAN, P.; SONG, Y.; LIANG, M.; JAIN, A. Carbon dynamics in the Amazonian basin: integration of eddy covariance and ecophysiological data with a land surface model. *Agricultural & Forest Meteorology*, v. 182, p. 156-167. 2013.

<https://doi.org/10.1016/j.agrformet.2013.03.011>

EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisas de Solos. Manual de métodos de análises de solos. 2. ed. Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 2011. 230 p.

EMBRAPA. Sistema Brasileiro de Classificação de Solos. 3. ed. Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 2013. 353 p.

ESHEL, G.; SHEPON, A.; MAKOV, T.; MILO, R. Land, irrigation water, greenhouse gas, and reactive nitrogen burdens of meat, eggs, and dairy production in the United States. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, v. 111, p. 11996-12001. 2014.

<https://doi.org/10.1073/pnas.1402183111>

FERNANDES, M. M.; CARVALHO, M. G. C.; ARAÚJO, J. M. R.; MELO, F. R.; SILVA, C. A.; SAMPAIO, F. M. T.; LOBATO, M. G. R. Matéria orgânica e biomassa microbiana em plantios de eucalipto no Cerrado Piauiense. *Revista Floresta e Ambiente*, v. 19, n. 4, p. 453-459, 2012.

<https://doi.org/10.4322/floram.2012.061>

FERREIRA, A. S.; CAMARGO, F. A. O.; VIDOR, C. Utilização de influenciando a avaliação da biomassa microbiana do solo. *Revista Brasileira de Ciência do Solo* Campinas, v. 23, p. 991-996, 1999.

<https://doi.org/10.1590/S0100-06831999000400026>

FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. *Ciência e Agrotecnologia*, Lavras, v. 35, n. 6, p. 1039-1042, 2011.

<https://doi.org/10.1590/S1413-70542011000600001>

HAMIDO, S. A.; KPOMBLEKOU, A. K. Cover crop and tillage effect on soil enzyme activities following tomato. *Soil Tillage Research*, v. 105, p. 269-274. 2009.

<https://doi.org/10.1016/j.still.2009.09.007>

HENDERSON, B. B.; GERBER, P. J.; HILINSKI, T. E.; FALCUCCI A.; OJIMA, D. S.; SALVATORE, M.; CONANT, R. T. Greenhouse gas mitigation potential of the world's grazing lands: modeling soil carbon and nitrogen fluxes of mitigation practices. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, v. 207, p. 91-100. 2015.

<https://doi.org/10.1016/j.agee.2015.03.029>

KANDELER, E.; GERBER, H. Short-term assay of soil urease activity using colorimetric determination of ammonium. *Biology and Fertility of Soils*, Berlin, v. 6, p. 68-72, 1988.

<https://doi.org/10.1007/BF00257924>

KÖPPEN, W. *Die nfluen der erde*. Walter de Gruyter, Leipzig, 1923.

LAL, R. Soil carbon sequestration to mitigate global change, *Geoderma*, v. 123, p. 1-22, 2004.

<https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2004.01.032>

LOPES, A. A. C.; SOUSA, D. M. G.; CHAER, G. M.; GOEDERT, W. J.; MENDES, I. C. Interpretation of microbial soil indicators as a function of crop yield and organic

carbon. *Soil Science Society of America Journal*. v. 77, n. 2, p. 461-472, 2012.
<https://doi.org/10.2136/sssaj2012.0191>

MENDES, I. C. Biological functioning of Brazilian Cerrado soils under different vegetation types. *Plant and Soil*, Hague, Holanda, v. 359, p. 183-195, 2012.
<https://doi.org/10.1007/s11104-012-1195-6>

MIJANGOS, I.; EPELDE, L.; GARBISU, C.; GONZÁLEZ-OREJA, J. A. Modification of soil enzyme activities as a consequence of replacing meadows by pine plantations under temperate climate, *Pedobiologia*, v. 57, p. 61-66, 2014.
<https://doi.org/10.1016/j.pedobi.2013.12.006>

PAUL, E. A.; CLARK, F. E. *Soil microbiology and biochemistry*. San Diego, Academic Press. 340 p. 1996.

SILVA, E. E.; AZEVEDO, P. H. S.; DE-POLLI, H. Determinação da respiração basal (RBS) e quociente metabólico do solo (qCO₂). Embrapa Agrobiologia. Seropédica. 2007.

SILVA, R. R. D.; SILVA, M. L. N.; CARDOSO, E. L.; MOREIRA, F. M. D. S.; CURI, N.; ALIVISI, A. M. T. Biomassa e atividade microbiana em solos sob diferentes sistemas de manejo na região nfluencings campos das vertentes - MG. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, Viçosa, MG, v. 34, p. 1585-1592, 2010.
<https://doi.org/10.1590/S0100-06832010000500011>

TABATABAI, M. A. Soil enzymes. In: WEAVER, R.W.; SCOTT, A.; BOTTOMELEY, P. J., eds. *Methods of soil analysis: microbiological and biochemical properties*. Madison, Soil Science Society of America. p.778-835. 1994.

TABATABAI, M. A.; BREMNER, J. M. Arylsulfatase activity of soils. *Soil Science Society of America Proceedings*, Madison, v. 34, p. 225-229, 1969.
<https://doi.org/10.2136/sssaj1970.03615995003400020016x>

TER BRAAK, C. J. F.; SMILAUER, P. CANOCO Reference manual and user's guide to Canoco for Windows: Software for Canonical Community Ordination (Version 4.0). New York: Microcomputer Power. 353 p. 2002.

TISCHER, A.; BLAGODATSKAYA, E.; HAMER, U. Extracellular enzyme activities in a tropical mountain rainforest region of southern Ecuador affected by low soil P status and land-use change, *Appl. Soil Ecol.*, v. 74, p. 1-11, 2014.
<https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2013.09.007>

TOLEDO, D. M.; GALANTINI, J. A.; VAZQUEZ, S.; ARZUAGA, S. Soil organic carbon stock and stratification ratio as indicators of soil quality, 19th ISTRO International Soil Tillage Research Organization Conference and IV SUCS Meeting

Striving for sustainable high productivity, 24-28 September 2012, Montevideo, Uruguay, Published on DVD, 2012.

TOLEDO, D. M.; GALANTINI, J. A.; VAZQUEZ, S.; ARZUAGA, S. Soil organic carbon stock and stratification ratio as indicators of soil quality. In: ISTRO International Soil Tillage Research Organization Conference, 19.; SUCS Meeting Striving for sustainable high productivity, 4., 2012, Montevideo. Anais [...]. Montevideo: [s. n.], 2012. 1 DVD.

TORRES, C. M. M. E.; JACOVINE, L. A. G.; BRIANEZI, D.; ALVES, E. B. B. M. Sistemas agroflorestais no Brasil: uma abordagem sobre a estocagem de carbono. *Pesquisa Florestal Brasileira*. v. 34, n. 79, p. 235-244, 2014.
<https://doi.org/10.4336/2014.pfb.34.79.633>

VANCE, E. D.; BROOKES, P. C.; JENKINSON, D. S. An extraction method for measuring soil microbial biomass-C. *Soil Biology and Biochemistry*, Elmsford, v. 19, p. 703-707, 1987.
[https://doi.org/10.1016/0038-0717\(87\)90052-6](https://doi.org/10.1016/0038-0717(87)90052-6)

WINK, C.; REINERT, D. J.; MÜLLER, I.; REICHERT, J. M.; JACOMET, L. A idade das plantações de Eucalyptus sp. inFuenciando os estoques de carbono. *Ciência Florestal*, Santa Maria, v. 23, n. 2, p. 333-343, 2013.
<https://doi.org/10.5902/198050989279>

YEOMANS, J.; BREMNER, J. M. A rapid and precise method four routine determination of organic carbon in soil. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, New York, v. 19, p. 1467-1476, 1988.
<https://doi.org/10.1080/00103628809368027>

ZHANG, G. L.; ZHU, Y. G.; FU, B. J. Quality changes of soils in urban and suburban areas and its eco-environmental impacts-a review, *Acta Ecology Sinergy.*, v. 23, p. 539-546, 2003.

ZHAO, D.; LI, F.; YANG, Q.; WANG, R.; SONG, Y.; TAO, Y. The influence of different types of urban land use on soil microbial biomass and functional diversity in Beijing, China, *Soil Use Manage.* v. 29, p. 230-239, 2013.
<https://doi.org/10.1111/sum.12034>

ZHAO, F.; YANG, G.; HAN, X.; FENG, Y.; REN, G. Stratification of Carbon Fractions and Carbon Management Index in Deep Soil Affected by the Grain-to-Green Program in China, *Plos One*, v. 9, p. 99657, 2014.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0099657>

CAPÍTULO III

ESTUDO DA ESTRUTURA, COMPOSIÇÃO E ABUNDÂNCIA MICROBIANA NO SOLO EM RAZÃO DA SUBSTITUIÇÃO DE PINUS POR SISTEMA PLANTIO DIRETO

RESUMO

BICALHO, INGRID MARA. **Estudo da estrutura, composição e abundância microbiana no solo em razão da substituição de Pinus por Sistema Plantio Direto.** 2019. Uberlândia: UFU, 2019. P. 56 – 83. Tese (Doutorado em Agronomia/Solos) – Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia.

As práticas de uso da terra alteram a estrutura, composição e abundância das populações microbianas do solo. O presente trabalho teve como objetivo avaliar a estrutura e composição de populações de bactérias e fungos no solo, além da abundância desses organismos e bactérias diazotróficas, em Latossolo Amarelo ácrico típico, fase cerrado. Foram selecionadas áreas sob cerrado, pinus e Sistema Plantio Direto com 1, 3, 8 e 12 anos de implantação. Buscou-se verificar a interferência de atributos químicos nessas populações, nas profundidades de 0,00 – 0,05 e 0,05 – 0,10 m. Para isso, foram avaliadas as populações bacteriana (16S rDNA) e fúngica (ITS) através da eletroforese em gel com gradiente desnaturante (DGGE) e a abundância dessas populações, além de bactérias fixadoras de nitrogênio de vida livre (*nifH*) através da PCR em tempo real, e a interferência dos atributos químicos do solo na dinâmica dessas populações. A biodiversidade de bactérias e fungos do solo tem uma complexa relação com a intensidade das intervenções humanas. Diferenças consideráveis na estrutura, composição e abundância dessas populações foram encontradas entre os sistemas agrícolas e os florestais. A análise de DGGE mostrou uma separação distinta entre a área de cerrado e as áreas agrícolas, assim confirmando o efeito dos sistemas de uso e manejo na diversidade de microrganismos do solo.

Palavras-chave: genes *nifH*, 16s DNAr, gene ITS, diversidade de microrganismos, sistemas de manejo.

ABSTRACT

BICALHO, INGRID MARA. **Study in microbial structure, composition and abundance due to the substitution of Pinus by Direct Planting System.** 2019. Uberlandia: UFU, 2019. P 56 – 83. Thesis (Doctorate in Agronomy/Soils) – Federal University of Uberlandia, Uberlandia.

The practices of usage of land alter the structure, composition and abundance of the microbial communities in the soil. The present work had the objective of evaluating the structure and composition of bacteria and fungi in soil, and also the abundance of these organisms and diazotrophic bacteria, in yellow acric typical latosol, in cerrado stage. The areas selected were under cerrado, pinus and Direct Planting System, with 1, 3, 8 and 12 years of implantation. It was aimed to verify the interference of chemical attributes in these communities, in the depths of 0,00 – 0,05 and 0,05 – 0,10 m. To do so, the following evaluations were performed: bacteria (16S rDNA) and fungal (ITS) communities through means of denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE) and the abundance of the given communities, and also nitrogen fixating free-life bacteria (*nifH*) through the real time PCR, and the interference of soil chemical attributes in the dynamics of these communities. The biodiversity of bacteria and fungi in soil has a complex relation with the intensity of human intervention. Considerable differences in structure, composition and abundance of these communities were found between the agricultural and forest systems. The DGGE analysis showed a distinct separation between the cerrado area and the agricultural areas, thus confirming the effect of usage and management systems in the diversity of soil microorganisms.

Keywords: *nifH* genes, 16s rDNA, ITS gene, microorganisms diversity, management systems.

1. INTRODUÇÃO

Os microrganismos no solo são muito importantes para a manutenção da função do solo em ambos sistemas, naturais ou agrícolas, devido ao seu papel chave em processos como formação e estruturação do solo, decomposição da matéria orgânica, remoção de xenobióticos e a ciclagem de carbono, nitrogênio, fósforo e enxofre (LEFF et al., 2015). Além disso, desempenham papel chave na supressão de doenças em plantas e na promoção de crescimento das plantas e mudanças na vegetação.

A atividade e diversidade dos microrganismos do solo é muito influenciada pelos sistemas de uso e manejo. Mudanças como teor de água, pH, classe de solo e propriedades físicas e químicas, influenciam na composição e abundância dos microrganismos alterando características de solo, incluindo propriedades e processos físicos, químicos e biológicos, levando à perda de diversidade e matéria orgânica. Assim, o uso da terra e os sistemas de manejo desempenham papel fundamental na regulação das populações microbianas.

O conhecimento acerca da biodiversidade de organismos associados às áreas agrícolas é necessário no sentido de estimular a geração e difusão de conhecimento tecnológico e científico que permitirá um uso mais sustentável dessas áreas. A importância desses estudos não reside apenas à utilização de um manejo mais conservacionista, mas também à preservação de recursos genéticos significantes (CANGELOSI e MESCHKE, 2014) e ainda desconhecidos para o homem. Dentre esses recursos, destaca-se a possível riqueza e diversidade de microrganismos com papéis funcionais na manutenção e equilíbrio do ecossistema cuja diversidade nas áreas agrícolas ainda não é amplamente conhecida.

Os microrganismos do solo são essenciais nos ciclos biogeoquímicos globais, contribuindo para a disponibilização de nutrientes dentro das cadeias tróficas, no ciclo do nitrogênio, por exemplo. O principal mecanismo de entrada deste elemento no solo é via fixação biológica, onde o N_2 atmosférico é convertido em amônio (NH_4^+) por meio de diazotróficos bacterianos simbiotes ou de vida livre (OLLE e WILLIANS, 2013). Os genes *nif* são os responsáveis pela codificação de duas subunidades da nitrogenase que são muito conservadas (GUPTA, 2012). Por isso esse gene passou a ser utilizado para caracterização da diversidade de bactérias diazotróficas.

A perspectiva de uma grande variedade de microrganismos não cultiváveis nos solos estimulou o desenvolvimento de técnicas que permitem o estudo da estrutura, composição e abundância dessas populações independente de seu cultivo (DLOTT, et al., 2015). Assim, as técnicas moleculares tem revolucionado o estudo da ecologia microbiana até então desconhecida, bem como da organização de suas populações (BROWN et al., 2015).

O presente trabalho teve como objetivo avaliar a estrutura e composição de populações de bactérias e fungos no solo, além da abundância desses organismos e bactérias diazotróficas, em áreas de pinus em substituição por sistema plantio direto, buscando verificar a interferência de atributos químicos nessas populações nas profundidades de 0,00 – 0,05 e 0,05 – 0,10 m.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi realizado com amostras de Latossolo Amarelo ácrico típico de textura muito argilosa, localizado na propriedade Floresta do Lobo, município de Uberlândia – MG. Nesta área, o clima é do tipo como Cwa (KÖPPEN, 1923), apresentando verão quente e chuvoso e inverno seco com duas estações bem definidas. Com o intuito de verificar a interferência da substituição de floresta de pinus por sistema plantio direto, foram escolhidas seis áreas para esse estudo a saber: cerrado (113 ha de área total, com 950 m de altitude e localização geográfica 19°05'41" S e 48°09'33" W); floresta de pinus (9,5 ha de área total, com 964 m de altitude e localização geográfica 19°04'49" S e 48°08'45" W); sistema plantio direto com 1 ano de implantação (27,7 ha de área total, com 965 m de altitude e localização geográfica 19°05'22" S e 48°09'57" W); sistema plantio direto com 3 anos de implantação (28,16 ha de área total, com 968 m de altitude e localização geográfica 19°04'35" S e 48°08'53" W), sistema plantio direto com 8 anos de implantação (154 ha de área total, com 965 m de altitude e localização geográfica 19°02'49" S e 48°07'01" W) e sistema plantio direto com 12 anos de implantação (65 ha de área total, com 954 m de altitude e localização geográfica 19°03'39" S e 48°08'44" W).



Fig. 1. Localização das áreas de estudo: 1 – Cerrado; 2 – Pinus; 3 – Sistema plantio direto (SPD) 1 ano; 4 – SPD 3 anos, 5 – SPD 8 anos e 6 – SPD 12 anos. Latossolo Amarelo ácrico típico, textura muito argilosa.

2.1 Amostras de solo e caracterização dos atributos físico-químicos

As coletas de solo foram realizadas nas profundidades de 0,00 – 0,05 e 0,05 – 0,10 m. Foram estabelecidos transectos perpendiculares entre si com o propósito de padronizar as coletas. Foram realizadas três (3) amostras compostas (de aproximadamente 500 g) a partir de cinco amostras simples homogêneas. O delineamento constou de 36 amostras (6 locais, 2 profundidades e 3 repetições). Após as coletas as amostras foram encaminhadas para o Laboratório de Pedologia da Universidade Federal de Uberlândia (UFU), onde foram peneiradas em malhas de 2 e 4 mm para análises moleculares, físicas e químicas. As amostras foram armazenadas sob refrigeração à temperatura de 8°C.

Foram realizadas análises dos atributos físicos (textura, densidade do solo, e porosidade total) e químicos (pH, P, K, Ca, Mg, N e COT) do solo de acordo com recomendações da Embrapa (2013 e 2011), respectivamente para verificar as diferenças existentes entre as áreas de estudo (TABELA 1).

Tabela 1. Análises físicas e químicas das áreas estudadas, nas profundidades de 0,00 – 0,05 e 0,05 – 0,10 m.

Sistemas	Cerrado	Pinus	Sistema plantio direto			
			1 ano	3 anos	8 anos	12 anos
Profundidade (m)			0,0 – 0,05			
areia:silte:argila	19:17:64	18:16:64	18:18:64	19:17:64	18:19:63	18:14:68
Ds	0,82	0,80	0,84	1,01	1,12	0,85
PT	53,42	53,30	51,74	49,62	45,74	54,04
pH (H ₂ O)	4,9	4,0	5,25	5,55	6,15	6,15
COT (g kg ⁻¹)	11,98	9,86	7,44	10,86	12,56	14,88
N (g kg ⁻¹)	2,21	0,72	0,80	0,83	1,05	1,02
P (mg kg ⁻¹)	0,30	0,15	0,55	1,00	1,35	14,8
K (cmolc dm ⁻³)	0,11	0,08	0,26	0,28	0,25	0,29
Ca (cmolc dm ⁻³)	0,65	0,70	3,8	4,6	4,7	7,05
Mg (cmolc dm ⁻³)	0,18	0,12	0,78	1,30	1,25	1,75
Al (cmolc dm ⁻³)	1,55	0,87	0,25	0,30	0,25	0,20
H + Al (cmolc dm ⁻³)	7,85	5,85	4,5	4,2	2,00	2,75
Profundidade (m)			0,05 – 0,10			
areia:silte:argila	18:17:65	18:17:65	17:18:65	19:17:64	18:18:64	18:14:68
Ds	0,93	0,79	0,88	0,95	1,08	0,89
PT	52,97	44,01	48,12	46,94	45,30	48,66
pH (H ₂ O)	4,7	4,0	5,3	5,65	6,20	6,25
COT (g kg ⁻¹)	13,82	13,00	8,31	8,89	12,56	9,95
N (g kg ⁻¹)	2,09	0,66	0,76	0,80	1,01	1,01
P (mg kg ⁻¹)	0,1	0,15	0,55	1,25	1,35	5,4
K (cmolc dm ⁻³)	0,08	0,07	0,22	0,22	0,25	0,26
Ca (cmolc dm ⁻³)	0,75	0,45	3,65	3,75	4,3	6,40
Mg (cmolc dm ⁻³)	0,16	0,10	1,10	1,15	1,45	2,10
Al (cmolc dm ⁻³)	1,40	0,62	0,27	0,35	0,20	0,22
H + Al (cmolc dm ⁻³)	5,95	5,45	4,55	4,50	3,55	1,95

2.2 Análises microbiológicas

2.2.1 Extração de DNA das amostras de solo

Para a extração de DNA, as amostras de solo foram pesadas em frações padronizadas de 0,4 g, de acordo com metodologia descrita no kit comercial *Powersoil™ DNA Isolation kit* (MoBio, EUA). A extração foi feita seguindo as instruções do fabricante. Após a extração, a integridade e qualidade dos DNAs obtidos foram verificadas em eletroforese em gel de agarose 1% (v/v) com tampão TAE 1x (400 mM Tris, 20 mM ácido acético, 1 mM EDTA), o qual foi posteriormente corado com GelRed™ (0,5 µg mL⁻¹), visualizado e fotodocumentado em transiluminador sob luz ultravioleta (DNR – Bio Imaging Systems/MiniBis Pro).

2.2.2 Estrutura das populações microbianas por PCR-DGGE

2.2.2.1 Amplificação dos genes 16S DNAr e ITS

As análises foram realizadas com primers e condições previamente descritas na literatura para fungos, bactérias e fixadores de nitrogênio presentes no solo. O DNA ambiental foi usado como molde na primeira amplificação, enquanto 1 µL do produto desta amplificação foi utilizado como molde para a segunda reação.

Para as análises de fungos, as amplificações foram realizadas em duas reações distintas, sendo a primeira com volume final de 25 µL (4,7 µL de MgCl₂; 3,0 µL de buffer; 0,25 µL de dNTP; 0,125 µL de cada primer; 0,3 µL de BSA (10 mg.ml⁻¹), 0,5 µL de solução tampão para DNA polimerase Taq (contendo 1 U DNA polimerase Taq) e 1 µL de DNA molde (5 a 10 ng), sendo o restante do volume completado com água deionizada – esterilizada) com uma desnaturação inicial a 94°C por 5 minutos, seguida de 35 ciclos de desnaturação de 94°C por 30 segundos, 55°C por 30 segundos e 72°C por 1,5 minutos e um último ciclo 72°C por 5 minutos. Os primers utilizados nessa etapa foram EF4 e ITS4. Para a segunda reação foi utilizado 1 µL do produto amplificado na primeira PCR, sendo o volume final para o segundo ciclo de 50 µL (5,0 µL de MgCl₂; 5,0 µL de buffer; 4,0 µL de dNTP; 0,2 µL de cada primer; 0,5 µL de formamida, 0,6 µL de solução tampão para DNA polimerase Taq (contendo 1 U DNA polimerase Taq) e 1 µL de DNA

amplificado (1ª reação), sendo o restante do volume completado com água deionizada – esterilizada). As condições de amplificação foram uma desnaturação inicial a 94°C por 5 minutos, seguida de 35 ciclos de 94°C por 30 segundos, 55°C por 30 segundos e 72°C por 1,5 minutos seguidos de uma final 72°C por 5 minutos. Os primers utilizados nessa etapa foram ITS1FGC e o ITS2.

Para as análises de bactérias as amplificações também foram realizadas em duas reações distintas sendo a primeira com volume final de 25 µL (3,75 µL de MgCl₂; 2,5 µL de buffer; 2,0 µL de dNTP; 0,05 µL de cada primer; 0,25 µL de BSA (10 mg.ml⁻¹), 0,25 µL de solução tampão para DNA polimerase Taq (contendo 1 U DNA polimerase Taq) e 1 µL de DNA molde (5 a 10 ng), sendo o restante do volume completado com água deionizada – esterilizada) com uma desnaturação inicial a 94°C por 4 minutos, seguida de 35 ciclos de 94°C por 30 segundos, 63°C por 30 segundos e 72°C por 1 minuto e um último ciclo 72°C por 10 minutos. Os primers utilizados nessa etapa foram 1492R (CGG TTA CCT TGT TAC GAC TT) e 027F (AGA GTT TGA TCG TGG CTC AG). Assim, como o procedimento realizado para os fungos, foi utilizado 1 µL do produto amplificado na primeira PCR, sendo o volume final para o segundo ciclo de 50 µL (5,0 µL de MgCl₂; 5,0 µL de buffer; 4,0 µL de dNTP, 0,2 µL de cada primer e 0,6 µL de solução tampão para DNA polimerase Taq (contendo 1 U DNA polimerase Taq) e 1 µL de DNA amplificado (1ª reação), sendo o restante do volume completado com água deionizada – esterilizada). As condições de amplificação do segundo ciclo constaram de uma desnaturação inicial a 94°C por 4 minutos, seguida de 35 ciclos de 94°C por 1 minuto, 56°C por 1 minuto e 72°C por 2 minutos e um ciclo final de 72°C por 10 minutos, os primers utilizados nessa etapa foram 968GC e 1387R.

Após a amplificação, 5µL da reação de PCR foram avaliados por eletroforese em gel de agarose (1% p/v) em tampão TAE 1x e foram coradas com brometo de etídeo (1,0 mg mL⁻¹), com um marcador de peso molecular DNA Ladder 1000pb.

2.2.2.2 Aplicação da técnica de DGGE

A análise de DGGE foi realizada com o auxílio do aparelho phoU2 system (Ingeny, Goes, Holanda) seguindo metodologia adaptada de Muyzer et al. (1993). Os produtos de PCR, cujos primers continham os “GC-Clamps”, foram carregados em gel de poliacrilamida 6% para bactérias e 8% para fungos totais, na proporção 37,5:1

acrilamida:Bis. Foi usado gradiente desnaturante de ureia e formamida equivalente a 45%-65% (bactérias) e 30%-55% (fungos totais). Para a eletroforese, foram utilizados 10 µL dos produtos de PCR acrescidos com 5 µL de Loading Buffer 6 x. A corrida de DGGE foi realizada a 60 °C e submetida a uma corrente de 100 volts durante 16 horas. Após a eletroforese os géis foram corados com nitrato de prata e foto-documentados em luz ultravioleta.

2.2.2.3 Análise de PCR em tempo real (qPCR)

A PCR quantitativa (qPCR) foi realizada com o uso do StepOne™ Real-Time PCR System (Applied Biosystems®) e nas reações de amplificação foi utilizado o marcador fluorescente Syber® Green PCR Master Mix 2 x (Applied Biosystems®).

As reações foram feitas com volume final de 25 µL por amostra. Para cada reação de amplificação foi utilizado um microlitro de DNA molde, sendo as reações realizadas em placas MicroAmp Optical 48-Well. Foram utilizados dois controles negativos (ausência de DNA) em cada experimento (estes foram submetidos às mesmas condições que as amostras alvo), excluindo a possibilidade de qualquer contaminação externa. Além disso, também foram adicionadas em cada corrida as curvas de melting para monitorar a pureza dos produtos amplificados.

Os primers ITS1F (5' -CTTGGTCATTTAGAGGAAGTAA- 3') e 5.8S (5' -CGCTGCGTTCTTCATCG- 3') foram utilizados para os grupos de fungos, gerando fragmentos de aproximadamente 300pb (FIERER et al., 2005). Para grupos de bactérias, foram usados os primers 341F 1 (5' -CCTACGGGAGGCAGCAG- 3') e 534R 2 (5' -ATTACCGCGGCTGCTTGG- 3') (LOPEZ-GUTIERREZ et al., 2004). Para os grupos de bactérias diazotróficas de vida livre (gene *nifH*) foram utilizados os primers FGPH 19 *nifH* 25T (TAC GGC AAR GGT GGN ATH) e POLR *nifH* 457 (ATS GCC ATC ATY TCR CCG).

Amostras para amplificação do gene ITS foram submetidas a um ciclo de desnaturação inicial equivalente a 94 °C por 15 min, seguido de 40 ciclos de amplificação a 94 °C por 1 min, 53 °C por 30 s e 72 °C por 1 min (FIERER et al., 2005). Para quantificação do gene 16S, as amostras foram submetidas a um ciclo de desnaturação inicial equivalente a 95 °C por 3 min, seguido de 35 ciclos de amplificação a 94 °C por 30 s, 55 °C por 30 s e 72 °C por 30 s, sendo realizada ao término uma extensão final de

72 °C por 45 s (MOSONI et al., 2007). Para as ampliações em tempo real do gene *nifH* as amostras foram submetidas a uma desnaturação inicial de 3 min a 95 °C, seguidos de 30 ciclos de 94 °C por 1 min, 57 °C por 45 s, 72 °C por 1 min e 72 °C por 7 min.

Curvas padrões conhecidas foram utilizadas em diluições seriadas (10⁻² a 10⁻⁸) em todas as reações realizadas, possibilitando que os dados obtidos nas amostras de solo (valor Ct) fossem interpolados entre os valores das curvas, determinando o número de cópias dos genes 16S, ITS e *nifH*, por grama de solo.

2.2.3 Determinação de variáveis ambientais significativas na diversidade microbiana

A diversidade genética das áreas foi determinada por meio da matriz de similaridade genética, gerada pelo programa, BioNumerics 7.6, tendo-se utilizado para tal determinação a correlação de Pearson e o índice de Jaccard. O dendrograma para ambos os testes foi construído com o método da média aritmética não ponderada (UPGMA) (SNEATH e SOKAL, 1973) por meio do programa BioNumerics 7.6. Para fins de discussão, optamos por utilizar apenas os dendrogramas gerados pela correlação de Pearson, visto seus agrupamentos terem sido mais semelhantes aos agrupamentos gerados pelas outras análises.

Por meio da análise multivariada, os perfis de bandas dos géis de DGGE foram correlacionados com os dados ambientais das áreas de estudo com auxílio do software Canoco (versão 4.5). Foram consideradas as bandas observadas como espécies e suas intensidades relativas como frequência destas espécies. Os fatores ambientais considerados foram os atributos físicos e químicos levantados dentro em cada área e profundidade de amostragem.

Inicialmente foi realizada a análise de correlação (DCA) entre amostras e variáveis, fornecendo informação sobre a distribuição dos dados de espécies em cada área avaliada. Como a distribuição foi linear (valor do primeiro eixo < 4,0), realizamos a análise multivariada por meio da análise de redundância (RDA) (ANDREOTE et al., 2009). Em cada análise foi aplicado o teste de permutação de Monte Carlo com 499 permutações aleatórias, permitindo verificar a significância (valor *p*) dos fatores ambientais na distribuição de espécies nas amostras. Foram obtidos também os valores

de $\lambda-1$, que mostram o percentual das variâncias explicadas pelos fatores ambientais independentemente.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Análise dos perfis das populações por DGGE

Com a análise de DGGE foi observada a estrutura de populações de bactérias e fungos nas áreas de estudo nas profundidades de 0,00 – 0,05 e 0,05 – 0,10 m. O perfil de DGGE mostrou uma riqueza de bandas em todas as áreas e, embora os perfis tenham sido semelhantes qualitativamente eles variaram na intensidade das bandas em cada área (FIGURA 2A e B). O dendrograma gerado a partir da correlação de Pearson considerando-se uma similaridade mínima de 75% para bactérias e 80% para fungos, originou 4 grupos para bactérias (FIGURA 2A) sendo eles: grupo 1 – áreas de cerrado, grupo 2 – plantio direto de 8 e 12 anos, grupo 3 – plantio direto de 1 e 3 anos e grupo 4 – floresta de pinus e para as populações de fungos (FIGURA 2B), o dendrograma gerou 3 grupos, são eles: grupo 1 – plantio direto de 8 e 12 anos, grupo 2 – plantio direto de 1 e 3 anos e grupo 3 – áreas de cerrado e floresta de pinus.

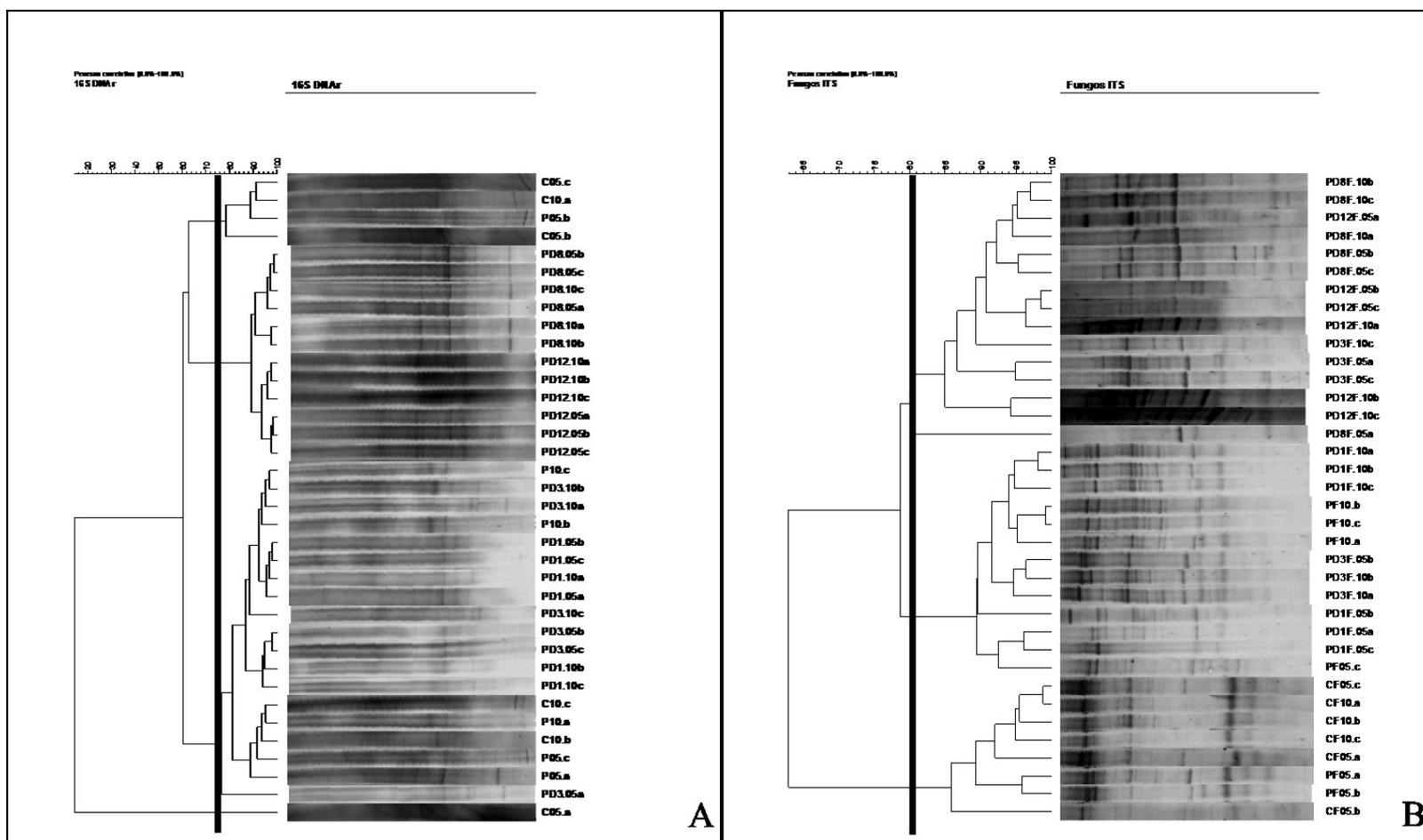


Figura 2. Dendrograma das áreas de estudo (C – cerrado; P – pinus; PD1 – plantio direto 1 ano; PD3 – plantio direto 3 anos, PD8 – plantio direto 8 anos e PD12 – plantio direto com 12 anos), nas profundidades de 0,00 – 0,05 (05) e 0,05 - 0,10 (10) m, obtido pelo método da média aritmética não ponderada (UPGMA), a partir do coeficiente de similaridade de Pearson para o estudo da diversidade de bactérias (A) e fungos (B). As letras minúsculas (a, b e c) representam as repetições de cada área.

A complexidade e diversidade das populações microbianas tem sido descrita em inúmeros ambientes onde estes organismos participam ativamente de funções distintas que auxiliam na manutenção dos ecossistemas. Bactérias e fungos tem grande importância nos mais diversos processos do solo, como ciclos biogeoquímicos dos elementos fornecendo a base necessária para o desenvolvimento de plantas e animais (BABUJIA et al., 2010; HUNGRIA et al., 2009; NAKATANI et al., 2011).

Nesse estudo, a diversidade bacteriana foi mais sensível do que a fúngica aos distúrbios causados pelos sistemas de manejo. A menor diversidade fúngica pode estar relacionada à fragilidade que esses organismos possuem frente às práticas de manejo do solo, que com o aumento dos microporos (TABELA 1) pode ter favorecido as populações bacterianas (proteção física) e desfavorecido as fúngicas (LÓPEZ- GUARRIDO et al., 2012). Estudos indicam que o tipo de solo e o manejo afetam a estrutura das populações microbianas. Além disso, a profundidade do solo é um fator chave na determinação da dinâmica de microrganismos do solo (BABUJIA et al., 2010; WANG et al., 2009; 2010) e a própria diversidade de grupos funcionais pode ser limitada pela profundidade em razão das mudanças nos atributos físicos e químicos do solo (LÓPEZ- GUARRIDO et al., 2012).

O manejo agrícola, como a adição de nutrientes minerais, pode levar a mudanças marcantes na composição taxonômica das populações microbianas do solo (RAMIREZ et al., 2010, 2012; FIERER et al., 2011; WOOD et al., 2015). Mudanças no solo como teor de água, pH e propriedades físicas e químicas podem influenciar a composição das populações microbianas, sendo o manejo agrícola uma das atividades mais significativas na alteração da estrutura e diversidade das populações microbianas do solo. O sistema de manejo adotado pode impactar significativamente a capacidade das populações microbianas do solo de catabolizar uma variedade de substratos de carbono, bem como afetar a abundância de genes funcionais microbianos envolvidos em múltiplos aspectos de C, nitrogênio (N) e ciclagem de fósforo (P) (WOOD et al., 2015).

Dessa maneira, enquanto os mesmos fungos e bactérias estão presentes nas amostras avaliadas baseado na presença/ausência de bandas, a densidade populacional destes grupos variou dentro da população conforme podemos verificar na análise de componentes principais (FIGURA 3), onde observamos uma separação das áreas em 4 grupos para bactérias e 3 grupos para fungos, assim como observado nos dendrogramas,

visto ter o sistema de manejo do solo ter grande interferência na estrutura e composição das populações microbianas.

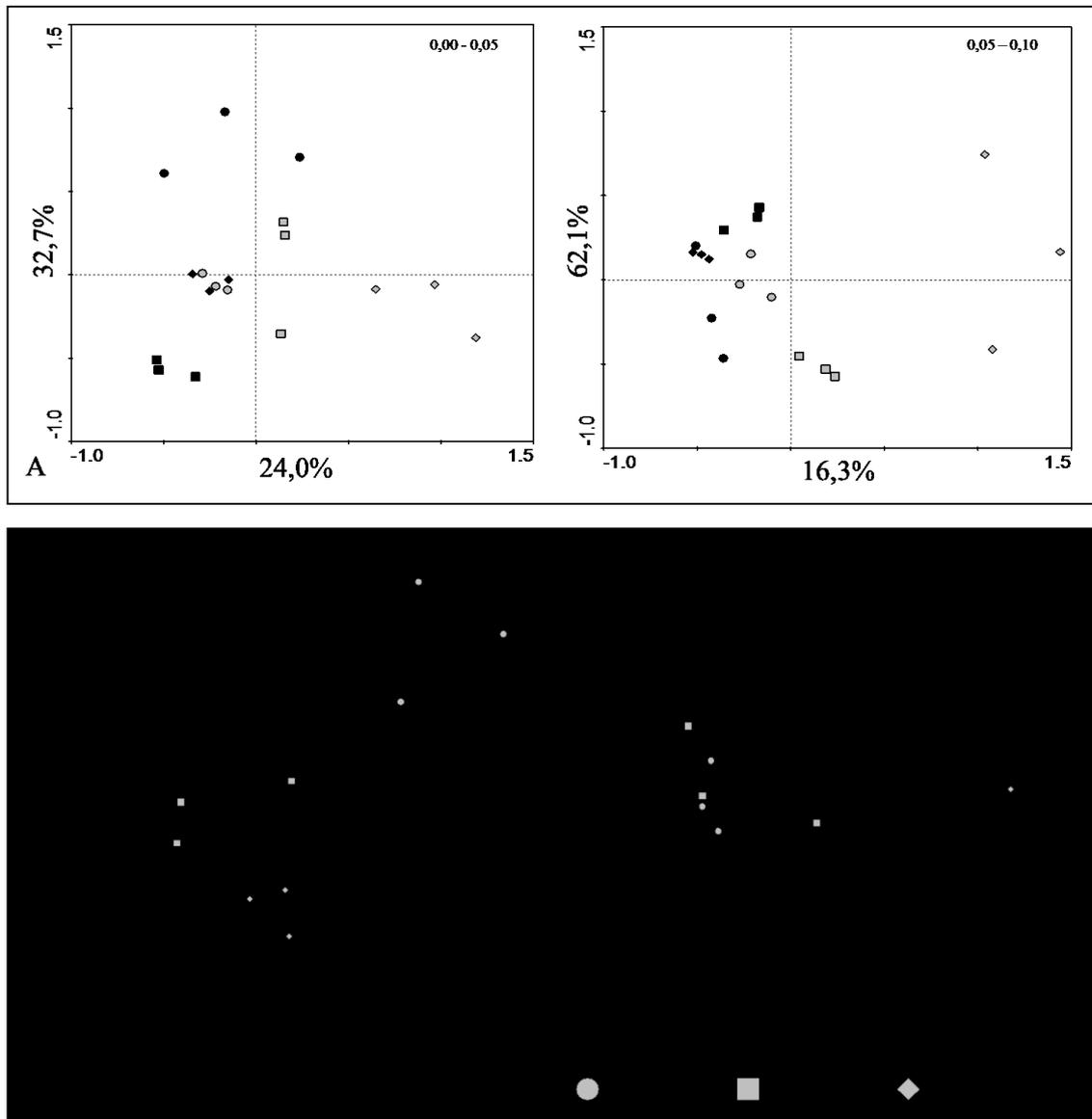


Figura 3. Análise componentes principais (PCA) dos perfis de DGGE de Bactérias (A) e fungos (B) nas profundidades de 0,00 – 0,05 e 0,05 – 0,10 m.

Podemos observar pela análise de componentes principais (PCA) que os eixos 1 e 2 explicaram 56,7 e 78,4% para 0,00 – 0,05 e 0,05 – 0,10 m, respectivamente, da variação das áreas estudadas para as populações bacterianas e 71,2 e 65%, respectivamente para 0,00 – 0,05 e 0,05 – 0,10 m, em relação à população de fungos. Podemos observar a nítida separação das áreas confirmando os efeitos do sistema de uso e manejo do solo sobre a

estrutura e composição das populações microbianas aqui representadas por bactérias e fungos.

O manejo do uso da terra tem efeito tanto nas composições físicas e químicas do solo (TABELA 1) quanto na estrutura da população microbiana. Variações espaciais e temporais nas propriedades físicas, químicas e biológicas do solo, como teor de água, disponibilidade de nutrientes e minerais, pH e estrutura do solo, contribuem para a imensa heterogeneidade e complexidade de nichos disponíveis no ambiente do solo. Esta variabilidade resulta na formação de muito micro habitats, conferindo assim habitats adequados em uma escala muito menor. A especificidade do habitat não é, portanto, proibitiva. Além disso, os microrganismos têm a capacidade de persistir, apesar das condições desfavoráveis de crescimento, permitindo assim a presença quase universal de espécies, desde que a dispersão inicial seja permitida (FIERER et al., 2005). Esses fatores podem explicar a falta de diferenciação na estrutura bacteriana total da população observada nas áreas amostradas para esse estudo.

3.2 Quantificação das populações alvo por PCR em tempo real

A abundância de bactérias, fungos e diazotróficos nas áreas de estudo foi determinada pela técnica de qPCR dos genes 16S DNAr, ITS e *nifH*, respectivamente. A eficiência de amplificação dos genes foi de 0,92 (16S DNAr), 1,02 (ITS) e 0,90 (*nifH*). O valor da regressão logarítmica das curvas obtidas (R^2) foi de 0,99 para todas as quantificações (FIGURA 4).

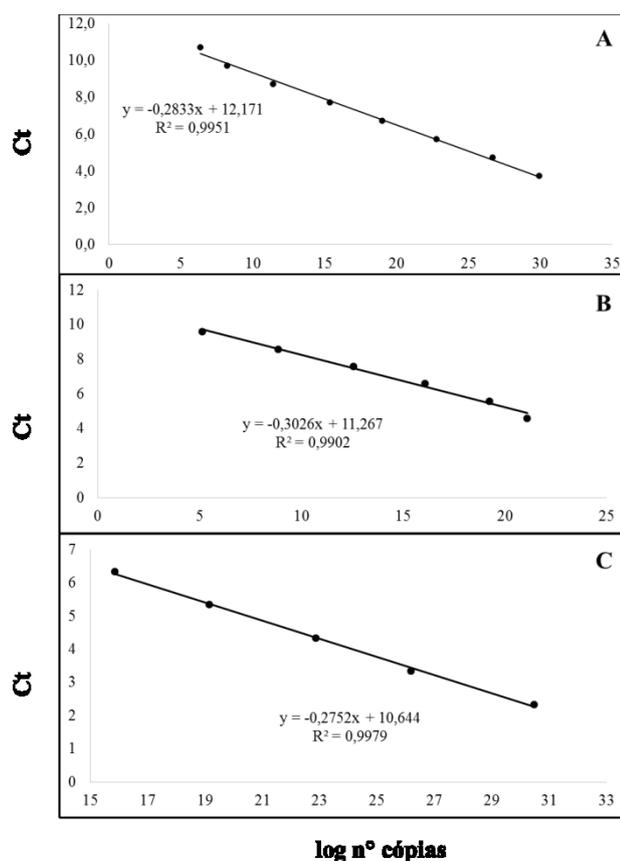


Figura 4. Construção de curvas de diluição dos genes quantificados (A – 16S DNAr, B – ITS e C – *nifH*) nas amostras de solo das áreas de Cerrado, pinus e sistema plantio direto com 1, 3, 8 e 12 anos de implantação, nas profundidades de 0,05 – 0,05 e 0,05 – 0,10 m. As equações mostram a correlação logarítmica entre a quantidade de DNA alvo e os valores de Cts. Os valores de R^2 evidenciam a fidelidade na quantificação de diferentes quantidades de DNA, seguindo os padrões utilizados.

Não foram observadas diferenças significativas com relação à abundância dos genes de interesse nas áreas avaliadas, independentemente da profundidade. Com relação à abundância dos microrganismos, a população de bactérias foi alta em todos os ambientes (FIGURA 5A). A população de fungos foi desfavorecida pela floresta de pinus, mas foi favorecida pelo sistema plantio direto com aumento ao longo dos anos de uso desse sistema (FIGURA 5B) e com relação às diazotróficas de vida livre, foram encontradas maiores concentrações no cerrado e floresta de pinus em comparação aos sistemas de plantio direto (FIGURA 5C), o que de certa maneira já era esperado visto haver fornecimento de N mineral nessas áreas.

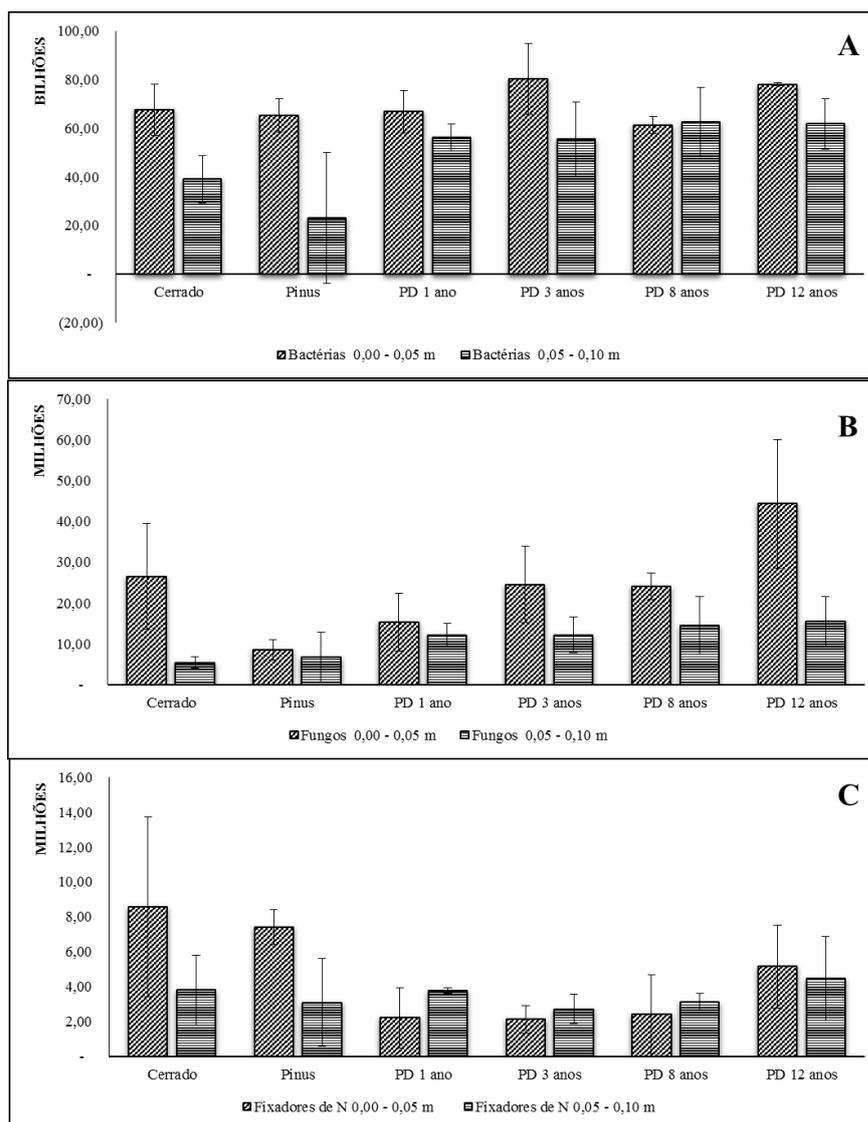


Figura 5. Quantificação de UFC.g solo⁻¹ dos genes 16S DNAr de bactérias (A), ITS de fungos (B) e *nifH* de diazotróficas de vida livre (C) por meio de qPCR, nas áreas e profundidades de estudo. Os valores indicam a média das três repetições utilizadas e as barras indicam o erro padrão da média nas diferentes amostras quantificadas.

As maiores abundâncias microbianas podem ser observadas na área de cerrado. Essas características são frequentemente observadas em solos virgens, quando comparadas com solos agrícolas, e são explicadas pela degradação da serapilheira e ciclos de nutrientes (BRANDO et al., 2008; WIEDER et al., 2013). A quantidade e a qualidade da serapilheira diferem entre a área natural e as agrícolas com a vegetação natural apresentando maiores proporções de compostos recalcitrantes e maior relação C/N, o que

favorece maior acúmulo de C e constante mineralização de N em solos florestais (WIEDER et al., 2013; LAMMEL et al., 2015). Além disso, a abundância de microrganismos fixadores de N foi maior em solos florestais que, durante um longo período de tempo, podem ser responsáveis por níveis mais altos de N no solo (MORALES et al., 2010).

Vários aspectos do manejo agrícola como a aplicação de fertilizantes e corretivos podem alterar a abundância de bactérias e fungos nos solos, como as mudanças químicas introduzidas pela fertilização e aplicação de defensivos (YAO et al., 2000; IMFELD e VUILLEUMIER, 2012; STEVENSON et al., 2014). O manejo agrícola (cobertura vegetal, fertilização e defensivos) pode ser um fator determinante da estrutura de populações de bactérias do solo (LAMMEL et al., 2015). Para controlar pragas, doenças e plantas daninhas na lavoura, fungicidas, inseticidas e herbicidas são aplicados, podendo funcionar como fatores relacionados à supressão microbiana do solo (IMFELD e VUILLEUMIER, 2012; LAMMEL et al., 2015).

Nesse estudo, as bactérias apresentaram a maior abundância nas áreas, mesmo naquelas que constantemente recebem tratamentos químicos assim como observado por Bengtson e colaboradores (2012) e por Tripathi e colaboradores (2013). É sugerido que, embora os pesticidas provavelmente tenham reduzido a abundância de bactérias e fungos nas áreas de plantio direto, outros fatores foram selecionados para a abundância desses organismos. A abundância de bactérias é, supostamente, favorecida em solos com valores de pH abaixo de 4,7 (como na área de cerrado), bem como o maior valor de pH nas áreas de plantio direto, a menor relação C/N e o aumento da compactação do solo levando a micro sítios anaeróbios, como observado após a conversão pinus para sistema plantio direto, podem ser condutores da abundância desse grupo (BATES et al. Al., 2011; BENGTON et al., 2012; KARLSSON et al., 2012; ŠIBANCA et al., 2014).

Corroborando outros estudos (PANKHURST et al., 2002; FENG et al., 2003; HELGASON et al., 2009), não foi observado dominância fúngica em relação às bactérias em nenhuma das áreas estudadas. Como a prática de sistema de plantio direto, mesmo sendo conservacionista, não exclui a utilização de maquinário, este tem efeito negativo na população de fungos por cortar as hifas que se desenvolvem no solo (WAKELIN et al., 2008; SOUZA et al., 2013). A menor abundância de fungos na área de cerrado, em comparação às áreas de plantio direto, baseia-se nas médias de pH encontradas nessa área que desfavorecem o desenvolvimento de fungos. (BABUJIA et al., 2010). De fato,

Wakelin et al. (2008) sugeriram que o pH é o fator de maior influência sobre a estrutura da população biológica.

O gene *nifH*, que codifica a subunidade redutase da nitrogenase, enzima que catalisa a reação de fixação, tem sido amplamente utilizado como marcador genético para estudar a diversidade e a abundância de diazotróficos (ZEHR et al., 2011). Nesse estudo, as áreas de cerrado apresentaram maior abundância desse gene corroborando com o trabalho de Holguin e colaboradores (2008) que sugerem que os diazotróficos poderiam ser favorecidos na área de cerrado porque adquirem quantidade suficiente de N para manter a atividade da fosfatase extracelular, necessária para superar a limitação de P nesses ecossistemas (TABELA 1) e porque a temperatura em ambientes tropicais é próxima do ideal para a fixação biológica de N (POLY et al., 2001).

3.3 Determinação das variáveis ambientais na diversidade de microrganismos

Com o objetivo de verificar os parâmetros químicos que interferem na estrutura e composição das populações microbianas, foi realizada a análise de redundância (RDA). Para tanto, os dados representados pelos perfis de DGGE foram convertidos em dados matriciais, objetivando-se correlacionar a ocorrência de espécies (aqui representadas por bandas) com os atributos químicos do solo (pH, P, K, Ca, Mg, Al, COT e N), com auxílio do Programa de Bioestatística BioNumerics versão 7.6 (Applied Mathematics, Belgica).

A análise de redundância, considerando atributos químicos do solo, mostrou que os atributos químicos avaliados responderam em média por mais de 50% da variabilidade das populações de bactérias e fungos presentes nas áreas de estudo, sendo que para a profundidade de 0,00 – 0,05 m o eixo 1 respondeu por 32,7 e 30,0%, respectivamente para bactérias e fungos e o eixo 2 respondeu por 24,0 e 20,6%, respectivamente. Já na profundidade de 0,05 – 0,10 m o eixo 1 respondeu por 45,8 e 25,4%, respectivamente para bactérias e fungos e o eixo 2 respondeu, respectivamente por 16,3 e 19,8% da variabilidade das populações bacterianas e fúngicas.

Alguns estudos têm mostrado mudanças nos perfis da população microbiana do solo em resposta a diferentes sistemas de manejo (PEIXOTO et al., 2010; RACHID et al., 2012, 2013), assim como mudanças impostas pelas espécies vegetais nessas populações (LIU et al., 2010).

Pode-se observar a separação dos grupos em razão dos atributos químicos que mais interferiram nos agrupamentos. Os teores de alumínio influenciaram grandemente a população de bactéria e fungos em ambas as profundidades estudadas, determinando o agrupamento das amostras oriundas do cerrado. Pinus e os sistemas plantio direto de 1 e 3 anos de implantação apresentaram correlação, provavelmente em razão da substituição recente da área de pinus pelo sistema plantio direto que ainda está interferindo na composição das populações nesses locais, o que provavelmente já está mais definido nos sistemas de plantio direto com 8 e 12 anos que também apresentaram correlação. O pH foi o fator determinante no agrupamento dessas amostras, embora os nutrientes K, Ca e Mg também interferiram na ordenação.

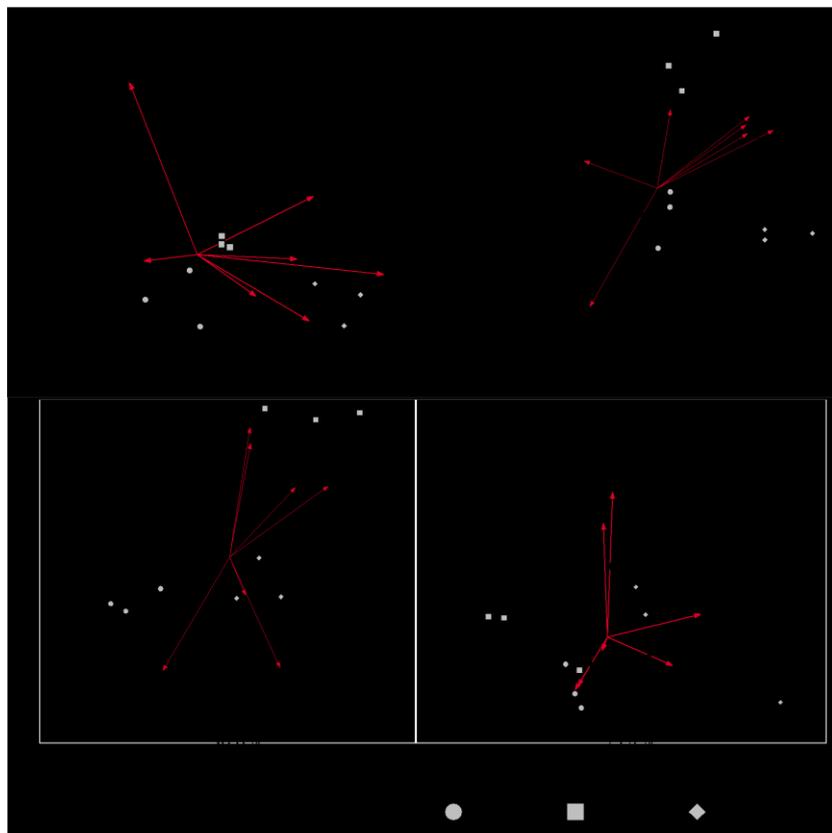


Figura 6. Análise de redundância canônica (RDA) comparando os atributos físicos e químicos do solo que determinam a composição da população de bactérias (A) e fungos (B) nas áreas avaliadas (cerrado, pinus, Sistema Plantio Direto com 1, 3, 8 e 12 anos de implantação), nas profundidades de 0,00 – 0,05 e 0,05 – 0,10 m.

O COT também foi um elemento determinante nos agrupamentos dos sistemas plantio direto com 8 e 12 anos, confirmando os efeitos positivos da manutenção de

matéria orgânica no solo. A implantação de monoculturas (culturas anuais por exemplo) pode causar alterações nas populações microbianas presentes no solo e, conseqüentemente, nos papéis ecológicos que os micro-organismos desempenham (LUMINI et al., 2010; BISSETT et al., 2011).

Segundo Wakelin et al. (2008), mudanças na estrutura das populações microbianas ocorrem, principalmente, por influência de práticas agrícolas adotadas e por intermédio da vegetação dominante na área. As espécies de plantas presentes podem influenciar as populações (GRAYSTON et al., 2001; KOURTEV et al., 2002, GARBEVA et al., 2006) por diversos fatores, como a liberação de compostos de C via sistema radicular (BERTHRONG et al., 2009), profundidade de enraizamento (GREGORY, 2006), deposição de serapilheira, compostos alelopáticos (KASEL et al., 2008; LORENZO et al., 2010) e até mesmo efeitos sobre o pH do solo, umidade e níveis de nutrientes (LYNCH; WHIPPS 1990, WARDLE, 1992; WAKELIN et al., 2008).

Buscando relacionar a estrutura das populações microbianas com os fatores ambientais das áreas avaliadas foi realizado o teste de Monte Carlo (TABELA 2). Esse teste mostrou que o pH, e os conteúdos de carbono e alumínio no solo são os fatores que mais interferem na estruturação e composição das populações de bactérias e fungos. Nesse contexto, a manutenção da palhada feita no sistema plantio direto pode contribuir com a matéria orgânica a partir da liberação de nutrientes via decomposição de resíduos vegetais e liberação de compostos específicos via exsudados radiculares para a rizosfera, servindo, portanto, como fonte de energia para diversos microrganismos do solo (YARWOOD et al., 2009).

Tabela 2. Influência dos atributos químicos (pH, P, K, Ca, Mg, Al, COT e N) nas populações de bactérias e fungos nas áreas de cerrado, pinus, SPD 1, 3, 8 e 12 anos nas profundidades de 0,00 – 0,05 e 0,05 – 0,10m.

Atributos	Bactérias				Atributos	Fungos			
	0 – 5 cm		5 – 10 cm			0 – 5 cm		5 – 10 cm	
	F	P	F	P		F	P	F	P
pH	2.87	0,004**	2.98	0.004**	pH	1.87	0.018*	1.31	0.017*
Ca	1.74	0.054	1.95	0.054	Ca	1.81	0.18	1.27	0.188
Mg	1.28	0.182	0.80	0.618	Mg	1.71	0.062	1.21	0.242
P	1.56	0.092	1.87	0.058	P	1.36	0.15	1.38	0.152
K	1.20	0.238	1.35	0.162	K	1.12	0.274	1.27	0.236
Al	2.23	0.008**	2.32	0.032*	Al	1.97	0.012*	1.91	0.016*
COT	1.84	0,026*	2.14	0.028*	COT	2.19	0.002**	1.94	0.018*

As variáveis em negrito foram significativas: *Segundo o Teste de Permutação de Monte Carlo ($p < 0,05$); ** Segundo o Teste de Permutação de Monte Carlo ($p < 0,01$).

O pH do solo tem uma forte influência na diversidade e composição das populações microbianas do solo em todo o gradiente. Isso corrobora a relação positiva entre a diversidade bacteriana e o pH do solo (no intervalo de pH 4 – 7) observado, por exemplo, em Lauber e colaboradores (2009), confirmando que este padrão é robusto em diferentes escalas espaciais e tipos de solo.

As caracterizações das populações bacterianas do solo em uma ampla gama de conjuntos de amostras, indicaram, consistentemente, a mesma correlação poderosa entre o pH do solo e a composição da população bacteriana, independentemente da técnica usada, incluindo técnicas baseadas em impressões digitais de DNA (FIERER e JACKSON, 2005; MADER et al., 2011), técnicas baseadas em bibliotecas de clones (LAUBER et al., 2009; JESUS et al., 2009) e técnicas baseadas em pirosequenciamento (LAUBER et al., 2009). Os resultados de estudos anteriores são corroborados pelos resultados aqui apresentados. A forte conexão entre o pH e a composição da população bacteriana é, conseqüentemente, consistente em ambos os biomas, nos quais muitas características do solo e do local, além do pH, também mudam (os estudos listados acima), e através de um gradiente de pH experimental estabelecido (FIERER e JACKSON, 2005) em um único tipo de solo em que as outras características (por exemplo, tipo de vegetação, textura, umidade e concentrações de carbono) variam minimamente, conforme mostra este estudo.

Como a estrutura e composição da população microbiana nos solos também são controladas por interações complexas entre as plantas (BUTLER et al., 2004), principalmente pela alocação de C pela planta, qualidade e atividade dos exsudados na rizosfera, além de deposição de serapilheira rica em nutrientes (MYERS et al., 2001; LECKIE, 2005), é provável, que outros fatores, não mencionados nesse estudo possam estar contribuindo nas alterações da população microbiana e diferenciação dos grupos. Seria o caso de fatores como a umidade do solo, a temperatura e micronutrientes entre outros.

O estudo da diversidade microbiana nos solos é essencial tanto para a definição de estratégias para preservação de biomassa quanto para o desenvolvimento de sistemas indicadores de alterações ambientais associadas a distúrbios, como a utilização não sustentável de solos agrícolas. Além disso, o conhecimento dos recursos genéticos da microbiota dos solos pode contribuir para a descoberta de genes com atividades de interesse biotecnológico.

4. CONCLUSÕES

A população de bactérias é mais abundante que a de fungos nos seis sistemas avaliados;

As populações de diazotróficas foram menos abundantes nas áreas de plantio direto até 8 anos de implantação;

Os fatores químicos analisados nesse estudo, em especial pH, Al e COT, influenciam diretamente a riqueza, composição e abundância das populações de bactérias e fungos nas profundidades de 0,05 e 0,10 m.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDREOTE, F. D.; AZEVEDO, J. L.; ARAÚJO, W. L. Assessing the diversity of bacterial communities associated with plants. *Brazilian Journal of Microbiology*, São Paulo, v. 40, p. 417-432, 2009.

<https://doi.org/10.1590/S1517-83822009000300001>

HELGASON, B. L.; WALLEY, F. L.; GERMIDA, J. J. "Fungal and bacterial abundance in long-term no-till and intensive-till soils of the Northern Great Plains," *Soil Science Society of America Journal*, v. 73, n. 1, p. 120-127. 2009.

<https://doi.org/10.2136/sssaj2007.0392>

BABUJIA, L. C. Microbial biomass and activity at various soil depths in a Brazilian oxisol after two decades of no-tillage and conventional tillage. *Soil Biology and Biochemistry*, v. 43, p. 1-8, 2010.

BATES, S. T.; BERG-LYONS, D.; CAPORASO, J. G.; WALTERS, W. A.; KNIGHT, R.; FIERER, N. Examining the global distribution of dominant archaeal populations in soil. *ISME J.* v. 5, p. 908-917. 2011.

<https://doi.org/10.1038/ismej.2010.171>

BENGTSON, P.; STERNGREN, A. E.; ROUSK, J. Archaeal abundance across a Ph gradient in an arable soil and its relationship to bacterial and fungal growth rates. *Applied Environmental Microbiology*. V. 78, p. 5906-5911. 2012.

<https://doi.org/10.1128/AEM.01476-12>

BERTHRONG, S. T.; JOBBAGY, E. G.; JACKSON, R. B. A global meta-analysis of soil exchangeable cations, ph, carbon, and nitrogen with afforestation. *Ecological Applications*, Washington, v. 19, p. 2228-2241, 2009.

<https://doi.org/10.1890/08-1730.1>

BISSETT, A.; RICHARDSON, A. E.; BAKER, G.; THRALL, P. H. Long-term land use effects on soil microbial community structure and function. *Applied Soil Ecology*, Amsterdam, v. 51, p. 66-78, 2011.

<https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2011.08.010>

BRANDO, P. M.; NEPSTAD, D. C.; DAVIDSON, E. A.; TRUMBORE, S. E.; RAY, D.; CAMARGO, P. Drought effects on litterfall, wood production and belowground carbon cycling in an Amazon forest: results of a throughfall reduction experiment. *Philos. Trans. R. Soc. B*, v. 363, p. 1839-1848. 2008.

<https://doi.org/10.1098/rstb.2007.0031>

BROWN, C. T. Unusual biology across a group comprising more than 15% of domain bacteria. *Nature*, v. 523, p. 208-211. 2015.

<https://doi.org/10.1038/nature14486>

BUTLER, J. L.; BOTTOMLEY, P. J.; GRIFFITH, S. M.; MYROLD, D. D. Distribution and turnover of recently fixed photosynthate in ryegrass rhizospheres. *Soil Biology & Biochemistry*, Elmsford, v. 36, p. 371-382, 2004.

<https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2003.10.011>

CANGELOSI, G. A.; MESCHKE, J. S. Dead or alive: molecular assessment of microbial viability. *Applied Environmental Microbiology*. v. 80, p. 5884-5891. 2014.

<https://doi.org/10.1128/AEM.01763-14>

DLOTT, G.; MAUL, J. E.; BUYER, J.; YARWOOD, S. Microbial rRNA:rDNA gene ratios may be unexpectedly low due to extracellular DNA preservation in soils. *Microbiology Methods*. V. 115, p. 112-120. 2015.

<https://doi.org/10.1016/j.mimet.2015.05.027>

EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisas de Solos. Manual de métodos de análises de solos. 2. ed. Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 230 p. 2011.

EMBRAPA. Sistema Brasileiro de Classificação de Solos. 3 ed. Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 353 p. 2013.

FENG, Y.; MOTTA, A. C.; REEVES, D. W.; BURMESTER, C. H.; VAN SANTEN, E.; OSBORNE, J. A. "Soil microbial communities under conventional-till and no-till continuous cotton systems," *Soil Biology and Biochemistry*, v. 35, n. 12, p. 1693-1703, 2003.

<https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2003.08.016>

FIERER, N.; LAUBER, C. L.; RAMIREZ, K. S.; ZANEVELD, J.; BRADFORD, M. A.; KNIGHT, R. Comparative metagenomic, phylogenetic and physiological analyses of soil microbial communities across nitrogen gradients. 2011.

<https://doi.org/10.1038/ismej.2011.159>

FIERER, N.; JACKSON, J. A.; VILGALYS, R.; JACKSON, R. B. Assessment of soil microbial community structure by use of taxon-specific quantitative PCR assays. *Applied and Environmental Microbiology*, New York, v. 71, p. 4117-4120, 2005.

<https://doi.org/10.1128/AEM.71.7.4117-4120.2005>

GARBEVA, P.; POSTMA, J.; VAN VEEN, J. A.; VAN ELSAS, J. D. Effect of above ground plant species on soil microbial community structure and its impact on suppression of *Rhizoctonia solani* AG3. *Environmental Microbiology*. Oxford, v. 8, p. 233-246, 2006.

<https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2005.00888.x>

GRAYSTON, S. J.; GRIFFITH, G. S.; MAWDSLEY, J. L.; CAMPBELL, J. D.; BARDGETT, R. D. Accounting for variability in soil microbial communities of temperate upland grassland ecosystems. *Soil Biology & Biochemistry*, Elmsford, v. 33, p. 533-551, 2001.

[https://doi.org/10.1016/S0038-0717\(00\)00194-2](https://doi.org/10.1016/S0038-0717(00)00194-2)

GREGORY, P. J. Roots, rhizosphere and soil: the route to a better understanding of soil science? *European Journal of Soil Science*, Oxford, v. 57, p. 2-12, 2006.

<https://doi.org/10.1111/j.1365-2389.2005.00778.x>

GUPTA, V. V. S. R. Beneficial microorganisms for sustainable agriculture, *Microbiology Australia*, p. 113-115. 2012.

HOLGUIN, G.; ZAMORANO, P. G.; BASHAN, L. E. D.; MENDOZA, R.; AMADOR, E.; BASHAN, Y. Mangrove health in an arid environment encroached by urban development - a case study. *The Science of the Total Environment*, Amsterdam, v. 363, p. 260-274, 2006.

<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2005.05.026>

HUNGRIA, M. Soil microbial activity and crop sustainability in a long-term experiment with three soil tillage and two crop-rotation systems. *Applied Soil Ecology*, v. 42, n. 3, p. 288-296, 2009.

<https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2009.05.005>

IMFELD, G.; VUILLEUMIER, S. Measuring the effects of pesticides on bacterial communities in soil: a critical review. *Soil Biology*. v. 49, p. 22-30. 2012.

<https://doi.org/10.1016/j.ejsobi.2011.11.010>

JESUS, E.C.; SUSILAWATI, E.; SMITH, S. L.; WANG, Q.; CHAI, B.; FARRIS, R.; RODRIGUES, J.L.M.; THELEN, K.D.; TIEDJE, J.M. Bacterial communities in the rhizosphere of biofuel crops grown on marginal lands as evaluated by 16s rRNA gene pyrosequences. *Bioenergy Research*, New York, v. 3, p. 20-27, 2010.

<https://doi.org/10.1007/s12155-009-9073-7>

KARLSSON, A. E.; JOHANSSON, T.; BENGTSON, P. Archaeal abundance in relation to root and fungal exudation rates. *FEMS Microbiology Ecology*. v. 80, p. 305-311. 2012.

<https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2012.01298.x>

KASEL, S.; BENNETT, L. T.; TIBBITS, J. Land uses influences soil fungal community composition across central Victoria, south-eastern Australia. *Soil Biology & Biochemistry*, Elmsford, v. 40, p. 1724-1732, 2008.

<https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2008.02.011>

KÖPPEN, W. *Die influence der erde*. Walter de Gruyter, Berlin, Leipzig, 1923.

KOURTEV, P. S.; EHRENFELD, J. G.; HAGGBLOM, M. Exotic plant species alter the microbial community structure and function in the soil. *Ecology*, London, v. 83, p. 3152-3166, 2002.

[https://doi.org/10.1890/0012-9658\(2002\)083\[3152:EPSATM\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1890/0012-9658(2002)083[3152:EPSATM]2.0.CO;2)

LAMMEL, D. R.; NÜSSLEIN, K.; TSAI, S. M.; CERRI, C. C. Land use and soil chemistry drive bacterial community composition in samples from rainforest and Cerrado (Brazilian Savannah) biomes of Southern Amazonia. *European Journal Soil Biology*. v. 66, p. 32-39. 2015.

<https://doi.org/10.1016/j.ejsobi.2014.11.001>

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

<https://doi.org/10.1128/AEM.00335-09>

LECKIE, S. E. Method of microbial community profiling and their application to forest soils. *Forest Ecology and Management*, Amsterdam, v. 220, p. 88-106, 2005.

<https://doi.org/10.1016/j.foreco.2005.08.007>

LEFF, J. W. Consistent responses of soil microbial communities to elevated nutrient inputs in grasslands across the globe. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, v. 112, p. 10967-10972. 2015.

<https://doi.org/10.1073/pnas.1508382112>

LIU, L.; DUAN, Z.; XU, M.; HU, J.; WANG, S.; HU, Z.; ZHANG, S.W. Effect of monospecific and mixed *Cunninghamia lanceolata* plantations on microbial community and two functional genes involved in nitrogen cycling. *Plant and Soil*, The Hague, v. 327, p. 413, 2010.

<https://doi.org/10.1007/s11104-009-0067-1>

LÓPEZ-GUARRIDO, R. Tillage influence on biophysical soil properties: The example of a long-term tillage experiment under Mediterranean rainfed conditions in South Spain. *Soil & Tillage Research*, v. 118, p. 52-60, 2012.

<https://doi.org/10.1016/j.still.2011.10.013>

LOPEZ-GUTIERREZ, J. C.; HENRY, S.; HALLET, S.; MARTIN-LAURENT, F.; CATROU, G.; PHILIPPOT, L. Quantification of a novel group of nitrate-reducing bacteria in the environment by real-time PCR. *Journal of Microbiological Methods*, Oxford, v. 57, p. 399-407, 2004.

<https://doi.org/10.1016/j.mimet.2004.02.009>

LORENZO, P.; RODRÍGUEZ-ECHEVERRÍA, S.; GONZÁLEZ, L.; FREITAS, H. Effect of invasive *Acacia dealbata* link on soil microorganisms as determined by PCR DGGE. *Applied Soil Ecology*, Amsterdam, v. 44, p. 245-251, 2010.

<https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2010.01.001>

LUMINI, E.; ORGIAZZI, A.; BORRIELLO, R.; BONFANTE, P.; BIANCIOTTO, V. Disclosing arbuscular mycorrhizal fungal biodiversity in soil through a land-use gradient using a pyrosequencing approach. *Environmental Microbiology*, Washington, v. 12, p. 2165-2179, 2010.

<https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2009.02099.x>

LYNCH, J. M.; WHIPPS, J. M. Substrate flow in the rhizosphere. *Plant and Soil*, The Hague, v. 129, p. 1-10, 1990.

<https://doi.org/10.1007/BF00011685>

MADER, P. F.; KAISER, A.; ADHOLEYA, A.; SINGH, R.; UPPAL, H. S.; SHARMA, A. K.; SRIVASTAVA, R.; SAHAI, V.; ARAGNO, M.; WIEMKEN, A.; JHORI, B. N.; FRIED, P. M. Inoculation of root microorganisms for sustainable wheat-rice and wheat-black gram rotations in India, *Soil Biology and Biochemistry*, Elmsford, v. 43, p. 609-619, 2011.

<https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2010.11.031>

MORALES, S.; COSART, T.; HOLBEN, W. Bacterial gene abundances as indicators of greenhouse gas emission in soils. *ISME J.* v. 4, p. 799-808. 2010.

<https://doi.org/10.1038/ismej.2010.8>

MOSONI, P.; DURAND, F. C.; MAILLET, C. B.; FORANO, E. Quantification by real time PCR of cellulolytic bacteria in the rumen of sheep after supplementation of a forage diet with readily fermentable carbohydrates: effect of a yeast additive. *Applied Microbiology*, Washington, v. 103, p. 2676-2685, 2007.

<https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2007.03517.x>

MUYZER, G.; DEWAAL, E. C.; UITTERLINDEN, 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*, Washington, v. 59, n. 3, p. 695- 700, 1993.

MYERS, R. T.; ZAK, D. R.; WHITE, D. C.; PEACOCK, A. Landscape-level patterns of microbial community composition and substrate use in upland forest ecosystems. *Soil Science Society of America Journal*, Madison, v. 65, p. 359-367, 2001.

<https://doi.org/10.2136/sssaj2001.652359x>

NAKATANI, A. S. Changes in the genetic structure of bacteria and microbial activity in an agricultural soil amended with tannery sludge. *Soil Biology & Biochemistry*, v. 43, p. 106-114, 2011.

<https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2010.09.019>

OLLE, C.; WILLIAMS, Y. "Effective microorganisms and their influence on vegetable production - a review." *Journal of Horticultural Science & Biotechnology*, v.

88, p. 380-386. 2013.

<https://doi.org/10.1080/14620316.2013.11512979>

PANKHURST, C. E.; KIRKBY, C. A.; HAWKE, B. G; HARCH, B. D. "Impact of a change in tillage and crop residue management practice on soil chemical and microbiological properties in a cereal-producing red duplex soil in NSW, Australia," *Biology and Fertility of Soils*, v. 35, n. 3, p. 189-196, 2002.

<https://doi.org/10.1007/s00374-002-0459-3>

PEIXOTO, R. S.; CHAER, G. M.; FRANCO, N.; REIS JUNIOR, F. B.; MENDES, I. C.; ROSADO, A. S. A decade of land use contributes to changes in the chemistry, biochemistry and bacterial community structures of soils in the Cerrado. Belgium, v. 98, p. 403-413, 2010.

<https://doi.org/10.1007/s10482-010-9454-0>

POLY, F.; MONROZIER, L. J.; BALLY, R. Improvement in the RFLP procedure for studying the diversity of nifH genes in communities of nitrogen fixers in soil. *Research in Microbiology, Netherlands*, v. 152, p. 95-103, 2001.

[https://doi.org/10.1016/S0923-2508\(00\)01172-4](https://doi.org/10.1016/S0923-2508(00)01172-4)

RACHID, C. T.; PICCOLO, M. C.; LEITE, D. C.; BALIEIRO, F. C.; COUTINHO, H. L. C.; VAN ELSAS, J. D.; PEIXOTO, R. S.; ROSADO, A. S. Physical-chemical and microbiological changes in Cerrado soil under differing sugarcane harvest management systems. *BMC Microbiology, Valencia*, v. 12, p. 170, 2012.

<https://doi.org/10.1186/1471-2180-12-170>

RACHID, C. T. C. C.; BALIEIRO, F. C.; PEIXOTO, R. S.; PINHEIRO, Y. A. S.; PICCOLO, M. C.; CHAER, M. G.; ROSADO, A.S. Mixed plantations can promote microbial integration and soil nitrate increases with changes in the N cycling genes. *Soil Biology & Biochemistry, Elmsford*, v. 18. p. 146-153, 2013.

<https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2013.07.005>

RAMIREZ, K. S.; CRAINE, J. M.; FIERER, N. Consistent effects of nitrogen amendments on soil microbial communities and processes across biomes. *Global Change Biology*, v. 18, p. 1918-1927. 2012.

<https://doi.org/10.1111/j.1365-2486.2012.02639.x>

ŠIBANCA, N.; DUMBRELL, A. J.; MANDIC-MULE, I.; MACEKA, I. Impacts of naturally elevated soil CO₂ concentrations on communities of soil archaea and bacteria. *Soil Biology & Biochemistry*, v. 68, p. 348-356. 2014.

<https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2013.10.018>

SOUZA, R. C. Soil metagenomics reveals differences under conventional and no tillage with crop rotation or succession. *Applied Soil Ecology*, v. 72, p. 49-61, 2013.

<https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2013.05.021>

STEVENSON, B. A.; HUNTER, D. W. F.; RHODES, P. L. Temporal and seasonal change in microbial community structure of an undisturbed, disturbed, and carbon amended pasture soil. *Soil Biology Biochemistry*, v.75, p. 175-185. 2014.

<https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2014.04.010>

TRIPATHI, B. M.; KIM, M.; LAI-HOE, A.; SHUKOR, N. A. A.; RAHIM, R. A.; Go, R. pH dominates variation in tropical soil archaeal diversity and community structure. *FEMS Microbiology Ecology*. v. 86, p. 303-311. 2013.

<https://doi.org/10.1111/1574-6941.12163>

WAKELIN, S. A. Habitat selective factors Influencing the structural composition and functional capacity of microbial communities in agricultural soils. *Soil Biology & Biochemistry*, v. 40, p. 803-813, 2008.

<https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2007.10.015>

WAKELIN, S. A.; MACDONALD, L. M.; ROGERS, S. L.; GREGG, A. L.; BOLGER, T. P.; BALDOCK, J. A. Habitat selective factors influencing the structural composition and functional capacity of microbial communities in agricultural soils. *Soil Biology & Biochemistry*, Elmsford, v. 40, p. 803-813, 2008.

<https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2007.10.015>

WANG, J. Z.; CUI, L. J.; WANG, Y. Growth, lipid peroxidation and photosynthesis in two tall fescue cultivars differing in heat tolerance. *Biologia Plantarum*, v. 53, n. 2, p. 237-242, 2009.

<https://doi.org/10.1007/s10535-009-0045-8>

WANG, Y. Tillage, residue burning and crop rotation alter soil fungal community and water-stable aggregation in arable fields. *Soil & Tillage Research*, v. 107, p. 71-79, 2010.

<https://doi.org/10.1016/j.still.2010.02.008>

WARDLE, D. A. A comparative assessment of factors, which influence microbial biomass carbon and nitrogen levels in soil. *Biological Reviews*, Malden, v. 67, p. 321-358, 1992.

<https://doi.org/10.1111/j.1469-185X.1992.tb00728.x>

Wieder, W. R.; BONAN, G. B.; ALLISON, S. D. Experimental removal and addition of leaf litter inputs reduces nitrate production and loss in a lowland tropical forest. *Biogeochemistry*, v. 113, p. 629-642. 2013.

<https://doi.org/10.1007/s10533-012-9793-1>

WOOD, S. A.; BRADFORD, M. A.; GILBERT, J. A.; MCGUIRE, K. L.; PALM, C. A.; TULLY, K. L. Agricultural intensification and the functional capacity of soil microbes on smallholder African farms. *Journal Applied Ecology*. 2015.

<https://doi.org/10.1111/1365-2664.12416>

YAO, H.; He, Z.; WILSON, M. J.; CAMPBELL, C. D. Microbial biomass and community structure in a sequence of soils with increasing fertility and changing land use. *Microbiology and Ecology*, v. 40, p. 223-237. 2000.

YARWOOD, S. A.; MYROLD, D. D.; HÖGBERG, M. N. Termination of belowground C allocation by trees alters soil fungal and bacterial communities in a boreal forest. *FEMS Microbiology Ecology*, Malden, v. 70, n. 1, p. 151-162, 2009. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2009.00733.x>

ZEHR, J. P.; KUDELA, R. M. Nitrogen cycle of the open ocean: from genes to ecosystems. *Annual review of marine science*, Palo Alto, v. 3, p. 197-225, 2011. <https://doi.org/10.1146/annurev-marine-120709-142819>

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A atividade agrícola, as práticas ligadas à condução de uma lavoura como calagem, rotação de culturas e outras atividades, interferem na estrutura do solo inclusive em sistemas mais conservacionistas, como é o caso do sistema de plantio direto. Assim, enquanto o papel microrganismos na estabilização da estrutura do solo, ciclagem de nutrientes e o próprio equilíbrio do solo são importantes, existem muitos distúrbios em áreas agrícolas, contribuindo para a redução da abundância de microrganismos.

A conversão de áreas naturais em sistemas agrícolas promove alterações expressivas na estrutura, fertilidade e atividade biológica dos solos, incluindo mudanças na população de microrganismos. A floresta de pinus por ser um sistema pouco manejada e formar uma camada espessa de serapilheira, apresenta melhor condição de infiltração de água e densidade do solo, porém, a especificidade do material vegetal dificulta sua mineralização e o desenvolvimento dos microrganismos, bem como sua atividade, ficam limitados.

Por outro lado, apesar do aumento da densidade e microporosidade do solo nos primeiros anos de adoção do sistema plantio direto, nota-se melhoria nessas propriedades a partir dos oito anos de implantação. De modo geral, o sistema de plantio direto apresentou alterações positivas nas propriedades estudadas com o aumento do tempo de implantação do sistema, provavelmente em função do maior sequestro de carbono observado. A abundância na população de bactérias e fungos também foi favorecida pelos anos de implantação indicando o reestabelecimento da vida ativa no solo em função das condições físico-químicas mais adequadas para crescimento e atividade microbiana.

Embora os sistemas de uso do solo modifiquem de forma significativa as propriedades físicas, químicas e biológicas dos solos, os resultados obtidos neste estudo mostram que os indicadores microbianos são mais sensíveis a essas alterações e por isso são mais recomendados quando se deseja avaliar as alterações provocadas no solo pela conversão de florestas plantadas de pinus em sistemas mais conservacionistas como o plantio direto.