

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP CÂMPUS DE  
JABOTICABAL**

**ESTOQUE DE CARBONO E ATRIBUTOS FÍSICOS E  
MICROBIOLÓGICOS DO SOLO EM SISTEMA DE  
SEMEADURA DIRETA DE LONGA DURAÇÃO**

**Henildo de Sousa Pereira**

**Engenheiro Agrônomo**

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP CÂMPUS DE  
JABOTICABAL**

**ESTOQUE DE CARBONO E ATRIBUTOS FÍSICOS E  
MICROBIOLÓGICOS DO SOLO EM SISTEMA DE  
SEMEADURA DIRETA DE LONGA DURAÇÃO**

**Discente: Henildo de Sousa Pereira**

**Orientador: Prof. Dr. José Eduardo Corá**

**Tese apresentada à Faculdade de Ciências  
Agrárias e Veterinárias - Unesp, Câmpus  
de Jaboticabal, como parte das exigências  
para a obtenção do título de Doutor em  
Agronomia (Produção Vegetal).**

P436e                      Pereira, Henildo de Sousa  
                                  Esteque de Carbono e Atributos físicos e microbiológicos do solo  
                                  em sistema de semeadura direta de longa duração / Henildo de Sousa  
                                  Pereira. -- Jaboticabal, 2023  
                                  85 p. : tabs.

                                  Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp),  
                                  Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal  
                                  Orientador: José Eduardo Corá

                                  1. Atividade biológica. 2. Metataxonômica. 3. Sequestro de  
                                  carbono. 4. Rotação de culturas. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

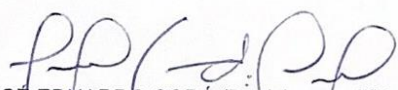
**CERTIFICADO DE APROVAÇÃO**

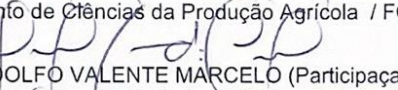
**TÍTULO DA TESE: ESTOQUE DE CARBONO E ATRIBUTOS FÍSICOS E MICROBIOLÓGICOS DO SOLO EM SISTEMA DE SEMEADURA DIRETA DE LONGA DURAÇÃO**

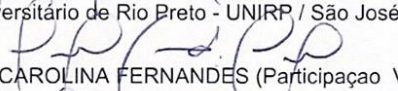
**AUTOR: HENILDO DE SOUSA PEREIRA**

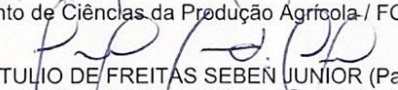
**ORIENTADOR: JOSÉ EDUARDO CORÁ**

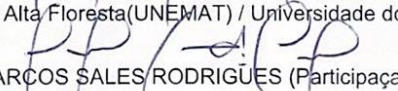
Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Doutor em AGRONOMIA (PRODUÇÃO VEGETAL), pela Comissão Examinadora:

  
Prof. Dr. JOSÉ EDUARDO CORÁ (Participação Virtual)  
Departamento de Ciências da Produção Agrícola / FCAV / UNESP - Jaboticabal

  
Prof. Dr. ADOLFO VALENTE MARCELO (Participação Virtual)  
Centro Universitário de Rio Preto - UNIRP / São José do Rio Preto/SP

  
Profa. Dra. CAROLINA FERNANDES (Participação Virtual)  
Departamento de Ciências da Produção Agrícola / FCAV / UNESP - Jaboticabal

  
Prof. Dr. GETULIO DE FREITAS SEBEN JUNIOR (Participação Virtual)  
Campus de Alta Floresta(UNEMAT) / Universidade do Estado de Mato Grosso - Nova Mutum/MT

  
Prof. Dr. MARCOS SALES RODRIGUES (Participação Virtual)  
Universidade Federal do Vale do São Francisco - Univasf / Petrolina/PE

Jaboticabal, 06 de maio de 2021

## **DADOS CURRICULARES DO AUTOR**

Henildo de Sousa Pereira nascido em 29 de março de 1990 em Colinas do Tocantins -TO, possui graduação em Agronomia pelo Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Mato Grosso (IFMT) – *Campus Confresa*, em 2015. Durante a graduação foi bolsista do Programa de Bolsas para Iniciação Científica (PIBIC) de 2011 a 2013. Em fevereiro de 2015 ingressou no Mestrado em Biodiversidade e Agroecossistemas Amazônicos na Universidade do Estado de Mato Grosso (UNEMAT) Câmpus de Alta Floresta, sob a orientação do Prof. Dr. Getulio de Freitas Seben Junior, onde foi bolsista da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Mato Grosso (FAPEMAT), concluindo em fevereiro de 2017. Em agosto de 2017 ingressou no curso de Doutorado em Agronomia (Produção Vegetal) na Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – Câmpus de Jaboticabal, sob orientação do Prof. Dr. José Eduardo Corá, como bolsista CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior), em julho de 2019 passou a ser bolsista da FAPESP (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo) onde permaneceu a até a data de defesa da tese.

À Deus pela vida e saúde. Aos meus pais Manoel Pereira de Sousa e Antônia Rodrigues de Sousa. À minha irmã Enilde de Sousa Pereira, pelo apoio e incentivo. À minha amada esposa Michelle Rezende Brito.

**DEDICO**

## AGRADECIMENTOS

À DEUS, por ser o dono da vida.

À minha família, meus pais Manoel Pereira e Antônia Rodrigues, minha irmã Enilde de Sousa, que mesmo não estando presentes sempre foram a minha fonte de inspiração para poder chegar até aqui.

À minha amada esposa Michelle Rezende Brito Pereira, por está ao meu lado sempre me apoiando.

À Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias-FCAV, Câmpus de Jaboticabal, em especial ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Produção Vegetal), pela oportunidade ofertada.

À toda equipe do Departamento de Ciências da Produção Agrícola, pelos ensinamentos e disponibilidade para auxiliar sempre que precisei.

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

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), processo nº 2019/10278-2.

Aos membros da banca examinadora pelas valiosas contribuições para melhoria do trabalho.

Ao Professor Dr. José Eduardo Corá, pela orientação no desenvolvimento deste trabalho, pelos ensinamentos acadêmicos e de vida. Obrigado pela sua amizade.

Aos colegas de Pós-Graduação Hugo, Almir, Vinícius e Samara, e a Jéssica bolsista de IC, pelas contribuições para a realização deste trabalho, e pelas boas conversas que sempre renderam muitas gargalhadas.

Por fim, a todos que de forma direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho e conquista deste título, **muito obrigado!**

## SUMÁRIO

	Página
RESUMO _____	X
ABSTRACT _____	XI
<b>CAPÍTULO 1 - Considerações gerais _____</b>	<b>1</b>
INTRODUÇÃO _____	1
REVISÃO DE LITERATURA _____	5
PLANTAS DE COBERTURAS NO SISTEMA DE SEMEADURA DIRETA _____	5
ESTOQUE DE CARBONO NO SOLO _____	6
CARBONO ORGÂNICO E AGREGADOS DO SOLO _____	6
ATRIBUTOS MICROBIOLÓGICOS DO SOLO _____	7
REFERÊNCIAS _____	10
<b>CAPÍTULO 2 - ESTOQUE DE CARBONO NO SOLO SOB SISTEMA DE SEMEADURA DIRETA DE LONGA DURAÇÃO _____</b>	<b>15</b>
INTRODUÇÃO _____	16
MATERIAL E MÉTODOS _____	18
RESULTADOS _____	21
DISCUSSÃO _____	27
REFERÊNCIAS _____	32
<b>CAPÍTULO 3 – CARBONO E GLOMALINA EM DIFERENTES TAMANHOS DE AGREGADOS EM SOLOS SOB SEMEADURA DIRETA DE LONGA DURAÇÃO _____</b>	<b>35</b>
INTRODUÇÃO _____	36
MATERIAL E MÉTODOS _____	37
RESULTADOS _____	41
DISCUSSÃO _____	45

CONCLUSÃO _____	48
REFERÊNCIAS _____	48

**CAPÍTULO 4 – DIVERSIDADE MICROBIANA E ATIVIDADE ENZIMÁTICA EM SOLO SOB DE SEMEADURA DIRETA DE LONGA DURAÇÃO \_\_\_\_\_ 51**

INTRODUÇÃO _____	52
MATERIAL E MÉTODOS _____	54
RESULTADOS _____	58
DISCUSSÃO _____	65
CONCLUSÃO _____	70
REFERÊNCIAS _____	70

## ESTOQUE DE CARBONO E ATRIBUTOS FÍSICOS E MICROBIOLÓGICOS DO SOLO EM SISTEMA DE SEMEADURA DIRETA DE LONGA DURAÇÃO

**RESUMO** – Espécies de plantas que compõem o sistema de semeadura direta (SSD) podem alterar o estoque de carbono EC no solo ao longo do tempo. A dinâmica do C do solo depende da diversidade dos microrganismos e da atividade de enzimas, o que sugere uma avaliação regionalizada da capacidade do solo em armazenar C a longo prazo sob diferentes usos e manejos. Assim, o objetivo do presente trabalho foi avaliar o efeito de sequências de culturas nos atributos físicos do solo e no estoque de C do solo sob SSD de longa duração. O experimento foi implantado em 2000 e os atributos avaliados no presente trabalho em 2020. Foi utilizado o delineamento em faixas com três repetições. Os tratamentos são constituídos de três sequências de culturas de verão: monocultura de milho (MM), monocultura de soja (SS) e rotação soja/milho (SM) com cultivos intercalados de soja e milho ano a ano; e sete culturas de entressafra: milho, girassol, nabo forrageiro, milheto, guandu, sorgo granífero e crotalária, totalizando 21 tratamentos. Foi estimado a quantidade de matéria seca e C acumulado pelos resíduos ao longo da condução do experimento. Calculou-se também o EC do solo em diferentes camadas até a profundidade de 1,0 m. Dentre as 21 sequências de culturas que compõem o experimento, foram escolhidos os seis tratamentos mais contrastantes: SS-Crotalária, SS-Sorgo, MM-Crotalária, MM-Sorgo, SM-Crotalária e SM-Sorgo. Nessas parcelas foram coletadas amostras na camada de 0,0 – 0,05 m, e determinados os teores de CT, proteína do solo relacionada a glomalina em duas frações: glomalina total (GT) e facilmente extraível (GFE) em três tamanhos de agregados >2,0, 2,0-0,5 e <0,5 - 0,125 mm. A diversidade dos microrganismos foi avaliada através da extração de DNA e sequenciamento da região V4-V5 do gene 16S rRNA, para bactéria e ITS para fungos. O SSD de longa duração aumenta o EC no solo na camada de 0,00 – 0,30 m em valores superiores ao estabelecido pela iniciativa “4 per 1000” e aumenta o EC em camadas mais profundas do solo quando comparado ao plantio convencional. O cultivo de milho no verão aumenta os teores de glomalina nos agregados do solo; o cultivo de leguminosas reduz a GFE; a GT está diretamente relacionada com o DMP. A monocultura de soja no verão e crotalária no inverno, reduziu a diversidade de fungos e bactérias do solo, enquanto o cultivo de milho no verão e sorgo no inverno aumentou a diversidade fúngica do solo; rotação soja/milho aumenta a atividade enzimática do solo e a produtividade de milho e soja em SSD de longa duração, independente do teor de carbono.

**Palavras Chaves:** Atividade biológica, metataxonômica, sequestro de carbono, rotação de culturas

## CARBON STOCK AND PHYSICAL AND MICROBIOLOGICAL ATTRIBUTES OF THE SOIL IN A LONG-TERM NO-TILLAGE SYSTEM

**ABSTRACT** - Plant species that make up the no-tillage system (NT) can alter the carbon stock (CS) in the soil over time. The dynamics of soil C depends on the diversity of microorganisms and the activity of enzymes, which suggests a regionalized assessment of the capacity of the soil to store C in the long term under different uses and managements. The objective of this study was to evaluate the effect of crop sequences on the physical attributes of the soil and on the C stock of the soil under long-term SSD. The experiment was implemented in 2000 and the attributes evaluated in the present study were evaluated in 2020. A strip design with three replications was used. The experiment was implemented in 2000 and the attributes in the present study were evaluated in 2020. Carried out according to a split-block design, with three replications. The treatments consist of three sequences of summer crops: corn monoculture (CC), soy monoculture (SS) and soybean/corn rotation (SC) with intercalated soybean and corn crops year by year; and seven off-season crops: corn, sunflower, turnip, millet, pigeon pea, grain sorghum and sunn hemp, totaling 21 treatments. It was estimated the amount of dry matter and C accumulated by the residues during the conduction of the experiment. Soil EC was also calculated in different layers up to a depth of 1.0 m. Among the 21 crop sequences that make up the experiment, the six most contrasting treatments were chosen: SS-sunn hemp, SS-grain sorghum, CC-sunn hemp, CC-grain sorghum, SC-sunn hemp and SC-grain sorghum. In these plots were collected in the 0.0 - 0.05 m layer, and the contents of CT, glomalin-related soil protein were determined in two fractions: total (GT) and easily extractable (GFE) in three sizes of aggregates > 2.0, 2.0-0.5, <0.5 - 0.125 mm. The diversity of microorganisms was evaluated through DNA extraction and sequencing of the V4-V5 region of the 16S rRNA gene, for bacteria and ITS for fungi. The duration SSD increases the EC in the soil in the 0.00 - 0.30 m layer in values higher than that established by the "4 per 1000" initiative and increases the EC in deeper layers of the soil when compared to conventional planting. The cultivation of corn in the summer increases the levels of glomalin in soil aggregates; the cultivation of legumes reduces a GFE; the GT is directly related to the DMP. Monoculture of soybeans in the summer and crotalaria in the winter, reduced the diversity of fungi and bacteria in the soil, while the cultivation of corn in the summer and sorghum in the winter increased the fungal diversity of the soil; soybean / corn rotation increases the enzymatic activity of the soil and the productivity of corn and soybean in long-term SSD, regardless of the carbon content.

**Keywords:** Biological activity, metataxonomic, carbon sequestration, crop rotate

## **CAPÍTULO 1 - Considerações gerais**

### **Introdução**

Mudanças no uso e manejo do solo podem afetar de maneira significativa seus atributos químicos, físicos e biológicos. Os efeitos são mais facilmente detectados quando as mudanças no uso e manejo do solo são drásticas, como por exemplo, mudança de sistema de preparo convencional do solo para sistema de semeadura direta (SSD). Contudo, mudanças menos drásticas, como o efeito de sequências de culturas que constituem o sistema de semeadura direta, apresentam diferenças menos sensíveis. Neste último caso, exige análises mais sensíveis que permitem avaliação mais adequada das relações de causa/efeito dos sistemas de sucessão/rotação de culturas.

A qualidade do solo, decorrente do efeito das espécies de plantas que compõem o SSD ao longo do tempo, deve ser avaliada de forma mais específica, haja vista que, os efeitos das espécies de plantas sobre os atributos do solo são mais dificilmente detectados. De maneira geral, são amplamente conhecidos os benefícios que o SSD pode possibilitar aos atributos do solo. No entanto, estudos que buscam manejos alternativos do SSD, visando seu aperfeiçoamento para aumento do potencial produtivo do solo ainda são necessários. Dessa forma, avaliação da abundância e diversidade microbiana do solo pode ser uma maneira mais específica e adequada de se avaliar a dinâmica do carbono e seu efeito nos atributos do solo, comparativamente a outras variáveis como a quantidade e qualidade de resíduo deixados na superfície do solo pelas culturas (Kallenbach et al., 2016).

A redução dos teores de carbono do solo (C) é preocupação recorrente, principalmente em regiões tropicais, especialmente, pelo uso intensivo do solo e ausência de rotação de culturas nos sistemas produtivos, diminuindo assim, o seu potencial produtivo (Lal, 2003; Seben Junior et al., 2014).

Diferentes usos e manejos afetam o ciclo do C do solo, assim como seu acúmulo no perfil (Lal, 2002; Li et al., 2012) e tendendo alcançar novo equilíbrio. Solos sob vegetação nativa podem perder até 50% do C nos primeiros 20 anos, após colocados no processo produtivo com preparo convencional do solo (aração e

gradagens) (Lal, 2002). Por outro lado, sistemas conservacionistas, como SSD, podem proporcionar aumento dos teores de C do solo ao longo do tempo (Lal, 2004; Sá et al., 2013, Seben Junior et al., 2014).

O teor de C do solo, na condição de novo equilíbrio, é afetado, entre outros fatores, pela quantidade e qualidade dos resíduos vegetais deixados pelas culturas na superfície do solo. Os resíduos vegetais proporcionam diferentes habitats, resultando em mudanças na abundância e diversidade microbiana do solo e na atividade enzimática do mesmo (Nivelle et al., 2016), as quais são reconhecidas por regular vários ciclos biogeoquímicos como o do carbono e também de elementos químicos no solo (White & Rice, 2009).

A abundância e diversidade microbiana do solo, proporcionada pelo habitat em decorrência da deposição de resíduos vegetais ao longo do tempo, resultará em novo equilíbrio dos teores de C do solo, podendo ou não atingir valores próximos daqueles de antes da intervenção antrópica (vegetação nativa). Da mesma maneira, uma vez alcançado o equilíbrio, a abundância e diversidade microbiana do solo regulará a taxa de decomposição dos resíduos vegetais depositados pelas culturas, evidenciando interdependência entre ambos os fatores.

Avaliando decomposição de resíduos, Marcelo et al. (2012) observaram que a taxa de decomposição depende da sua relação C/N e que a taxa de liberação de nutrientes para o solo não é igual para todos os resíduos e/ou nutrientes. Este fato implica em diferenças nos teores de nutrientes do solo sob usos e manejos com diferentes sequências de culturas. Diferentes teores de nutrientes e carbono no solo podem afetar diretamente a abundância e diversidade da comunidade microbiana do solo e seu metabolismo, como observado por Martins et al. (2012), os quais encontraram diferentes teores de pentoses (arabinose e xilose) no solo, sob diferentes sequências de culturas em SSD, e concluíram que o fato indicava haver diferença na comunidade microbiana do solo, visto que tais açúcares são considerados fonte de energia para os microrganismos. Depreende-se do fato, portanto, a importância de se conhecer a diversidade microbiana do solo, visando previsão de alterações no estoque de carbono de maneira mais correta.

Os microrganismos do solo são fontes primárias de enzimas que atuam como mediadoras da ciclagem de nutrientes (Tabatabai, 1994). As enzimas  $\beta$ -Glicosidase,

arilsulfatase e fosfatase ácida são envolvidas no ciclo de C, S e P, respectivamente, e possuem elevada sensibilidade para diferenciar agrossistemas (Brennan e Acosta-Martinez, 2018) e podem indicar alterações no estoque de C do solo (Inagaki et al., 2016). Avaliando sistemas de plantas de cobertura, Hok et al. (2018) indicaram  $\beta$ -Glicosidase, arilsulfatase e fosfatase ácida como indicadores de qualidade do solo.

Como já mencionado, a dinâmica do C no solo é influenciada por diversos fatores, sendo a agregação um importante atributo relacionado ao acúmulo de C no solo ao longo do tempo. Os agregados protegem fisicamente o C da mineralização tornando-os em reservatórios de carbono, sendo os microagregados responsáveis pelo armazenamento do C mais estável (Six et al., 2004).

Por sua vez, a formação dos agregados do solo é influenciada por fatores como teor de argila, cátions polivalentes, óxidos de ferro e hidróxidos de Al, matéria orgânica, exsudados radiculares e ciclos de umedecimento e secagem do solo (Castro Filho et al., 1998). Contudo, outros fatores como abundância e diversidade de microrganismos, incluindo fungos micorrízicos arbusculares (FMAs), também influenciam a formação desses agregados. Tais microrganismos produzem uma glicoproteína de natureza hidrofóbica denominada glomalina (Wright e Upadhyaya, 1996), a qual atua como ligante orgânico das partículas primárias do solo (argila, silte e areia), indicando relação entre formação e/ou estabilização de agregados no solo e teor de C do solo (Fokom et al., 2012).

Segundo Sousa et al. (2012), a quantidade de glomalina, produzida pelos FMAs é influenciada pelo uso e manejo do solo incluindo, evidentemente, as espécies de plantas. Entretanto, são escassas informações na literatura referentes a relação de causa/efeito entre teor de glomalina no solo, formação de agregados e sequestro de C no solo (Wang et al., 2017). Logo, este assunto requer pesquisas mais aprofundadas a fim de que o potencial de agregação da glomalina seja mais detalhado e seus efeitos mais bem entendidos.

A maioria dos trabalhos na literatura abordam a relação entre uso e manejo do solo e teores de carbono orgânico no solo, deixando, na maioria das vezes, de aprofundar nas explicações das relações de causa/efeito das diferenças. Trabalhos que abordam a influência de plantas no estoque de C do solo e na abundância e diversidade dos microrganismos são importantes para melhor entendimento da

dinâmica do C no solo, haja vista que, aproximadamente, 80 a 90% dos processos que ocorrem no solo são mediados por microrganismos, incluindo decomposição de matéria orgânica, transformações de compostos inorgânicos e formação e estabilização dos agregados do solo (Nannipieri e Badalucco, 2003).

Apesar do grande número de trabalhos encontrados na literatura abordando fatores que afetam o sequestro de C no solo, algumas questões referentes à influência das plantas sobre comunidades microbianas do solo necessitam ser elucidadas. Desta forma, partindo-se da análise de um experimento de longa duração, buscar-se-á responder os seguintes questionamentos: 1) Cultivo de espécies distintas influenciam, diferentemente, a abundância e diversidade de microrganismos do solo e estoque de C no solo até qual profundidade?; 2) Cultivo de espécies distintas influenciam a produção de glomalina por FMAs de modo alterar positivamente a estrutura do solo?; 3) Quais combinações de espécies cultivadas sob SSD mais contribuem para aumentar o potencial produtivo do solo, com conseqüente, aumento da produtividade das culturas?

Assim, o presente estudo teve como objetivos:

- a) Estimar os dados de C deixados pelos resíduos das culturas e quanto deste C foi estocado no solo; avaliar qual o EC no solo em diferentes sequências de cultivo no SSD, e avaliar o efeito das sequências de culturas sobre o estoque de C do solo em profundidades.
- b) Avaliar a estabilidade de agregados do solo em água, e o teor de carbono e glomalina em diferentes tamanhos de agregados do solo em SSD sob diferentes sequências de culturas.
- c) Avaliar o efeito de sequências de culturas na diversidade dos microrganismos e atividade enzimática do solo, e avaliar se possuem relação de causa/efeito com a produtividade das culturas.

## Revisão de Literatura

### *Plantas de coberturas no sistema de semeadura direta*

Na escala local, o acúmulo de C no solo é influenciado pela diversidade das plantas em decorrência de diferenças na produção de biomassa, induzida por características funcionais específicas de cada espécie (Martins et al., 2012), assim como pela influência da planta na região da rizosfera na abundância e diversidade microbiana (Cordeiro et al., 2012), o que pode alterar a eficiência da conversão do C dos resíduos vegetais em C orgânico do solo.

De maneira geral, são amplamente conhecidos os benefícios que o SSD pode possibilitar aos atributos do solo. No entanto, estudos que buscam manejos alternativos do SSD, visando seu aperfeiçoamento para aumento do potencial produtivo do solo ainda são necessários. A qualidade do solo, decorrente do efeito das espécies de plantas que compõem o SSD ao longo do tempo, deve ser avaliada de forma mais específica, haja vista que, os efeitos das espécies de plantas sobre os atributos do solo são mais dificilmente detectados.

A quantidade e qualidade dos resíduos vegetais deixados pelas culturas na superfície do solo, proporciona a presença de diferentes microrganismos responsáveis pela decomposição dos mesmos, e dependendo dos resíduos, pode resultar em diferentes teores de C aportado no solo. O cultivo de gramínea pode levar a teores de C em níveis diferentes de solos cultivados com leguminosa, ou seja, o cultivo de gramíneas está mais associado com aumento de estabilidade de agregados e maior aporte de C no solo, enquanto as leguminosas têm maior potencial de aumentar o N no solo por meio da fixação biológica de nitrogênio (Bruce et al., 1992).

Marcelo et al. (2012) observaram que a taxa de decomposição depende da sua relação C/N e que a taxa de liberação de nutrientes para o solo não é igual para todos os resíduos e/ou nutrientes. Este fato implica em diferenças nos teores de nutrientes do solo sob usos e manejos com diferentes sequências de culturas. Diferentes teores de nutrientes e carbono no solo pode afetar diretamente a abundância e diversidade da comunidade microbiana do solo e seu metabolismo, como observado por Martins et al. (2012), os quais encontraram diferentes teores de pentoses (arabinose e xilose) no solo, sob diferentes sequências de culturas em SSD, e concluíram que o fato

indicava haver diferença na comunidade microbiana do solo, visto que tais açúcares são considerados fonte de energia para os microrganismos. Depreende-se do fato, portanto, a importância de se conhecer a diversidade microbiana do solo, visando previsão de alterações no estoque de carbono de maneira mais correta.

### ***Estoque de carbono no solo***

O solo é considerado o maior reservatório de carbono (C) do sistema terrestre. Armazenando o equivalente a 4,5 vezes o carbono presente na biomassa terrestre e 3,3 vezes o estocado na atmosfera (Lal, 2004). No entanto, quando manejado de forma inadequada o solo passa a liberar C para a atmosfera.

Quando o solo é submetido a um determinado manejo, o teor de C tende a encontrar novo equilíbrio, sendo que a condição de novo equilíbrio, é afetado, entre outros fatores, pela quantidade e qualidade dos resíduos vegetais deixados pelas culturas na superfície do solo.

As mudanças climáticas vêm ganhando destaques nas políticas públicas a nível mundial. Em 2015, durante a COP21 (21ª conferência das partes), foi efetivado um acordo global sobre a redução das mudanças climáticas, visando redução da emissão de gases de efeito estufa pelos países signatários do acordo, denominado 4 por 1000. O acordo, proposto de forma global, constitui-se em aumentar 0,4% ao ano o teor de carbono total do solo, com objetivo de manter o aquecimento global abaixo de 2 °C, tomando-se como base a necessidade de reduzir a emissão de gases de efeito estufa em 9,8 gigatoneladas (Gt) de C ano<sup>-1</sup> (Meinshausen et al., 2009) e levando em conta que a capacidade de estoque de C global pelo solo foi estimada em 2400 Gt (9,8/2400 = 0,4%) (Batjes, 1996). Além de mitigar as mudanças climáticas, o aumento de C do solo pode beneficiar as condições do solo para as culturas (Lal, 2016). Contudo, o aumento de 0,4% ao ano do carbono total do solo foi proposto de forma global, e como a dinâmica do C do solo depende de condições ambientais específicas, é de fundamental importância uma avaliação regionalizada da capacidade do solo em armazenar C ao longo do tempo para diferentes usos e manejos.

### ***Carbono orgânico e agregados do solo***

A dinâmica do C no solo é influenciada principalmente, pela adição de resíduos orgânicos diversos e pela contínua transformação destes sob ação de fatores físicos, químicos, biológicos, climáticos e práticas do uso e manejo do solo. Sendo que, entre os fatores físicos, a agregação do solo tem forte correlação com o acúmulo de COS, principalmente ao longo do tempo (Kononova, 1984). Os agregados protegem fisicamente o C da mineralização tornando-se reservatórios de C, sendo os microagregados responsáveis pelo armazenamento do C mais estável (Six et al., 2004).

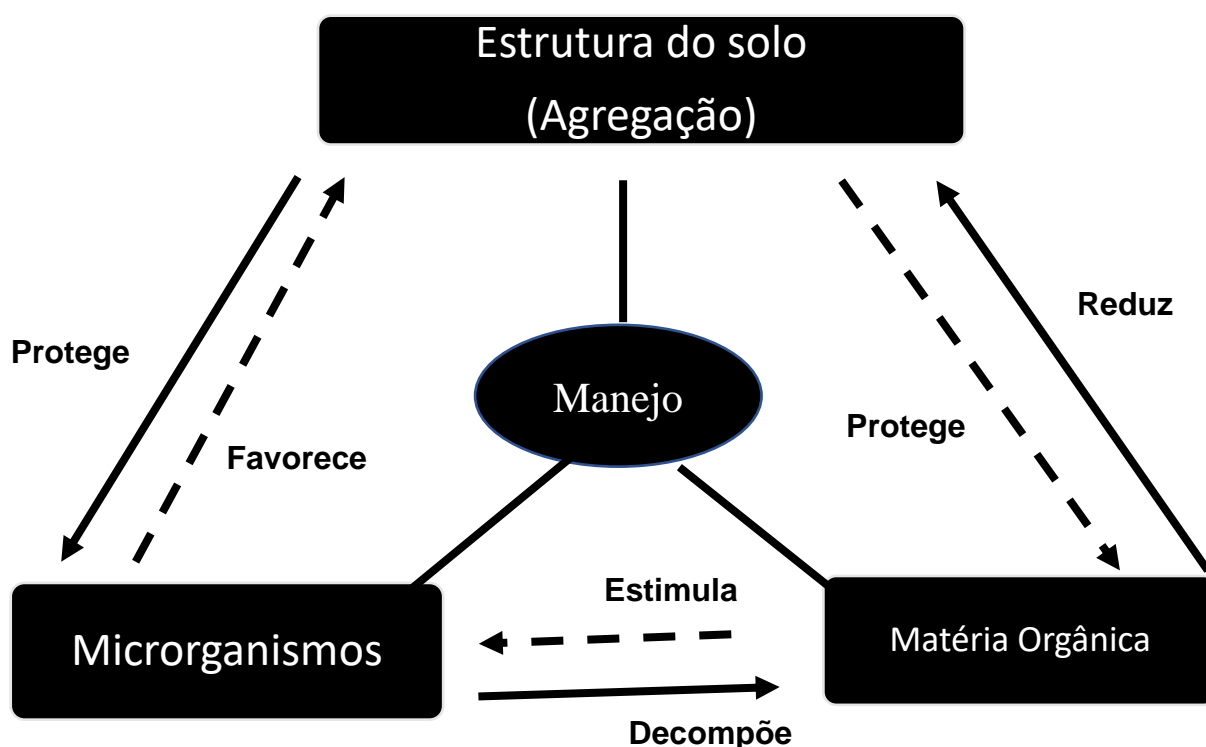
Alguns trabalhos confirmam a correlação entre agregados do solo e estoque de carbono (Seben Junior et al., 2016; Hontoria et al., 2016). Avaliando o estoque de C em diferentes tamanhos de agregados, Naresh et al. (2018) observaram que o sistema de cultivo interferiu no tamanho do agregado, e que os agregados contribuíram para o armazenamento do C no solo.

A adição de resíduos culturais na superfície do solo promove melhoria de sua qualidade estrutural do solo (Oliveira et al., 2015). Essa melhoria pode ser verificada e acompanhada através de indicadores de agregação do solo, uma vez que o aumento do carbono no solo está relacionado ao aumento na estabilidade de agregados (Calonego e Rosolem, 2008). Entre os indicadores, o diâmetro médio ponderado (DMP) é um dos mais usados para a avaliação do nível de agregação do solo (Silva et al., 2014).

### ***Atributos microbiológicos do solo***

Os resíduos vegetais proporcionam diferentes habitats, resultando em mudanças na abundância e diversidade microbiana do solo e na atividade enzimática (Nivelle et al., 2016), as quais são reconhecidas por regular vários ciclos biogeoquímicos entre eles o do carbono (White e Rice, 2009). Estima-se que entre 80 a 90% dos processos que ocorrem no solo são mediados por microrganismos, incluindo decomposição de matéria orgânica, transformações de compostos inorgânicos e formação e estabilização dos agregados do solo (Nannipieri e Badalucco, 2003).

A abundância e diversidade microbiana do solo, proporcionada pelo habitat em decorrência da deposição de resíduos vegetais ao longo do tempo, resultará em novo equilíbrio dos teores de C do solo, podendo ou não atingir valores próximos daqueles de antes da intervenção antrópica (vegetação nativa). Da mesma maneira, uma vez alcançado o equilíbrio, a abundância e diversidade microbiana do solo regulará a taxa de decomposição dos resíduos vegetais depositados pelas culturas, evidenciando interdependência entre ambos os fatores. Isso pode ser observado na (Figura 1), a estrutura do solo está ligada a forma com que ocorre a interação entre os fatores físicos, químicos e biológicos (Silva e Mielniczuk, 1997).



**Figura 1** – Inter-relação entre os microrganismos, matéria orgânica e agregação e a interferência do manejo do solo. Fonte: (Moreira & Siqueira, 2002).

Diferentes teores de nutrientes e carbono no solo podem afetar diretamente a abundância e diversidade da comunidade microbiana do solo e seu metabolismo, como observado por Martins et al. (2012), os quais encontraram diferentes teores de pentoses (arabinose e xilose) no solo, sob diferentes sequências de culturas em SSD, e concluíram que o fato indicava haver diferença na comunidade microbiana do solo, visto por que tais açúcares são considerados fonte de energia para os microrganismos.

Estima-se que apenas 1% dos microrganismos são cultiváveis (Streit e Schmitz, 2004). Dessa forma, a fim de avaliar a diversidade dos microrganismos que não são cultiváveis, surgiram novas técnicas conhecidas como “não cultiváveis”. Dentre as muitas técnicas destaca-se a metagenômica, principalmente quando é avaliado o sequenciamento do gene 16S rRNA para bactéria e ITS para fungos, pois permite a identificação de um maior número de microrganismos que estão presentes no ambiente avaliado (Oulas et al., 2015). Para isso, a diversidade é inferida por meio da amplificação das regiões 16S rRNA e ITS pela técnica da reação em cadeia da polimerase quantitativa q(PCR).

Os microrganismos do solo são fontes primárias de enzimas que atuam como mediadoras da ciclagem de nutrientes (Tabatabai, 1994). As enzimas  $\beta$ -Glicosidase e arilsulfatase são envolvidas no ciclo de C e S, respectivamente, e podem ser utilizados como indicadores afim de diferenciar agrossistemas (Brennan e Acosta-Martinez, 2018) e podem indicar alterações no estoque de C do solo (Inagaki et al., 2016). Avaliando sistemas de plantas de cobertura, Hok et al. (2018) e Mendes et al. (2015) indicaram  $\beta$ -glicosidase e arilsulfatase como indicadores de qualidade do solo.

A atividade dessas enzimas está relacionada com a formação de complexos com a matéria orgânica do solo e com a fração argila, indicando se o manejo do solo adotado, bem como se as culturas utilizadas em cobertura, favorecem a estabilização da matéria orgânica e outros atributos do solo como a agregação (Dick e Burns, 2011). O favorecimento se dá pelo fato de a atividade enzimática no solo ser controlada não só pela quantidade, mas também pela qualidade dos resíduos vegetais deixados pelas plantas na superfície do solo (Bandick e Dick, 1999), o que torna necessária avaliação da qualidade dos resíduos vegetais, visando entender a influência das plantas nos atributos do solo.

Já é bem difundido a importância dos agregados para o acúmulo de C no solo, a formação desses agregados do solo é influenciada por fatores como teor de argila, cátions polivalentes, óxidos de ferro e alumínio, matéria orgânica, exsudados radiculares e ciclos de umedecimento e secagem do solo (Castro Filho et al., 1998). Contudo, outros fatores como abundância e diversidade de microrganismos, incluindo fungos micorrízicos arbusculares (FMAs), também influenciam a formação desses agregados. Os FMAs produzem uma glicoproteína de natureza hidrofóbica denominada glomalina (Wright e Upadhyaya, 1996), a qual atua como ligante orgânico das partículas primárias do solo (argila, silte e areia), indicando relação entre formação e/ou estabilização de agregados no solo e teor de C do solo (Fokom et al., 2012).

Segundo Sousa et al. (2012), a quantidade de glomalina, produzida pelos FMAs é influenciada pelo uso e manejo do solo incluindo, evidentemente, as espécies de plantas. Entretanto, são escassas informações na literatura referentes a relação de causa/efeito entre teor de glomalina no solo, formação de agregados e sequestro de C no solo (Wang et al., 2017).

## Referências

Bandick, A.K. & Dick, R.P (1999). Field management effects on soil enzymes activities. **Soil Biol. Biochem.**, 31:1471-1479.

Batjes, N. H (1996). Total carbon and nitrogen in the soils of the world. **European Journal of Soil Science**, v.47, p.151-163. doi:10.1111/j.1365-2389.1996.tb01386.x

Brennan, E. B.; Acosta-Martinez, V (2018). Soil microbial biomass and enzyme data after six years of cover crop and compost treatments in organic vegetable production. **Data in Brief**, 21, 212-227. doi.org/10.1016/j.dib.2018.09.013

Bruce, R.R.; Langdale, G.W. & Dillard, A.L. Tillage and crop rotation effect on characteristic of a sandy surface soil. **Soil Sci. Soc. Am. J.**, 54:1744-1747, 1992.

Calonego, J. C.; Rosolem, C. A (2008). Estabilidade de agregados do solo após manejo com rotações de culturas e escarificação. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 32, n. 04, p.1399-1407. doi: 10.1590/S0100-06832008000400004

Castro Filho, C.; Muzilli, O; Podanoschi, A.L (1998). Estabilidade dos agregados e sua relação com o teor de carbono orgânico num Latossolo Roxo distrófico, em função de sistemas de plantio, rotações de culturas e métodos de preparo de amostras. **R. Bras. Ci. Solo**, 22:527- 538.

Cordeiro, M. A. S.; Corá, J. E.; Nahas, E (2012). Atributos bioquímicos e químicos do solo rizosférico e não rizosférico de culturas em rotação no sistema de semeadura direta. **Revista Brasileira Ciência do Solo**, v. 36, n.6, p. 1794-1803. doi:10.1590/S0100-06832012000600013

Dick, R.P.; Burns, R.G (2011). A brief history of soil enzymology research. In: Dick, R. P. editor, **Methods of soil enzymology**, Series 9. Soil Science Society of America, p. 1-34. doi:10.2136/sssabookser9.c1

Fokom, R.; Adamou, S.; Teugwa, M. C.; Boyogueno, A. D. B.; Nana, W. L.; Ngonkeu, M. E. L.; Tchameni, N. S.; Nwaga, D.; Ndzomo, G. T.; Zollo, P. H. A (2012). Glomalin related soil protein, carbon, nitrogen and 98 soil aggregate stability as affected by land use variation in the humid forest zone of south Cameroon. **Soil Tillage Research**, v. 120, p. 69-75. doi:10.1016/j.still.2011.11.004

Hok, L.; Sá, J. C. D. M.; Reyes, M.; Boulakia, S.; Tivet, F.; Leng, V.; Kong, R.; Briedis, C.; Hartman, D. C.; Ferreira, L. A.; Inagaki, T. M.; Gonçalves, D. R. P.; Bressan, P. T (2018). Enzymes and c pools as indicators of c build up in short-term conservation agriculture in a savanna ecosystem in cambodia. *Soil and Tillage Research*, v.177, p.125–133. doi:10.1016/j.still.2017.11.015

Hontoria, C.; Gómez-Paccard, C.; Mariscal-Sancho, I.; Benito, M.; Pérez, J.; Espejo, R (2016). Aggregate size distribution and associated organic C and N under different tillage systems and Ca-amendment in a degraded Ultisol. **Soil and Tillage Research**, v.160, p.42-52. doi:10.1016/j.still.2016.01.003

Inagaki, T. M.; Sá, J. C. M.; Caires, E. F.; Gonçalves, D. R. P (2016). Lime and gypsum application increases biological activity, carbon pools, and agronomic productivity in highly weathered soil. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v. 231, p. 156-165. doi:10.1016/j.agee.2016.06.034

Kallenbach CM; Frey, S.D; Grandy, A.S (2016). Direct evidence for microbial- derived soil organic matter formation and its ecophysiological controls. **Nature Communications**, 7:13630, 1-10. doi:10.1038/ncomms13630

Kononova, M. M (1984). Current problems in the study of organic matter accumulation in soils under anaerobiosis. **Soil Science**, v. 137, n. 6, p. 419-427.

Lal, R (2002). Soil carbon dynamics in cropland and rangeland. **Environmental Pollution**, v. 116, n. 3, p. 353-362, 2002. doi:10.1016/S0269-7491(01)00211-1

Lal, R (2003). Global potential of carbon sequestration to mitigate the greenhouse effect. **Critical Reviews in Plant Sciences**, v. 22, n. 2, 151–184. doi:org/10.1080/713610854

Lal, R (2004). Soil Carbon Sequestration Impacts on Global Climate Change and Food Security, **Science**, v. 304, n. 5677, 1623-1627. doi:10.1126/science.1097396

Lal, R (2016). Soil health and carbon management. **Food and Energy Security**, v.5, n.4, p. 212– 222. doi:10.1002/fes3.96

Li, D; Niu, S; Luo, Y (2012). Global patterns of the dynamics of soil carbon and nitrogen stocks following afforestation: a meta-analysis. **New Phytologist**, 195, p.172–181. doi:10.1111/j.1469-8137.2012.04150.x

Marcelo, A. V.; Cora, J. E.; Fernandes, C (2012). Sequências de culturas em sistema de semeadura direta: II - decomposição e liberação de nutrientes na entressafra. **Rev. Bras. Ciênc. Solo**, v. 36, n. 5, p. 1568-1582. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-06832012000500021>

Martins, M. R.; Angers, D. A.; Corá, J. E (2012). Carbohydrate composition and water-stable aggregation of an Oxisol as affected by crop sequence under no-till. **Soil Science Society of America Journal**, v.76, p.475-484. doi:10.2136/sssaj2011.0110

Meinshausen, M.; Meinshausen, N.; Hare, W.; Raper, S. C. B.; Frieler, K.; Knutti, R.; Frame, D. J. & Allen, M. (2009). Greenhouse gas emission targets for limiting global warming to 2°C. **Nature**, 458: 1158-1163.

Mendes, I. C.; Sousa, D. M. G.; Reis Junior, F. B (2015). Bioindicadores de qualidade de solo: dos laboratórios de pesquisa para o campo. **Cadernos de Ciência e Tecnologia**, v. 32, p. 191-209.

Nannipieri, P.; Badalucco, L. Biological Processes. In: Bembli, D.K.; Nieder, R (2003). **Handbook of processes and modeling in the soil-plant system**. p. 57-76. (The Haworth Press: Binghamton NY, EUA).

Naresh, R.K.; Vivek; Kumar, S.; Purushattom.; Sachan, D.K.; JAT, L.; Mahajan, N.C.; Tiwari, R.; Tomar, S.S (2018). Minimal soil disturbance and increased residue retention on aggregates carbono storage potencial and energy relations in Typic Ustochrept soil of Uttar Pradesh: A review. **Journal of Pharmacognosy and Phytichemistry**, v.7, n.5, p.1429-1447.

Nivelle, E.; Verzeaux, J.; Habib, H.; Kuzyakov, Y.; Decocq, G.; Roger, D.; Lacoux, J.; Duclerq, J.; Spicher, F.; Nava-Suacedo, J.; Catterou, M.; Dubois, F.; Tetu, T. Functional response of soil microbial communities to tillage, cover crops and nitrogen fertilization. **Applied. Soil Ecology**, v.108, p.147–155, 2016. doi:10.1016/j.apsoil.2016.08.004

Oliveira, D. M. S.; Lima, R. P.; Jan Verburg, E. E (2015). Qualidade física do solo sob diferentes sistemas de manejo e aplicação de dejetos líquido suíno. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 19, n. 3, p. 280–285. doi: 10.1590/1807-1929/agriambi.v19n3p280-285

Oulas, A.; Pavludi, C.; Polymenakou, P.; Pavlopoulos, G. A.; Papanikolaou, N.; Kotoulas, G.; Arvanitidis, C.; Iliopoulos, I (2015). Metagenomics: Tools and Insights for Analyzing Next-Generation Sequencing Data Derived from Biodiversity

Studies. **Bioinformatics and Biology Insights**, v. 9, p. 75 -88. doi:10.4137 / BBI.S12462

Sá, J.C.M; Santos, J.B; Lal, R; Moraes, A; Tivet, F; Sá, M.F; Briedis, C; Ferreira, A.O; Eurich, G; Farias, A; Friedrich, T (2013). Soil-Specific Inventories of Landscape Carbon and Nitrogen Stocks under No-till and Native Vegetation to Estimate Carbon Offset in a Subtropical Ecosystem. **Soil Science Society of America Journal**, v.77, p. 2094 – 2110. doi:10.2136/sssaj2013.01.0007

Seben Junior, G.F; Corá, J; Lal, R (2014). The effects of land use and soil management on the physical properties of an Oxisol in Southeast Brazil. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, 38(4), 1245-1255. doi.org/10.1590/S0100-06832014000400021

Seben Junior, G. F.; Corá, J. E.; Lal, R (2016). Soil aggregation according to the dynamics of carbon and nitrogen in soil under different cropping systems. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.51, n.9, p.1652-1659. doi:10.1590/s0100-204x2016000900065

Silva, A. S; Silva, I. D. F.; Bandeira; L. B., Dias, B. O.; Silva Neto, L. D. F (2014). Argila e matéria orgânica e seus efeitos na agregação em diferentes usos do solo. **Ciencia rural**, v. 44, n. 10, p. 1783-1789. doi: 10.1590/0103-8478cr2013078

Silva, I. F.; Mielniczuk, J (1997). Ação do sistema radicular de plantas na formação e estabilização de agregados do solo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, 21: 113-117.

Six, J.; Bossuyt, H.; Gryze, S.; Deneff, K (2004). A history of research on the link between (micro) aggregates, soil biota, and soil organic matter dynamics. **Soil and Tillage Research**, v.79, n.1, p.7-31. doi:10.1016/j.still.2004.03.008

Sousa, C. S.; Menezes, R. S. C.; Sampaio, E. V. S. B.; Lima, F. S. L (2012). Glomalina: Características, produção, limitações e contribuição nos solos. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 3, n. 1, p. 3033-3044. doi:10.5433/1679- 0359.2012v33Supl1p3033

Streit W.R, Schmitz R.A (2004). Metagenomics – the key to the uncultured microbes. **Current Opinion in Microbiology** 7: 492–498. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2004.08.002>

Tabatabai, M. A.; Enzymes. In: Weaver, R. W.; Augle, S.; Bottomley, P. J.; Bezdicek, D.; Smith, S.; Tabatabai, A.; Wollum, A (1994). Methods of soil analysis. Part 2 (Microbial and Biochemical Properties. **Soil Science Society of America**, p. 775-833. doi:10.2136/sssabookser5.2.c37

Wang, Y.; Hu, N.; Ge, T.; Kuzyakov, Y.; Wang, Z. L.; Li, Z.; Tang, Z.; Chen, Y.; Wu, C.; Lou, Y (2017). Soil aggregation regulates distributions of carbon, microbial community and enzyme activities after 23-year manure amendment. **Applied Soil Ecology**, v. 111, p. 65–72. doi:10.1016/j.apsoil.2016.11.015

White, P. M.; Rice, C. W (2009). Tillage Effects on Microbial and Carbon Dynamics during Plant Residue Decomposition. **Soil Science Society of America Journal**, v.73, n. 1, p. 138-145. doi:10.2136/sssaj2007.0384

Wright, S.F. & Upadhyaya, A (1996). Extraction of an abundant and unusual protein from soil and comparison with hyphal protein of arbuscular mycorrhizal fungi. **Soil Sci.**, 161:575-586.

## **CAPÍTULO 2 - Estoque de carbono no solo sob sistema de semeadura direta de longa duração**

Henildo de Sousa Pereira<sup>a</sup>; José Eduardo Corá<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Universidade Estadual Paulista - UNESP, Câmpus de Jaboticabal, Via de Acesso Prof. Paulo Donato Castellane, s/n. Jaboticabal, SP, 14884-900, Brasil.

**RESUMO** – A dinâmica do C no solo depende de condições ambientais específicas, da planta cultivada e do tipo de manejo adotado, o que sugere uma avaliação regionalizada da capacidade do solo em armazenar C a longo prazo sob diferentes usos e manejos. Espécies de plantas que compõem o sistema de semeadura direta (SSD) podem alterar o estoque de carbono-EC do solo ao longo do tempo. Assim, o objetivo do presente trabalho foi avaliar o teor de C nos resíduos e o EC no solo sob sequências de culturas em SSD, e se as plantas cultivadas podem alterar o C no solo em profundidade. O experimento foi implantado em 2000 seguindo o delineamento estatístico em faixas com três repetições. Sendo três sequências de culturas de verão: monocultura de milho (MM), monocultura de soja (SS) e rotação soja/milho (SM) com cultivos intercalados de soja e milho ano a ano; e sete culturas de entressafra: milho, girassol, nabo forrageiro, milheto, feijão guandu anão, sorgo granífero e crotalária, totalizando 21 tratamentos. Foi calculado a quantidade de matéria seca e C acumulado pelos resíduos ao longo dos 20 anos da condução do experimento. Calculou-se também o EC do solo em diferentes camadas até a profundidade de 1,0 m, e a eficiência das culturas em incorporar C no solo. O SSD de longa duração apresentou maior EC no solo na camada de 0,00 – 0,40 m quando comparado ao sistema de cultivo convencional. Quando cultivou crotalária como planta de cobertura houve incremento de 5 Mg C ha<sup>-1</sup> em relação ao cultivo de milho ou girassol.

**Palavras Chaves:** matéria orgânica, sequestro de carbono, rotação de culturas

## Introdução

O solo pode ser considerado o reservatório mais importante de C do sistema terrestre, podendo armazenar o equivalente a 4,5 vezes o carbono presente na biomassa terrestre e 3,3 vezes o da atmosfera (Lal, 2004).

A redução dos teores de carbono do solo (CS) é preocupação recorrente em regiões tropicais, especialmente, pelo uso intensivo do solo e ausência de rotação de culturas nos sistemas produtivos, causando declínio na qualidade dos solos (Lal, 2002; Li et al., 2012). Solos sob vegetação nativa podem perder até 50% do C nos primeiros 20 anos, após colocados no processo produtivo com preparo convencional do solo (aração e gradagens) (Lal, 2002). Por outro lado, sistemas conservacionistas, como o sistema de semeadura direta (SSD), em relação ao sistema convencional (SC), podem proporcionar aumento dos teores de C do solo ao longo do tempo (Lal, 2004; Sá et al., 2013).

A federação Brasileira de plantio direto na palha (FEBRAPDP) estimou que em 2019 a área semeada em SSD no Brasil foi de aproximadamente 32 milhões de ha das 64 milhões de ha cultivadas no país (CONAB, 2020), isso mostra o potencial dos solos brasileiros armazenar C no solo.

De maneira geral, são amplamente conhecidos os benefícios que o SSD possui em relação ao sistema convencional. No entanto, estudos que buscam manejos alternativos do SSD, visando seu aperfeiçoamento para aumento do estoque de carbono (EC) do solo ainda são necessários, pois o conhecimento da relação entre a entrada de resíduos das culturas e a dinâmica do C no solo ainda não estão consolidados (Rigon e Calonego, 2021).

Os efeitos no EC do solo são mais facilmente detectados quando as mudanças no uso e manejo do solo são drásticas, como por exemplo, mudança de sistema de preparo convencional do solo para SSD. Contudo, quando as mudanças são menos drásticas, como o efeito de diferentes plantas cultivadas que constituem o SSD, essas alterações nos atributos do solo são mais dificilmente de serem detectadas, neste último caso, é importante avaliar trabalhos de longa duração (Chen et al., 2020).

A maior parte dos trabalhos quantificam o CS apenas nos primeiros 0,20 ou 0,30 m, deixando assim, de certificar se os tratamentos estão alterando o C em profundidade (Zhang et al., 2021). Assim, é fundamental estudos que buscam avaliar

o aumento do EC em profundidade, haja vista, que o carbono pode ser incorporado em camadas mais profundas do solo pela ação das raízes das plantas (Ferreira et al., 2018).

Segundo o painel intergovernamental sobre mudanças climáticas (IPCC, 2019), vinte anos é o período padrão de duração de sequestro de C do solo. Contudo, o relatório do IPCC admite que, esse período pode variar devido à influência de fatores na taxa de decomposição da matéria orgânica. Portanto, alguns questionamentos podem ser apontados em regiões e/ou condições específicas como as tropicais: 1) O SSD é capaz de proporcionar aumento do carbono do solo ao longo de 20 anos? 2) O SSD pode aumentar o C no solo até 1,0 m de profundidade? 3) Quais sucessões de culturas proporcionam maior estoque de C no solo? Respostas para tais questionamentos permitirão embasar a implantação de sistemas que visam aumentar o EC no solo, a fim de auxiliar na implantação de um SSD, visto que são resultados de longa duração que permitirão projetar como estará o EC em um determinado solo no futuro, permitindo implantar um sistema com plantas que favoreçam o EC.

Na escala local, o acúmulo de C no solo é influenciado pela diversidade das plantas em decorrência de diferenças na produção de biomassa, induzida por características funcionais específicas de cada espécie (Martins et al., 2012), assim como pela influência da planta na região da rizosfera e na abundância e diversidade microbiana (Cordeiro et al., 2012), o que pode alterar a eficiência da conversão do C dos resíduos vegetais em C no solo.

Como já relatado sobre a importância do solo em armazenar C, foi efetivado um acordo global em 2015, durante a COP21 (21ª conferência das partes), denominado “4 por 1000”, onde para cada mil partes de C no solo deve-se aumentar quatro partes de C por ano, visando a redução da emissão de gases de efeito estufa, a fim de reduzir as mudanças climáticas.

Contudo, o aumento de 0,4% ao ano do carbono total do solo foi proposto de forma global, e como a dinâmica do C do solo depende de condições ambientais específicas, é de fundamental importância uma avaliação regionalizada quanto a capacidade do solo em armazenar C ao longo do tempo.

Com base no exposto, foi possível formular para o presente trabalho as seguintes hipóteses: plantas de coberturas apresentam diferenças para em estocar C

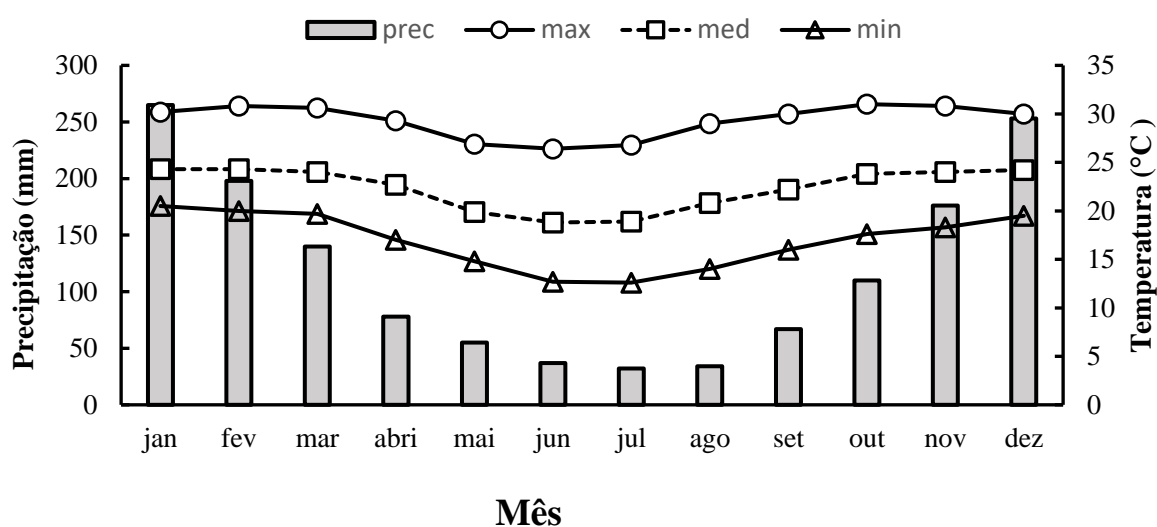
no solo; o sistema de SSD de longa duração aumenta o EC no solo, sendo o aumento até 1,0 m de profundidade.

Assim, o presente estudo teve como objetivos: estimar os dados de C deixados pelos resíduos das culturas e quanto deste C foi estocado no solo, avaliar qual o EC no solo em diferentes sequências de cultivo no SSD, e se as plantas cultivadas podem alterar o C no solo em profundidades.

## Material e métodos

O experimento foi implantado em 2000, cuja área experimental localiza-se próximos às coordenadas 48° 18' 58" W e 21° 15' 22" S. Antes da instalação do experimento, a área era utilizada para produção de soja e milho em sistema de preparo convencional do solo por, pelo menos, 30 anos.

O clima da região é Aw, segundo a classificação de Köppen, com precipitação média anual de 1.425 mm, concentrada entre os meses de outubro a março (Figura 1). A temperatura média anual e a umidade relativa do ar são 22°C e 70%, respectivamente.



**Figura 1.** Médias mensais da precipitação e temperatura na área do experimento (1971-2019).

O solo foi caracterizado como um Latossolo Vermelho eutrófico (Santos et al., 2013), textura argilosa, com teores de argila de 565 g kg<sup>-1</sup>, silte de 65 g kg<sup>-1</sup> e 370 g kg<sup>-1</sup> de areia. Atributos químicos do solo da camada arável (0,0 - 0,20 m) foram determinados antes da instalação do experimento, de acordo com Raij et al. (2001), como segue: pH (CaCl<sub>2</sub>) = 5,0; teor de matéria orgânica = 19 g dm<sup>-3</sup>; P (resina) = 13 mg dm<sup>-3</sup>; K = 4,1; Ca = 15; Mg = 9; H + Al = 34 e CTC = 62,1 mmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> e 45% de saturação por bases.

Antes da instalação do experimento (ano agrícola 2000/2001), realizaram-se operações de subsolagem a 0,40 m de profundidade e calagem em área total para elevação da saturação por bases do solo para 70%. A incorporação do calcário com PRNT de 100%, aplicado na dose de 1,5 Mg ha<sup>-1</sup>, foi realizada por meio de operações de aração e gradagem.

Foi utilizado o delineamento estatístico em faixas, com três repetições. Os tratamentos foram constituídos pela combinação de três sequências de culturas de verão: monocultura de milho (*Zea mays* L.) (MM), monocultura de soja (*Glicine max* L.) (SS) e rotação soja/milho (SM) com cultivos intercalados de soja e milho ano a ano; e sete culturas de entressafra (inverno): milho, girassol (*Helianthus annuus* L.), nabo forrageiro (*Raphanus sativus* L.), milheto (*Pennisetum americanum* L.), feijão guandu anão (*Cajanus cajan* L.), sorgo granífero (*Sorghum bicolor* L.) e crotalária (*Crotalaria juncea* L.), totalizando 21 tratamentos, as culturas de inverno semeadas todos os anos em fevereiro-março repetindo-se a cada ano agrícola a mesma cultura de entressafra na mesma parcela. Cada parcela correspondeu a uma área de 400 m<sup>2</sup> (40 m x 10 m). Adicionalmente, duas outras áreas foram utilizadas visando comparação com o SSD: área com sistema de preparo convencional do solo e uma área com vegetação nativa, ambas contíguas à área experimental.

A implantação das culturas de verão foi feita sempre que precipitação pluviométrica acumulada atingisse no mínimo 50 mm. As recomendações das adubações de semeadura das culturas de verão, foram realizadas com base nos resultados das análises químicas do solo, mais detalhes podem ser encontrados em Marcelo et al. (2009).

O aporte de resíduo vegetal (matéria seca), tanto da parte aérea como de raízes, deixado pelas culturas ao longo da condução do experimento, foi estimado,

levando-se em conta dados obtidos em 7 anos agrícolas (2002/2003, 2003/2004, 2004/2005, 2007/2008, 2008/2009, 2017/2018, 2018/2019), de modo permitir abrangência no regime hídrico ao longo do tempo e, portanto, uma estimativa confiável dos dados. A quantificação dos resíduos vegetais deixado pelas culturas foi realizada conforme descrito por Marcelo et al. (2012a). A quantidade de carbono acumulado pelos resíduos ao longo da condução do experimento foi calculado multiplicando-se o teor de C do resíduo vegetal pela quantidade de matéria seca do resíduo.

O teor de C do solo foi determinado por combustão a seco, utilizando-se o equipamento LECO TruMac CNS (Leco Corp., St. Joseph, MI, EUA). Para tal, três subamostras de terra com estrutura deformada foram coletadas nas camadas de 0,0-0,05; 0,05-0,10; 0,10-0,15; 0,15-0,20; 0,20-0,30; 0,30-0,40; 0,40-0,60; 0,60-0,80; 0,80-1,00 m de profundidade em trincheira aberta no centro de cada parcela. As subamostras foram homogeneizadas, para formarem uma amostra composta e representativas de cada camada. Foram secas ao ar e passadas através de peneira de 2 mm para, em seguida, serem submetidas à análise de determinação do teor total de C. Adicionalmente, nas mesmas profundidades, foram coletadas, em triplicata amostras com estrutura preservada, utilizando-se anéis volumétricos metálicos de 100 cm<sup>3</sup>, visando determinar a densidade do solo e cálculo do estoque de C do perfil do solo, pelo método de camada equivalente (Carvalho et al. 2009). O valor de densidade do solo de referência utilizado foi o valor de densidade do solo da mata nativa, contígua à área experimental.

A percentagem de C dos resíduos e parte aérea das plantas que foi incorporado em C do solo, foi determinada por meio da avaliação do acúmulo total de C deixado pelos resíduos e pela quantidade de C estocado no solo (Equação 1), esse cálculo foi possível fazer apenas na camada de 0,0 -0,40 m, pois os dados do EC do início do experimento são apenas até esta profundidade.

$$Ef = ((ECi-ECf)/CTr)*100 \quad \text{Eq. 1.}$$

Sendo:

Ef: eficiência para incorporar C no solo; ECi: estoque de carbono inicial; ECf: estoque de carbono final; CTr: carbono total deixado pelo resíduo.

Para quantificar quantas vezes mais o SSD aumentou o EC em comparação com o sugerido pela iniciativa 4 por mil, que é um aumento de 0,4% ao ano, utilizou-se a equação 2.

$$xEC_p = (EC_i - EC_f) / EC_p \text{ Eq. 2.}$$

Sendo:

$xEC_p$ : vezes mais EC em relação ao EC proposto pela iniciativa 4 por mil;  $EC_i$ : estoque de carbono inicial;  $EC_f$ : estoque de carbono final;  $EC_p$ : estoque de carbono proposto pela iniciativa “4 por mil”.

Os dados foram submetidos à análise de variância e, quando foram detectadas diferenças significativas entre tratamentos, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade, utilizando o ExpDes.pt do programa R (R CORE TEAM, 2020).

## Resultados

A quantidade total dos resíduos vegetais e o acúmulo de carbono (verão + inverno) da parte aérea e de raiz na camada de (0,0 – 0,1 m) depositadas ao longo dos 20 anos de condução do experimento estão apresentados na (Tabela 1).

A quantidade de C aportado pelos resíduos e (raízes 0,0 – 0,10 m) no SSD ao longo dos 20 anos de condução do experimento foram classificadas na seguinte ordem: verão (MM > MS > SS); inverno (milheto > guandu > crotalária > milho > sorgo > nabo > girassol), variando entre 72,4 e 111,0 Mg de C ha<sup>-1</sup> (Tabela 1).

**Tabela 1.** Matéria seca estimada e acúmulo de carbono depositados pelos resíduos e raízes deixadas das culturas de verão e inverno ao longo dos 20 anos de experimento (2000-2019).

	----- Matéria seca -----			----- Carbono acumulado -----		
	SS	MM	SM	SS	MM	SM
	----- Parte aérea (Mg ha <sup>-1</sup> ) -----					
Milho	156,8	208,4	192,3	69,1	95,7	80,1
Girassol	146,3	197,9	169,0	61,7	88,4	72,8
Nabo	143,4	195,1	171,7	61,5	88,2	72,6
Milheto	168,3	219,9	205,0	73,4	100,1	84,5
Guandu	145,6	197,3	173,0	69,1	95,8	80,21
Sorgo	149,7	201,3	186,3	67,8	94,5	78,9
Crotalária	148,1	199,8	178,9	67,1	93,7	78,1
	----- Raiz 0,0 – 0,10 m (Mg ha <sup>-1</sup> ) -----					
Milho	22,1	17,0	19,7	10,14	7,8	9,0
Girassol	23,8	22,1	23,0	10,6	9,9	10,3
Nabo	32,3	27,2	29,9	14,3	12,1	13,3
Milheto	27,2	23,8	25,6	12,5	10,9	11,8
Guandu	23,8	25,5	24,6	11,2	12,1	11,6
Sorgo	23,8	15,3	19,8	10,9	7,0	9,1
Crotalária	21,1	20,4	21,3	10,5	9,7	10,1
	----- Total (Mg ha <sup>-1</sup> ) <sup>a</sup> -----					
Milho	178,9	225,5	212,0	79,2	103,5	89,2
Girassol	170,1	220,1	192,0	72,4	98,3	83,1
Nabo	175,7	222,3	201,6	75,9	100,3	85,9
Milheto	195,5	243,7	230,7	85,9	111,0	96,3
Guandu	169,4	222,8	197,6	80,4	107,9	91,8
Sorgo	173,4	216,6	206,1	78,7	101,5	88,0
Crotalária	170,2	220,2	200,3	77,6	103,5	88,3

<sup>a</sup>: Soma da parte aérea e raiz.

Percentagem do C depositado pelos resíduos vegetais e raízes das plantas de coberturas está apresentada na (Tabela 2), pode-se observar que na sucessão soja/soja todas as culturas de inverno apresentam maiores eficiências em incorporar C em relação a sucessão milho/milho e rotação soja/milho, também se observa que a crotalária é a cultura de inverno que tem maior eficiência em incorporar C no solo.

**Tabela 2.** Eficiência das plantas de coberturas estocar C no solo na camada 0,0 -0,40 m, sob sistema de semeadura direta.

	SS*	MM	SM
	--- Eficiência em incorporar C ao solo (%) ----		
Milho	4,7	2,7	1,1
Girassol	4,2	3,5	1,8
Nabo	7,3	3,5	6,2
Milheto	10,1	4,0	3,9
Guandu	12,4	7,6	3,4
Sorgo	7,3	5,6	6,4
Crotalária	12,2	9,6	7,7

<sup>a</sup> Diferença entre o estoque atual e o inicial em 2000. SS=soja/soja; MM= milho/milho; SM= soja/milho.

O EC foi avaliado após a safra 18/19, ou seja, 20 anos após a implantação do experimento, as amostras foram estratificadas até 1,0 m de profundidade conforme a Tabela 3. Observa-se que nas camadas 0,10 - 0,15 e 0,15 - 0,20 m o EC do solo foi influenciado apenas pelas culturas de inverno, no qual o EC do solo em área cultivada com crotalária apresentou a maior média em relação ao girassol, já a área cultivada com girassol resultou em menor média do EC no solo. Na camada 0,20 -0,25 m o maior EC no solo foi observado na sucessão soja/soja e milho/milho e o menor EC no solo na rotação soja/milho, para o fator culturas de inverno o EC no solo apresentou maior valor no tratamento crotalária e o menor valor de EC no solo em área cultivada com milho.

Maiores valores de EC no solo na camada de 0,30-0,40 e 0,60 -0,80 m foram observados nas parcelas cultivadas com guandu e crotalária (Tabela 3).

**Tabela 3.** Estoque de carbono-EC nas camadas 0,0-0,05; 0,05-0,10; 0,10-0,15; 0,15-0,20; 0,20-0,25; 0,25-0,30; 0,30-0,40; 0,40-0,60; 0,60-0,80 e 0,80-1,0 m do solo sob sistema de semeadura direta com diferentes sequências de culturas.

----- EC: Mg C ha <sup>-1</sup> -----					
	<b>0,0 – 0,05</b>	<b>0,05 – 0,10</b>	<b>0,10 - 0,15</b>	<b>0,15-0,20</b>	<b>0,20-0,25</b>
<b>Verão</b>					
SS	9,87	7,47	6,09	5,56	5,22 a
MM	9,26	7,23	5,97	5,50	5,12 a
SM	9,07	7,42	5,79	5,16	4,75 b
Teste F	1,238 <sup>ns</sup>	0,56 <sup>ns</sup>	0,89 <sup>ns</sup>	2,24 <sup>ns</sup>	8,86 <sup>**</sup>
<b>Inverno</b>					
Milho	8,91	6,98	5,69 ab	4,96 b	4,42 b
Girassol	9,44	6,92	5,42 b	5,01 b	4,52 ab
Nabo	8,90	7,46	6,10 ab	5,47 ab	5,06 ab
Milheto	8,86	8,15	6,29 ab	5,58 ab	5,32 ab
Guandu	10,17	7,15	5,89 ab	5,49 ab	5,36 ab
Sorgo	9,59	7,31	5,76 ab	5,35 ab	5,01 ab
Crotalária	9,93	7,66	6,51 a	5,96 a	5,49 a
Teste F	2,07 <sup>ns</sup>	2,79 <sup>ns</sup>	3,03 <sup>**</sup>	3,27 <sup>**</sup>	3,00 <sup>**</sup>
Ver x Inv	1,304 <sup>ns</sup>	2,79 <sup>*</sup>	0,60 <sup>ns</sup>	0,86 <sup>ns</sup>	1,31 <sup>ns</sup>
CV	18,46	10,89	11,92	12,01	7,60
CV	11,79	10,41	10,79	10,54	14,28
CV	10,83	8,42	8,09	8,75	12,85
	<b>0,25 - 0,30</b>	<b>0,30 - 0,40</b>	<b>0,40 - 0,60</b>	<b>0,60 - 0,80</b>	<b>0,80 - 1,00</b>
<b>Verão</b>					
SS	4,55	8,33	13,70	11,75	9,69
MM	4,65	8,37	14,60	11,20	9,74
SM	4,30	7,75	13,19	10,97	9,55
Teste F	1,76 <sup>ns</sup>	1,07 <sup>ns</sup>	2,32 <sup>ns</sup>	0,85 <sup>ns</sup>	0,13 <sup>ns</sup>
<b>Inverno</b>					
Milho	4,11	7,15 b	13,83	10,12 b	8,71
Girassol	4,32	7,62 ab	12,85	10,61 ab	9,43
Nabo	4,56	7,91 ab	13,36	11,16 ab	9,53
Milheto	4,58	8,14 ab	14,05	11,39 ab	9,20
Guandu	4,61	8,90 a	14,57	11,72 ab	10,16
Sorgo	4,56	8,43 ab	13,56	11,27 ab	9,81
Crotalária	4,77	8,88 a	14,58	12,88 a	10,78
Teste F	1,29 <sup>ns</sup>	4,29 <sup>*</sup>	1,05 <sup>ns</sup>	2,77 <sup>*</sup>	1,77 <sup>ns</sup>
Ver x Inv	0,76	0,95 <sup>ns</sup>	1,35 <sup>ns</sup>	0,50 <sup>ns</sup>	2,45 <sup>**</sup>
CV	13,71	18,94	14,60	17,58	13,08
CV	12,68	11,38	13,19	13,89	15,65
CV	11,21	14,19	13,70	17,45	8,57

\*: significativo a 5%; \*\*: significativo a 1% pelo teste F. Médias seguidas por letras distintas não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

O EC do solo na camada 0,05 - 0,10 m apresentou os maiores valores quando houve combinação da rotação soja/milho e sucessão soja/soja cultivadas com milheto

no inverno. Na camada 0,80 - 1,0 m os maiores EC foram observados na sucessão milho/milho combinados com as culturas de inverno guandu e crotalária (Tabela 4).

**Tabela 4.** Desdobramento da interação (verão x inverno) para EC nas camadas 0,05-0,10 m e 0,80-1,0 m.

<b>EC: Mg C ha<sup>-1</sup> (0,05 - 0,10 m)</b>							
	Milho	Girassol	Nabo	Milheto	Guandu	Sorgo	Crotalária
SS	7,70 a	7,06	7,33ab	8,15 ab	6,83 b	7,25	8,01
MM	6,57 b	6,97	7,04b	7,06 b	7,70 a	7,65	7,60
SM	6,68 Bb	6,73 B	8,00 ABa	9,24 Aa	6,91 Bab	7,05 B	7,36 B
<b>EC: Mg C ha<sup>-1</sup> (0,80 - 1,0 m)</b>							
SS	8,62	9,70	9,58 ab	9,63	9,50 b	10,34	10,46
MM	9,00 B	9,49 AB	8,57 Bb	8,52 B	11,45 Aa	10,10 AB	10,97 AB
SM	8,62	9,09	10,46 a	9,44	9,43 b	8,98	10,90

Médias seguidas por letras distintas minúscula na coluna e maiúscula na linha diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

O EC nas profundidades 0,0 - 0,30 e 0,0 - 1,0 m foi maior quando foi cultivado crotalária no inverno, já os cultivos de milho e girassol resultaram em menores valores de EC no solo (Tabela 5).

**Tabela 5.** Estoque de carbono - EC e % de EC em relação ao total em diferentes camadas do solo, sob sistema de semeadura direta.

	0,0 - 0,30 m	0,0 - 1,0 m	0,0 - 0,10	0,0 - 0,20	0,0 - 0,30	0,0 - 0,40	0,0 - 0,60
	-----EC (Mg ha <sup>-1</sup> )-----		----- % EC em relação ao EC total (0,0 -1,0 m) -----				
<b>Verão</b>							
SS	38,78	82,50	21,12	35,33	47,20	57,23	74,03
MM	37,69	82,24	20,02	34,03	46,00	56,23	74,06
SM	36,52	77,99	21,14	35,16	46,74	56,72	73,74
Teste F	1,86ns	1,43ns	1,49ns	1,24ns	0,73ns	0,75ns	1,29ns
<b>Inverno</b>							
Milho	35,09 b	75,27 b	21,51	35,83	47,24	56,82	75,15
Girassol	35,64 b	76,17 b	21,53	35,28	46,89	56,90	73,76
Nabo	37,58 ab	79,67 ab	20,30	34,77	46,80	56,81	73,88
Milheto	38,69 ab	81,49 ab	20,52	35,07	47,33	57,39	74,65
Guandu	38,69 ab	85,17 ab	20,48	33,91	45,66	56,07	73,29
Sorgo	37,61 ab	81,15 ab	20,91	34,68	46,54	56,94	73,95
Crotalária	40,33 a	87,46 a	20,06	34,34	46,06	56,24	72,93
Teste F	2,92**	3,62**	0,29ns	0,19ns	0,16ns	0,09ns	0,56ns
<b>Ver x Inv</b>	1,35ns	0,79ns	1,66ns	1,02ns	0,74ns	0,49ns	0,48ns
CV	10,06	11,98	11,56	8,34	6,92	4,80	0,98
CV	8,49	8,60	15,50	12,41	9,54	7,69	4,10
CV	5,68	7,42	7,69	6,49	5,56	4,58	2,30

\*: significativo a 5%; \*\*: significativo a 1% pelo teste F. Médias seguidas por letras distintas diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Em relação a porcentagem do EC nas camadas analisadas, observa-se que não diferiram entre os tratamentos (Tabela 5), no entanto é importante destacar que aproximadamente 46% do EC do solo (considerando estoque até 1,0 m de profundidade) está armazenado nos primeiros 30 cm, ou seja, os outros 54% estão em camadas inferiores a 30 cm.

O Solo sob SSD acumulou mais C do que a meta estabelecida pela iniciativa pela iniciativa 4 por 1000 (Tabela 6).

**Tabela 6.** Variação no EC ao longo de 20 anos na camada 0,0 -0,4 m e sua comparação com a meta estabelecida pela iniciativa 4 por mil, sob sistema de semeadura direta.

	SS	MM	SM	EC em Mg ha <sup>-1</sup>			
	SS	MM	SM	SS	MM	SM	
	----- 2019 -----			Meta (4 por mil)	----- Diferença -----		
Milho	43,8	42,8	41,0	2,72 <sup>a</sup>	3,8(1,4x) <sup>b</sup>	2,8(1,0x)	1,0(0,36x)
Girassol	43,1	43,5	41,5	2,72	3,1(1,1x)	3,5(1,2x)	1,5(0,55x)
Nabo	45,6	43,6	45,4	2,72	5,6(2,0x)	3,6(1,3x)	5,4(1,9x)
Milheto	48,7	44,53	43,8	2,72	8,7(3,2x)	4,5(1,6x)	3,8(1,4x)
Guandu	50,0	48,3	43,2	2,72	10,0(3,6x)	8,3(3,0x)	3,2(1,1x)
Sorgo	45,8	45,7	44,6	2,72	5,8(2,1x)	5,7(2,1x)	5,7(2,0x)
Crotalária	49,5	50,06	46,8	2,72	9,5(3,5x)	10,0(3,6x)	6,8(2,5x)

<sup>a</sup>: Meta estabelecida pela iniciativa 4 por mil (acumulado nos 20 anos). <sup>b</sup>: Valor entre parênteses representa o número de vezes o valor de EC em relação a meta 4 por mil.

## Discussão

Os dados obtidos no presente estudo demonstram a importância do SSD no armazenamento de C no solo, visto que aumentou o EC no solo em níveis superiores aos da meta proposta pela iniciativa 4 por mil, que visa aumentar o EC em 0,4% ao ano. Os resultados encontrados mostraram também, que as plantas de coberturas afetaram o EC no solo até mesmo em elevadas profundidades (0,8 – 1,0 m). Ressalta-se que o EC não diferiu entre a rotação e sucessão de culturas, o que aumenta as opções de sequências de culturas que podem ser utilizadas no SSD.

Os principais achados do presente estudo indicam que o SSD de longa duração aumenta o C no solo até 1,0 m de profundidade e o cultivo de crotalária como planta de cobertura incrementou o EC no solo em 5 Mg C ha<sup>-1</sup> em relação ao cultivo de milho ou girassol.

Mesmo deixando os menores valores de C sobre o solo, o sistema de sucessão soja/soja foi mais eficiente na incorporação do C depositados pelos resíduos e raízes plantas para C do solo na camada de 0,0 – 0,40 m (Tabela 3), no qual o cultivo com crotalária e guandu apresentou eficiência de 12,2 e 12,4%, respectivamente. Isso ocorre devido a maior entrada de N no sistema por meio da FBN, uma vez que esse N favorece o acúmulo de C no solo, pois não ocorre aumento de C no solo se o N estiver limitando a produtividade biológica (Urquiaga et al., 2005).

A sucessão milho/milho apresentou maiores valores de produção de matéria seca, uma vez que sempre foi cultivado milho no verão, deixando uma grande quantidade de C sobre o solo, mas por sua vez a eficiência em incorporar esse carbono no solo foi menor em relação ao cultivo de sucessão soja/soja (Tabela 2). Sendo que o cultivo de culturas de inverno milho e girassol em área de sucessão milho/milho apresentou os menores valores para incorporar o C no 1,1 e 1,8%, respectivamente.

A monocultura de soja apresentou maiores valores para EC no solo, corroborando com (Seben Junior et al., 2014), estudando C no solo na mesma área experimental. Esses dados demonstram a importância da entrada de N no sistema para aumentar o C no solo, reforçando que a introdução de leguminosas no sistema de cultivo contribui para aumento do EC no solo (Conceição et al., 2013), uma vez que a relação C:N do resíduo é fundamental no processo de incorporar C ao solo.

A não diferença de EC na camada 0,00 -0,05 m (Tabela 3), ocorre pelo fato de a incorporação do C dos restos culturais no solo serem favorecidos em camadas superficiais, os benefícios dos resíduos vegetais acontecem da superfície para subcamadas, sendo que na superfície do solo ocorre maior atividade de microrganismos, maior fertilidade, e grande acúmulo de raízes (Lima Filho et al., 2014).

O maior EC no solo na profundidade 0,5 – 0,10 m quando cultivou milheto no inverno em rotação com soja/milho ou sucessão soja/soja pode ser explicado pelo fato do milheto apresentar maior quantidade de matéria seca e maior acúmulo de C deixado pelos resíduos conforme observado na (Tabela 1), uma vez que o milheto apresenta sistema radicular fasciculado e que também foi uma das culturas que mais produziu massa seca de raiz (Tabela 1), o que aumenta a eficiência em estocar C no solo, principalmente em camadas superficiais (Loss et al., 2015).

O aumento do EC no solo nas profundidades 0,10 – 0,15; 0,15 – 0,20; 0,20 – 0,25; 0,30 – 0,40 e 0,60 – 0,80 m quando foi cultivado crotalária e guandu em comparação com cultivo de milho e girassol, são resultados da combinação de maior eficiência em incorporar C no solo e do C incorporado pelas raízes, uma vez que possuem raízes pivotantes e as raízes principais podem chegar a profundidades superiores a 0,3 m (Reinert et al., 2008).

A elevada eficiência em incorporar C observada nos resíduos de crotalária, vai de encontro com o maior EC no solo observado no presente estudo, essa maior eficiência ocorre devido ao resíduo da crotalária apresentar elevada quantidade de nutrientes associada a uma baixa taxa de decomposição em relação a outras leguminosas (Marcelo et al., 2012b). Por outro lado, a baixa eficiência para incorporar C no solo observado nas culturas de milho e girassol explicam os menores EC no solo quando esses foram cultivados, isso ocorre pelo fato dos restos culturais apresentarem maiores relações C:N em relação as leguminosas (Marcelo et al., 2012a), dessa forma, a falta de N diminui a capacidade do solo armazenar C, visto que o N é um limitante no aumento do EC no solo (Urquiaga et al., 2005).

As mudanças no estoque de C do solo foram independentes das entradas de C acima do solo, segundo Chen et al. (2020) o aumento do C está mais associada com a qualidade do resíduo depositado (Chen et al., 2020).

Os maiores valores para EC no solo na camada 0,8 - 1,0 m observado quando cultivou crotalária e quando no inverno e sucessão milho/milho no verão (Tabela 4), pode ser explicada pelo fato das raízes de leguminosas aportarem maiores quantidade de C no solo em profundidade (Medina et al., 2013).

Os EC observados no presente trabalho na profundidade 0,0 - 0,3 m variaram entre 35 e 40 Mg C ha<sup>-1</sup>, dados estes que estão próximos ao observado por Fidalgo (2007) 45 Mg C ha<sup>-1</sup> em Latossolos do mesmo bioma (Mata Atlântica). Observa-se que houve incremento de até 10 Mg C ha<sup>-1</sup> no solo quando cultivou crotalária como planta de cobertura em relação ao sistema de preparo convencional do solo, que significa um aumento anual na ordem de 0,58 Mg C ha<sup>-1</sup> e corrobora com Cerri et al. (2004), no qual observaram um aumento anual de C no solo na ordem de 0,50 Mg C ha<sup>-1</sup>.

O maior EC no solo nas profundidades 0,0 - 0,30 e 0,0 - 1,0 m quando cultivou crotalária em relação ao milho e girassol, pode ser atribuído ao fato da crotalária incorporar mais N no sistema e não limitar o EC no solo pela falta de N. Essa limitação do N ocorre com o milho e girassol, onde mesmo o milho produzindo maior quantidade de matéria seca, a menor quantidade de N no seu resíduo, faz com que sua eficiência de incorporação de C no solo seja menor, e conseqüentemente apresenta menor EC no solo.

Para fins de comparação, também foi quantificado o EC do solo em sistema de preparo convencional anexo ao experimento, sendo que o EC foi de 27,9 e 68,8 Mg C ha<sup>-1</sup>, nas camadas de 0,0 - 0,30 e 0,0 - 1,0 m, respectivamente. Ou seja, todos os tratamentos do SSD apresentaram valores de EC no solo maiores que o preparo convencional. Isso ocorre devido a redução dos teores de C no solo de forma muito drástica quando a vegetação nativa é removida e o solo passa a ser cultivado em sistemas convencionais (Lal, 2003; Seben Junior et al., 2014), chegando a um equilíbrio em níveis menores do que em solos sob SSD.

Dados estes que estão próximas as estimativas feitas por Lal (2002), em que solos sob vegetação nativa podem perder até 50% do C nos primeiros 20 anos, após colocados no processo produtivo com preparo convencional do solo (aração e gradagens).

Observa-se que o EC no solo em SSD apresentam valores muito inferior ao EC da mata nativa, isto indica que o aumento do EC no solo ocorre de forma muito lenta, e podendo não alcançar os teores de C da mata nativa, principalmente quando o solo original apresenta elevados teores de C, como é o caso do solo do presente estudo. Pois o cultivo com a utilização de grade ano após ano desagrega o solo e expõe o C antes protegido pelos agregados, que será prontamente perdido, assim, para voltar a teores de C originais, o solo precisa recuperar sua estrutura a fim de proteger o C através dos agregados. No entanto, mesmo não removendo o solo com a utilização de grade, a ação da semeadura no SSD alterada a estrutura do solo e dificilmente terá uma estrutura como a mata nativa, e conseqüentemente não voltará aos EC originais.

Avaliando C no solo na mesma área experimental do presente estudo após nove anos do início do SSD, (Seben Junior et al., 2014) não encontraram diferença no EC no solo na camada 0,0 – 0,1 m quando compararam o plantio convencional com o SSD. Os autores sugerem que essa não diferença foi devido ao curto tempo desde a implantação do SSD, mas ressaltaram que o SSD já apresentava aumento do EC na ordem de 0,03 Mg ha<sup>-1</sup> ano<sup>-1</sup> C.

Mesmo sabendo do acúmulo de C no solo proporcionado pelo SSD como já mencionando, observa-se que esse valor está muito abaixo dos valores observados em vegetação nativa anexa ao experimento: 81,2 e 144,0 Mg C ha<sup>-1</sup>, nas profundidades de 0,0 - 0,30 e 0,0 - 1,0 m, respectivamente.

Assim, pode-se observar que o SSD de longa duração favoreceu o aumento do EC no solo em níveis superiores ao valor da meta estabelecida no acordo 4 por mil, com exceção das parcelas cultivadas com a rotação soja/milho no verão e milho ou girassol no inverno (Tabela 6).

Menor EC em rotação de culturas soja/milho também foi observado por Palma et al. (2000), resultados estes que indicam possuir uma maior atividade de microrganismos no solo, e assim, uma maior degradação dos resíduos, resultando em menor C no solo. No entanto mesmo apresentando menor EC na rotação soja/milho, Borges (2010) avaliando qualidade do solo na mesma área experimental, observou maiores valores de quociente microbiano (qMIC) na rotação soja/milho. Isso indica maior qualidade do C e conseqüentemente maior qualidade do solo, que pode ser notado quando se observa a produtividade das culturas nos diferentes sistemas, sendo a produtividade de milho na rotação soja/milho foi maior do que a produtividade em sucessão de milho (Marcelo et al., 2009), ou seja, mesmo com menor EC no solo na rotação a produtividade foi maior, isso pode ser explicado pela melhor agregação do solo quando este é submetido ao sistema de rotação (Seben Junior et al., 2016).

Quando a cultura de inverno é milho ou sorgo, onde os cortes das plantas são realizados apenas na colheita, o material está com menor qualidade (Marcelo et al., 2012b), e conseqüentemente a eficiência de acumular C no solo é reduzida (Tabela 2), contribuindo assim, para não armazenar C conforme a meta 4 por mil. Por outro lado, observa-se que nas parcelas onde foram cultivadas leguminosas no inverno e sucessão de soja ou milho no verão, o EC foi até 3,5x maior do que a estipulada pela meta 4 por mil.

## **Conclusões**

Dentre os 21 manejos testados ao longo de 20 anos de cultivo, a crotalaria cultivada como planta de cobertura proporcionou ao solo o maior EC, as plantas de coberturas alteram o C no solo até 1,0 de profundidade.

## Referências

- Borges, C. D. **Alterações microbianas do solo sob sistema de semeadura direta e rotação de culturas**. 2010. 82 f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agropecuária) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal.
- Carvalho, J.L.N.; Cerri, C.E.P.; Feigel, B.J.; Piccolo, M.C.; Godinho, V.P.; Cerri, C.C. Carbon sequestration in agricultural soils in the Cerrado region of the Brazil Amazon. **Soil and Tillage Research**, v. 103, p.342-349, 2009.
- Chen, J.; Lærke, P.E.; Jørgensen, U. Optimized crop rotations increase biomass production without significantly changing soil carbon and nitrogen stock. **Ecological Indicators**, 117, 2020. 106669. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2020.106669>
- CONAB. Acomp. safra bras. grãos, v. 7 Safra 2019/20 - Quarto levantamento, Brasília, p. 1-104. janeiro 2020.
- Conceição, P.C.; Diekow, J.; Bayer, C. Combined role of no-tillage and cropping systems in soil carbon stocks and stabilization. **Soil and Tillage Research**, v.129, p.40-47, 2013. DOI: 10.1016/j.still.2013.01.006
- Cordeiro, M. A. S.; Corá, J. E.; Nahas, E. Atributos bioquímicos e químicos do solo rizosférico e não rizosférico de culturas em rotação no sistema de semeadura direta. **Revista Brasileira Ciência do Solo**, v. 36, n.6, p. 1794-1803, 2012. doi:10.1590/S0100-06832012000600013
- Cerri, C. C.; Cerri, C. E. P.; Davidson, E. A.; Bernoux, M.; Feller, C. A ciência do solo e o sequestro de carbono. **Boletim Informativo da Sociedade Brasileira de Ciência do Solo**, v. 29, n.3, p. 29–34, 2004.
- Ferreira, A. O.; Amado, T. J. C.; Rice, C. W.; Diaz, D. A. R.; Briedis, C.; Inagaki, T. M.; Gonçalves, D. R. P. Driving factors of soil carbon accumulation in Oxisols in long-term no-till systems of South Brazil. *Science of The Total Environment*, v. 622-623, p. 735-742, 2018. doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.12.019
- Fidalgo, E. C. C.; Benites, V. M.; Machado, P. L. O.A.; Madari, B. E.; Coelho, M. R.; Moura, I. B.; Lima, C. X. **Estoque de carbono nos solos do Brasil – Dados eletrônicos**. — Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 2007. [https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/CNPS/13061/1/bpd121\\_2007\\_estoque\\_carbono.pdf](https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/CNPS/13061/1/bpd121_2007_estoque_carbono.pdf)
- IPCC, 2019: Climate Change and Land: an **IPCC special report on climate change, desertification, land degradation, sustainable land management, food security, and greenhouse gas fluxes in terrestrial ecosystems** [P.R. Shukla, J. Skea, E. Calvo Buendia, V. Masson-Delmotte, H.-O. Pörtner, D. C. Roberts, P. Zhai, R. Slade, S. Connors, R. van Diemen, M. Ferrat, E. Haughey, S. Luz, S. Neogi, M. Pathak, J. Petzold, J. Portugal Pereira, P. Vyas, E. Huntley, K. Kissick, M. Belkacemi, J. Malley, (eds.)]. In press

Köppen, W. Das Geographische System der Klimatologie: Handbuch der Klimatologie I. Berlin: Gebruder Borntrager, 1936. 44 p.

Lal, R. Soil carbon dynamics in cropland and rangeland. **Environmental Pollution**, v. 116, n. 3, p. 353-362, 2002. doi.org/10.1016/S0269-7491(01)00211-1

Lal, R. Global potential of carbon sequestration to mitigate the greenhouse effect. **Critical Reviews in Plant Sciences**, v. 22, n. 2, p. 151–184, 2003.

Lal, R. Soil Carbon Sequestration Impacts on Global Climate Change and Food Security, **Science**, v. 304, n. 5677, p.1623-1627, 2004. doi:10.1126/science.1097396

Li, D.; Niu, S.; Luo, Y. Global patterns of the dynamics of soil carbon and nitrogen stocks following afforestation: a meta-analysis. **New Phytologist**, 195, p.172–181, 2012. doi:10.1111/j.1469-8137.2012.04150.x

Lima Filho, O. F.; Ambrosano E.J.; Rossi, F.; Carlos, J.A.D. **Adubação verde e plantas de cobertura no Brasil: fundamentos e prática**. Brasília, DF: Embrapa; 2014. v.1.

Loss, A.; Basso, A.; Oliveira, B.S.; Koucher, L. P.; Oliveira, R.A.; Kurtz, C.; Lovato, P. E.; Curni, P.; Brunetto, G.; Comin, J. J. Carbono Orgânico Total e Agregação do Solo em Sistema de Plantio Direto Agroecológico e Convencional de Cebola. **R. Bras. Ci. Solo**, 39:1212-1224, 2015. doi.org/10.1590/01000683rbcs20140718

Marcelo, A.V.; Corá, J.E.; Fernandes, C.; Martins, M. R.; Jorge, R.F. Crop sequences in no-tillage system: effects on soil fertility and soybean, maize and rice yield. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.33, p.417-428, 2009. DOI: 10.1590/S0100-06832009000200019

Marcelo, A.V.; Cora, J. E.; Fernandes, C. Sequências de culturas em sistema de semeadura direta: I - produção de matéria seca e acúmulo de nutrientes. **Rev. Bras. Ciênc. Solo**, v. 36, n. 5, p. 1553-1567, 2012a. https://doi.org/10.1590/S0100-06832012000500020

Marcelo, A. V.; Cora, J. E.; Fernandes, C. Sequências de culturas em sistema de semeadura direta: II - decomposição e liberação de nutrientes na entressafra. **Rev. Bras. Ciênc. Solo**. v. 36, n. 5, p. 1568-1582, 2012b. http://dx.doi.org/10.1590/S0100-06832012000500021

Martins, M. R.; Angers, D. A.; Corá, J. E. Carbohydrate composition and water-stable aggregation of an Oxisol as affected by crop sequence under no-till. **Soil Science Society of America Journal**, v.76, p.475-484, 2012. doi:10.2136/sssaj2011.0110

Medina, C. Neves, C. S. V. J. Aita, C. Bordin, I. Preti, E. Zaccheo, P. V. C. Aguiar, R. S. Urquiaga, S. Aporte de matéria seca por raízes e parte aérea de plantas de cobertura de verão. **Semina: ciências Agrárias**, v.34, n.2, 675-682, 2013. doi: 10.5433/1679-0359.2013v34n2p675

Palma, R.M.; Arrigo, N.M.; Saubidet, M.I.; Conti, M.E. Chemical and biochemical properties as potential indicators of disturbances. **Biology Fertility Soils**, v. 32, p. 381-384, 2000.

R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. <https://www.R-project.org/>.

Raij, B. V.; Andrade, J. C.; Cantarella, H.; Quaggio, J. A. **Análise química para avaliação da fertilidade de solos tropicais**. Campinas, Instituto Agronômico, 2001. p. 284.

Reinert, D.J.; Albuquerque, J.A.; Reichert, J.M.; Aita, C.; Andrada, M.M.C. Limites críticos de densidade do solo para o crescimento de raízes de plantas de cobertura em Argissolo Vermelho. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.32, p.1805-1816, 2008. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-06832008000500002>

Rigon, J.P.G., Calonego, J.C. Soil carbon fluxes and balances of crop rotations under long-term no-till. **Carbon Balance Manage** 15, 19, 2020. <https://doi.org/10.1186/s13021-020-00154-3>

Sá, J. C. M.; Santos, J. B.; Lal, R.; Moraes, A.; Tivet, F.; Sá, M. F.; Briedis, C.; Ferreira, A. O.; Eurich, G.; Farias, A.; Friedrich, T. Soil-Specific Inventories of Landscape Carbon and Nitrogen Stocks under No-till and Native Vegetation to Estimate Carbon Offset in a Subtropical Ecosystem. **Soil Science Society of America Journal**, v.77, p. 2094 - 2110, 2013. doi:10.2136/sssaj2013.01.0007

Santos, H. G.; Jacomine, P.K.T.; Anjos, L. H. C.; Oliveira, V. A.; Lumbreiras, J. F.; Coelho, M.R.; Almeida, J. A.; Cunha, T. J. F.; Oliveira, J. B. **Sistema Brasileiro de Classificação de Solos**. Empresa brasileira de pesquisa agropecuária-EMBRAPA. 3 ed. 353p, 2013. Brasília.

Seben Junior, G. F.; Cora, J. E.; Lal, R. Soil aggregation according to the dynamics of carbon and nitrogen in soil under different cropping systems. **Pesq. agropec. bras.**, v. 51, n. 9, p. 1652-1659. 2016. doi.org/10.1590/s0100-204x2016000900065

Seben Junior, G. F.; Corá, J. E.; Lal, R. The effects of land use and soil management on the physical properties of an oxisol in Southeast Brazil. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.38, n.4, p.1245-1255, 2014. doi:10.1590/S0100-06832014000400021

Urquiaga, S. Jantalia, C.P. Zotarelli, L. Alves, B.J.R, Boddey, R.M. **Manejo de sistemas agrícolas para o sequestro de carbono no solo**. In: Aquino A.M.; Assis, R.L, organizadores. Conhecimentos e técnicas avançadas para o estudo dos processos da biota no sistema solo-planta. Brasília, DF: Embrapa; 2005. p.257-273.

Zhang, W.; Gregory, A. S.; Whalley, W. R.; Ren, T. Gao, W. Characteristics of soil organic matter within an erosional landscape under agriculture in Northeast China: stock, source, and thermal stability. **Soil & Tillage Research** 209, 104927, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.still.2020.104927>

### **CAPÍTULO 3 – Carbono e Glomalina em diferentes tamanhos de agregados em solos sob semeadura direta de longa duração**

Henildo de Sousa Pereira<sup>a</sup>; José Eduardo Corá<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Universidade Estadual Paulista - UNESP, Câmpus de Jaboticabal, Via de Acesso Prof. Paulo Donato Castellane, s/n. Jaboticabal, SP, 14884-900, Brasil.

**Resumo** - O sistema de semeadura direta (SSD) contribui para o aumento do carbono no solo (CS) e, conseqüentemente, melhorando sua qualidade, sendo a agregação do solo e a glomalina produzida pelos FMAs atributos influenciados pelas práticas de manejo adotadas. O presente trabalho tem como objetivo avaliar o diâmetro médio ponderado dos agregados do solo em água, carbono total, glomalina total (GT) e facilmente extraível (GFE) em três tamanhos de agregados em solos submetido ao sistema de semeadura direta por 20 anos com diferentes seqüências de culturas. O delineamento estatístico foi em faixas com três repetições. Os tratamentos foram constituídos de três seqüências de culturas de verão: monocultura de milho (MM), monocultura de soja (SS) e rotação soja/milho (SM) com cultivos intercalados de soja e milho ano a ano; e duas culturas de entressafra: sorgo granífero e crotalária, totalizando seis tratamentos. Adicionalmente, dois tratamentos foram utilizados para comparação com o SSD, sendo sistema de preparo convencional do solo (aração e gradagem) e vegetação nativa. Foram determinados os teores de CT, proteína do solo relacionada a glomalina em duas frações: (GT) e (GFE) em três tamanhos de agregados >2,0, 2,0-0,5 e <0,5 - 0,125 mm. O cultivo de milho no verão aumenta os teores de glomalina nos agregados do solo; o cultivo de leguminosas no verão e inverno reduz a GFE, a GT está diretamente relacionada com o DMP.

**Palavras-chave:** Estabilidade de agregados, matéria orgânica, rotação de culturas

## Introdução

O solo é um dos recursos naturais mais importantes na produção agrícola, e funciona como reservatório de carbono, desde que manejado de forma adequada. Entretanto, quando inadequadamente manejado, pode se tornar um emissor de gases de efeito estufa (GEE), entre eles o dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>). Dessa forma, com o objetivo de aumentar o carbono total (CT) do solo e, conseqüentemente reduzir a emissão de GEE, práticas conservacionistas de uso e manejo do solo podem ser adotadas (Sá et al., 2013).

A principal delas é o sistema de semeadura direta (SSD), também conhecido como sistema de plantio direto (SPD), o qual tem por característica a permanente cobertura do solo com plantas ou resíduos vegetais, rotação de culturas e o mínimo revolvimento do solo, conferindo assim, uma melhor estrutura de solo.

A estrutura do solo tem como base de formação os agregados, sendo que estes são formados pela interação dos minerais, cátions, matéria orgânica, microrganismos e raízes (Castro Filho et al., 1998), em uma primeira etapa ocorre a formação dos microagregados (<0,25 mm) por meio da interação de partículas minerais, moléculas orgânicas e cátions polivalentes (Edwards e Bremner, 1967), na segunda etapa ocorre a formação dos macroagregados (> 0,25 mm), sendo formado através da união dos microagregados, mediada principalmente pelas hifas de fungos rizosféricos (Tisdall e Oades, 1982), atuando como uma espécie de cola.

Dessa forma, observa-se que além das características texturais do solo, outros fatores como microrganismos, incluindo fungos micorrízicos arbusculares (FMAs), também influenciam a formação desses agregados. Tais microrganismos produzem uma glicoproteína de natureza hidrofóbica denominada glomalina (Wright e Upadhyaya, 1996), a qual atua como ligante orgânico das partículas do solo, indicando relação entre formação e/ou estabilização de agregados no solo e teor de carbono (C) do solo (Fokom et al., 2012).

Entretanto, em estudo visando avaliação da influência dos teores de glomalina na agregação do solo, após dez anos de implantação do SSD, não foi observada correlação entre teores de glomalina e agregação do solo (Truber, 2013), o que implica em estudos mais detalhados sobre a influência da glomalina na agregação do solo.

Segundo Sousa et al. (2012), a quantidade de glomalina, produzida pelos FMAs é influenciada pelo uso e manejo do solo, evidentemente, as espécies de plantas interferem na produção dessa substância. No entanto, são escassas informações na literatura referentes a relação de causa/efeito entre teor de glomalina no solo, formação de agregados e estoque de C no solo (Wang et al., 2017). Logo, este assunto requer estudos mais aprofundados a fim de que o potencial de agregação da glomalina seja mais detalhado.

A maior parte das transformações que ocorrem no solo são mediadas por microrganismos, dessa forma sempre está ocorrendo mudanças no solo, seja em menor ou maior velocidade, sendo essas mudanças influenciadas pelas práticas de manejos. Avaliar agregação do solo é um dos parâmetros que permite observar se o sistema adotado está melhorando a qualidade estrutural do solo, um dos parâmetros mais utilizados é o diâmetro médio ponderado (DMP).

Alguns trabalhos observaram correlação entre agregados do solo e estoque de carbono (Seben Junior, 2016; Hontoria et al., 2016). No entanto, é fundamental trabalhos que avaliam qual o tamanho de agregados no solo mais contribui para o sequestro do C, bem como definir os fatores que estão envolvidos e que possibilitam maior acúmulo de C nesses tamanhos de agregados do solo. Visto que os agregados protegem fisicamente o C da mineralização, tornando-os em reservatórios de carbono, sendo os microagregados responsáveis pelo estoque do C mais estável (Six et al., 2004).

Portanto, a hipótese do trabalho é de que as sequências de culturas influenciam a agregação do solo, os teores de carbono e glomalina nos agregados do solo.

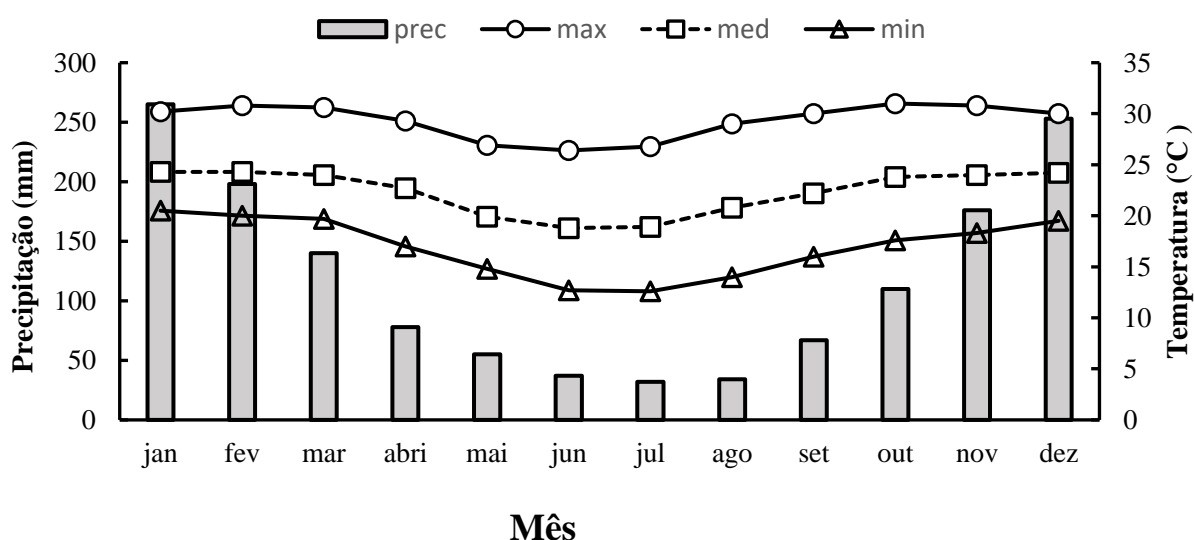
O objetivo deste trabalho foi avaliar a estabilidade de agregados do solo em água, e o teor de carbono e glomalina em diferentes tamanhos de agregados do solo em SSD sob diferentes sequências de culturas.

## **Material e métodos**

O experimento localiza-se próximo às coordenadas 48° 18' 58" W e 21° 15' 22" S na região sudeste do Brasil, e vem sendo conduzido sob SSD desde 2000. Anteriormente a instalação do experimento, a área era utilizada para produção de soja e milho em sistema de preparo convencional do solo por, pelo menos, 30 anos. O solo

foi caracterizado como um Latossolo Vermelho eutrófico (Santos et al., 2013), textura argilosa, com teores de argila de  $565 \text{ g kg}^{-1}$ , silte de  $65 \text{ g kg}^{-1}$  e  $370 \text{ g kg}^{-1}$  de areia.

Antes da instalação do experimento foram determinados os atributos químicos do solo da camada arável (0,0 a 0,20 m) de acordo com Raij et al. (2001), sendo: pH (CaCl<sub>2</sub>) = 5,0; teor de matéria orgânica =  $19 \text{ g dm}^{-3}$ ; P (resina) =  $13 \text{ mg dm}^{-3}$ ; K = 4,1; Ca = 15; Mg = 9; H + Al = 34 e CTC =  $62,1 \text{ mmol}_c \text{ dm}^{-3}$  e 45% de saturação por bases. O clima da região é Aw, segundo a classificação de Köppen, com precipitação média anual de 1.425 mm, concentrada entre os meses de outubro a março. A temperatura média anual e a umidade relativa do ar são 22°C e 70%, respectivamente.



**Figura 1.** Médias mensais da precipitação e temperatura na área do experimento (1971-2019).

Antes da instalação do experimento (ano agrícola 1999/2000), foram realizadas operações de subsolagem a 0,40 m de profundidade e calagem em área total para elevação da saturação por bases do solo para 70%. A incorporação do calcário com PRNT de 100%, aplicado na dose de  $1,5 \text{ Mg ha}^{-1}$ , foi realizada por meio de operações de aração e gradagem.

O delineamento estatístico utilizado foi em faixas com três repetições. Os tratamentos foram compostos pela combinação de três sequências de culturas de

verão e duas culturas de entressafra, totalizando seis parcelas por bloco experimental. As sequências de culturas de verão foram: monocultura de milho (*Zea mays* L.) (MM); monocultura de soja (*Glycine max* L. Merrill) (SS); e rotação soja-milho (SM), com cultivos intercalados de soja e milho ano a ano. As culturas de entressafra foram: sorgo granífero (*Sorghum bicolor* (L.) Moench), crotalária (*Crotalaria juncea* L.), semeadas em fevereiro-março, repetindo-se a cada ano agrícola a mesma cultura de entressafra na mesma parcela. Cada parcela correspondeu a uma área de 200 m<sup>2</sup> (20 m x 10 m). Adicionalmente, duas áreas foram utilizadas para comparação com o SSD: área com sistema de preparo convencional do solo (SC) (aração e gradagem) e uma área com vegetação nativa (VN), ambas contíguas à área experimental.

A implantação das culturas de verão foi feita sempre que precipitação pluviométrica acumulada atingisse no mínimo 50 mm. As recomendações das adubações de semeadura das culturas de verão, foram realizadas com base nos resultados das análises químicas do solo, mais detalhes podem ser encontrados em Marcelo et al. (2009).

Determinou-se a estabilidade dos agregados em água pelo método do peneiramento úmido (Nimmo e Perkins, 2002). Para isso, blocos de terra (0,20 x 0,20 x 0,05 m, comprimento x largura x altura) foram coletados na camada de 0,0-0,05 m, com auxílio de enxadão, em cinco pontos de cada parcela. Após a coleta, os blocos de solo foram cuidadosamente destorroados, de forma manual, em seus pontos naturais de fraqueza, e expostos para secar à sombra. Em seguida, o material foi passado em peneira de 6,30 mm e retido em peneira de 4,00 mm, visando obter agregados com diâmetro médio entre 6,30 e 4,00 mm. Utilizando os agregados com diâmetro entre 6,30 e 4,00 mm, foi determinada a estabilidade dos agregados em água, utilizando jogo de peneiras de 4,0; 2,0; 1,0; 0,50; 0,25; 0,125 mm.

Após o peneiramento úmido, o material foi seco em estufa a 45 °C até peso constante, a partir da massa de material de solo retidas em cada peneira, e sua respectiva umidade ao qual foi submetida ao peneiramento úmido, foi calculado o diâmetro médio ponderado (DMP) de acordo com a (equação 1).

$$DMP = \sum_{i=1}^n (X_i \cdot W_i)$$

**Equação (1).**

Sendo:  $W_i$  = massa (g) dos agregados retida em cada classe de peneiras;  $X_i$  = diâmetro médio (mm) das classes.

Foram determinados os teores de CT, proteína do solo relacionada a glomalina em duas frações: glomalina total (GT) e facilmente extraível (GFE) em três tamanhos de agregados, para isso os agregados que ficaram nas peneiras do peneiramento úmido foram agrupados em agregados  $>2,0$ ,  $2,0-0,5$  e  $<0,5 - 0,125$  mm. Todos os tamanhos de agregados foram passados em peneira de 2,0 mm afim de padronizar o tamanho do material analisado.

O teor de C nos agregados do solo foi determinado por combustão a seco, utilizando-se o equipamento LECO TruMac CNS (Leco Corp., St. Joseph, MI, EUA).

A glomalina dos agregados do solo foi quantificada conforme descrito por Wright e Upadhyaya (1996) em duas frações, glomalina facilmente extraível (GFE) e glomalina total (GT), essas frações foram diferentes na forma de extração, no qual a glomalina facilmente extraível foi obtida a partir da extração em autoclave, a partir de 1,0 g de solo e 8 ml de solução citrato de sódio 20 mM, pH 7,4, a uma temperatura de 121 °C por 30 min, enquanto a glomalina total foi extraída a partir de 1,0 g de solo e 8 ml de citrato de sódio 50 mM, com pH 8,0 a 121 °C, por 60 min, sendo que para a extração da glomalina total foram repetidos os ciclos de autoclavagem de 60 min até que a amostra apresentasse uma coloração amarelo-clara (necessitando de 4 a 9 ciclos, dependendo da amostra).

Para ambas as frações de glomalina, após a autoclavagem foram realizadas centrifugações a 5000 g por 15 min, posteriormente o sobrenadante foi removido para realizar a quantificação da proteína seguindo o método Bradford (1976) modificado por Wright et al. (1996), usando como padrão albumina de soro bovino e a leitura feita em espectrofotômetro a 595 nm. As concentrações da glomalina, para ambas as frações, foram corrigidas para  $\text{mg g}^{-1}$  de solo, considerando-se o volume total de sobrenadante e o peso de solo seco.

Os dados foram submetidos à análise de variância e, quando foram detectadas diferenças significativas entre tratamentos, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade, utilizando o ExpDes.pt do programa R (R Core Team, 2020).

## Resultados

O solo sob vegetação nativa (VN) apresentou maiores valores de CT: 54,2; 33,6 e 19,5, GT: 12,6; 15,2 e 8,9 e GFE: 1,1; 1,0 e 0,5 g kg<sup>-1</sup> de solo nos agregados >2,0; 2,0 - 0,5 e 0,5 - 0,125 mm, respectivamente, quando comparado ao sistema de preparo convencional CT: 13,0; 12,2 e 5,6, GT: 1,4; 4,6 e 4,25 g kg<sup>-1</sup>, GFE: 0,94; 0,52 e 0,16 de solo nos tamanhos de agregados >2,0; 2,0 - 0,5 e 0,5 - 0,125 mm, respectivamente.

Dessa forma, pode se observar que os valores obtidos no solo sob SSD são maiores do que os valores encontrados em solo sob cultivo convencional, porém inferior ao valor observado no solo sob VN (Tabela 1).

Maiores teores de CT nos agregados > 2,0 mm e 0,5 - 0,125 mm foram observados quando cultivou crotalária, já nos agregados entre 2,0 - 0,5 mm não se observou diferença (Tabela 1). O maior teor de CT em agregados entre 0,5 - 0,125 mm foi observado em área cultivada com monocultura de soja em relação a rotação soja/milho (Tabela 1).

**Tabela 1.** Resultados da análise de variância (Teste F) para carbono total (CT) em diferentes tamanhos de agregados do solo (>2,0; 2,0 - 0,5; 0,5 - 0,125 mm), obtidos por meio do peneiramento úmido de solo (camada 0,0 – 0,05 m) sob diferentes coberturas vegetais em sistema de semeadura direta.

	----- g kg <sup>-1</sup> de solo -----			
<b>Verão</b>	<b>&gt;2</b>	<b>2 - 0,5</b>	<b>0,5 - 0,125</b>	<b>Solo total</b>
SS	18,7	15,9	10,4 a	13,32
MM	22,5	19,5	9,6 ab	13,84
SM	19,0	16,2	8,6 b	13,46
<i>Teste F</i>	<i>4,01ns</i>	<i>1,46ns</i>	<i>10,53*</i>	<i>0,07ns</i>
<b>Inverno</b>				
Sorgo	18,9 b	17,9	9,3 b	13,34
Crotalária	21,2 a	16,5	9,8 a	13,74
<i>Teste F</i>	<i>9,60**</i>	<i>2,74ns</i>	<i>9,28**</i>	<i>0,14ns</i>
<i>Ver x Inv</i>	<i>2,44ns</i>	<i>2,77ns</i>	<i>0,30</i>	<i>0,01ns</i>
CV	13,05	23,0	7,16	17,30
CV	8,06	10,6	3,30	16,74
CV	17,02	12,4	5,76	8,64

Ns: não significativo; \*: significativo a 5%; \*\*: significativo a 1% pelo teste F. Médias seguidas por letras distintas diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Houve interação significativa para os teores de GFE nos agregados >2,0 mm, já nos agregados 2,0 - 0,5 mm, a monocultura de soja apresentou os menores valores, enquanto nos agregados 0,5 - 0,125 mm o maior valor foi observado na monocultura de milho, e o menor valor na rotação soja/milho (Tabela 2).

O maior valor de GT nos agregados do solo >2,0 mm foi observado em parcelas cultivadas com milho/milho em relação ao cultivo de soja/soja (Tabela 2). Maiores valores de DMP dos agregados do solo foram observados nas parcelas cultivadas com milho/milho (Tabela 2).

**Tabela 2.** Resultados da análise de variância (Teste F) para proteína do solo relacionada a glomalina total (GT) e facilmente extraível (GFE) em diferentes tamanhos de agregados de solo, e diâmetro médio ponderado (DMP) na camada 0,0 – 0,05 m sob diferentes sequências de culturas em sistema de semeadura direta.

Verão	----- GFE g kg <sup>-1</sup> -----			----- GT g kg <sup>-1</sup> -----			--- DMP ---
	>2	2-0,5	0,5-0,125	>2	2-0,5	0,5-0,125	mm
SS	0,469	0,648 b	0,560 ab	1,77 b	6,41	5,52	3,51 b
MM	0,742	0,769 a	0,609 a	2,92 a	6,87	5,84	3,92 a
SM	0,725	0,736 a	0,486 b	2,55 ab	7,48	4,84	3,58 b
<i>Teste F</i>	<i>4,42**</i>	<i>11,82**</i>	<i>5,12*</i>	<i>6,49**</i>	<i>0,53 ns</i>	<i>0,63ns</i>	<i>7,34 **</i>
<b>Inverno</b>							
Sorgo	0,637	0,705	0,557	2,36	7,03	5,48	3,73
Crotalaria	0,656	0,730	0,546	2,46	6,82	5,33	3,61
<i>Teste F</i>	<i>0,06ns</i>	<i>0,22ns</i>	<i>0,22ns</i>	<i>0,14ns</i>	<i>0,77ns</i>	<i>1,24ns</i>	<i>1,10ns</i>
<i>Ver x Inv</i>	<i>13,74**</i>	<i>1,03ns</i>	<i>0,594ns</i>	<i>2,79ns</i>	<i>3,71ns</i>	<i>0,39ns</i>	<i>1,09ns</i>
CV	27,82	6,19	12,16	23,35	25,90	28,87	5,38
CV	25,24	15,25	9,22	23,34	7,26	5,26	6,36
CV	10,92	14,46	9,53	17,99	6,36	5,55	9,38

Ns: não significativa; \*: significativo a 5%; \*\*: significativo a 1% pelo teste F. Médias seguidas por letras distintas diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Para interação, letras maiúsculas na linha e minúsculas na coluna.

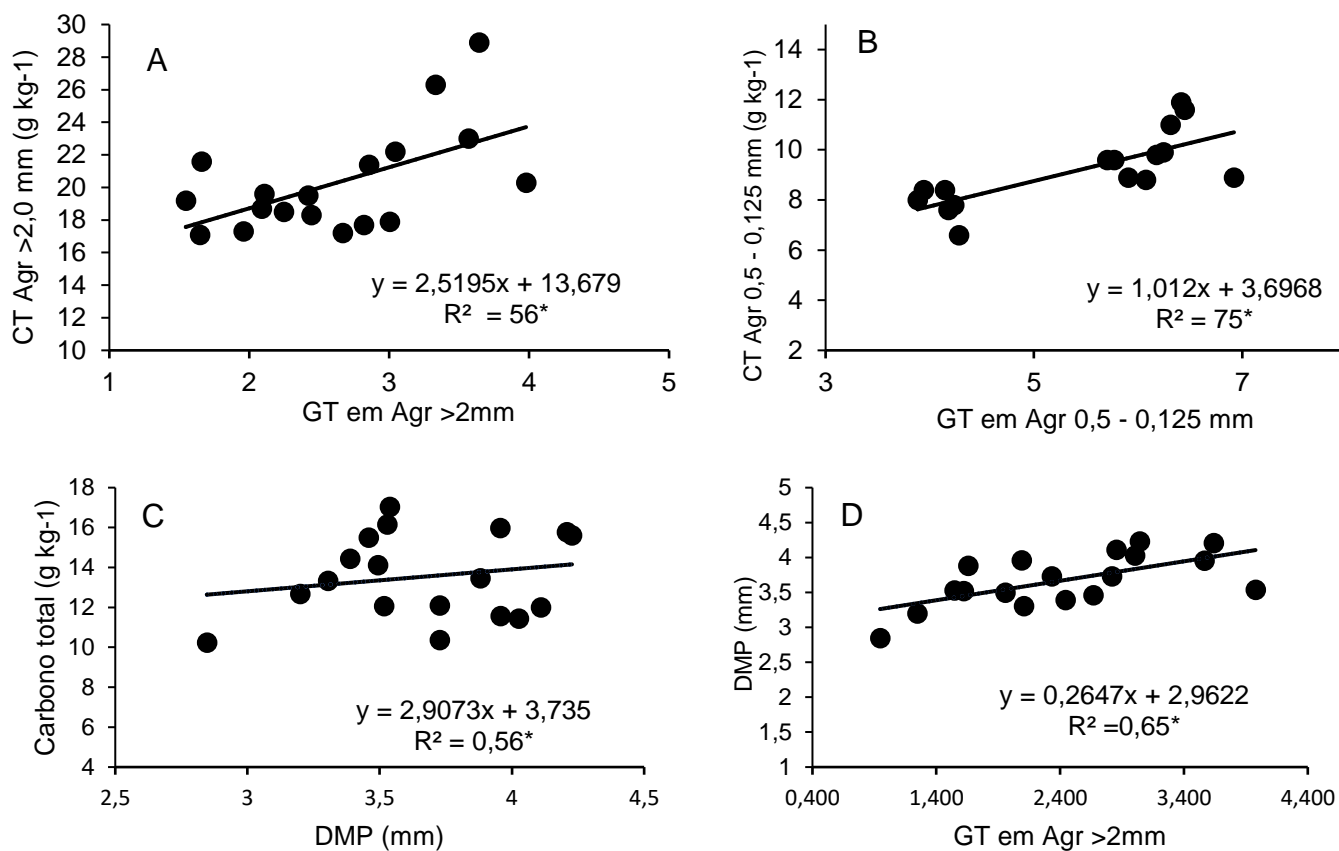
**Tabela 3.** Proteína do solo relacionada a glomalina facilmente extraível (GFE) em agregados > 2,0 mm obtido por meio do peneiramento úmido de solo na camada de 0,0-0,05 m sob diferentes coberturas vegetais em sistema de semeadura direta.

<b>Verão</b>	<b>Inverno</b>	
	----- GFE g kg <sup>-1</sup> de agregado -----	
	<b>Sorgo</b>	<b>Crotalária</b>
SS	0,581 A	0,356 Bb
MM	0,659	0,835 a
SM	0,671	0,778 a

Médias seguidas por letras distintas diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Letras maiúsculas na linha e minúsculas na coluna.

Observou-se menor valor de GFE nos agregados >2,0 mm quando o solo foi cultivado com soja/soja no verão e crotalária no inverno (Tabela 3).

O CT em agregados > 2,0 mm correlacionou-se de forma positiva ( $r=0,56$ ) com teor de GT nos agregados > 2,0 mm (Figura 2a), o CT nos agregados 0,50 – 0,125 mm apresentou correlação positiva com a GT em agregados 0,50 - 0,125 mm e ( $r=0,75$ ) (Figura 2b). Houve correlação positiva para CT do solo e DMP (Figura 2c), e DMP e GT em agregados > 2,0 mm (Figura 2d).



**Figura 2.** Análise de regressão entre: a) Carbono total em agregados > 2,0 mm e glomalina total em agregados >2,0 mm; b) carbono total em agregados 0,5 – 0,125 mm e glomalina total em agregados 0,5 – 0,125 mm; c) carbono total do solo e diâmetro médio ponderado DMP; d) Diâmetro médio ponderado e glomalina total em agregados > 2,0 mm.

## Discussão

As diferentes sequências de cultivo não alteraram o teor de CT no solo na camada de 0,0 – 0,05 m após 20 anos de cultivo em SSD, isso pode ser explicado pelo fato das altas quantidades de resíduos depositados na superfície do solo ao longo dos anos, favorecer a camada superficial do solo, pois nessa parte ocorre maior atividade de microrganismo, que por sua vez ao longo dos anos estabiliza o CT do solo nessa camada (Lima Filho et al., 2014).

Por outro lado, os teores de CT dos agregados foram influenciados pelas culturas de verão e inverno, isso demonstra que as plantas cultivadas estão influenciando o CT nos agregados. O teor de C na glomalina pode ser responsável por até 3% do CT no solo (Lovelock et al., 2004), e como no presente estudo o teor de glomalina nos agregados são maiores que no solo total, isso pode explicar essa diferença observada apenas no CT dos agregados em relação ao CT do solo.

Os maiores teores de CT nos agregados do solo quando este foi cultivado com crotalária em relação ao cultivo de sorgo, se dá pela menor relação C:N dos resíduos da crotalária, que por sua vez favorecem a ação dos microrganismos (Urquiaga et al., 2005). Isso fica evidente quando se observa que o CT nos agregados do solo cultivado no sistema convencional foi menor, que dos solos cultivados em SSD.

O sistema de preparo convencional (SC) apresentou DMP de 2,1 mm, e foi considerado como uma condição inicial do SSD, assim, todas as combinações de cultivo no SSD apresentaram valores de DMP maiores do que o SC. Os maiores valores de DMP quando foi cultivado com milho/milho no verão já foram reportados em trabalhos realizados na mesma área do presente estudo (Martins et al., 2012; Seben Junior et al., 2016). O qual atribuíram maior DMP quando cultivou milho, aos maiores teores de polissacarídeos, pentoses (xilose) que são liberadas pelas gramíneas em relação as leguminosas.

No presente trabalho é possível atribuir o maior DMP em parcelas cultivadas com milho/milho, ao efeito das diferentes frações da glomalina, uma vez que se observou maior valor de glomalina em parcelas cultivadas com milho. Isso evidencia a importância da glomalina na agregação do solo, como já reportado na literatura (Fokom et al., 2012, He et al., 2020).

Os maiores teores de glomalina nos agregados quando foi cultivado milho, somado ao fato das gramíneas apresentarem raízes mais abundantes em relação as leguminosas, o que aumenta a área de contato da raiz com o solo, explica os maiores valores de DMP encontrados em parcelas que tiveram cultivo de milho. Uma vez que raízes mais finas e em grande quantidade podem ajudar a formar uma teia e facilitar a agregação do solo. Dessa forma, esse trabalho se soma aos trabalhos de Martins et al. (2012) e Seben Junior et al. (2016), a fim de compreender os fatores que contribuem para uma melhor agregação do solo.

Desdobrando a interação para GFE em agregados > 2,00 mm (Tabela 3), pode se observar que após 20 anos cultivando apenas leguminosas (soja/soja no verão e crotalária no inverno), houve menor valor de GFE em relação a parcelas que tiveram gramínea seja no verão ou no inverno. Isso reforça a importância da gramínea dentro do sistema de cultivo, a fim de aumentar a agregação do solo. Esta melhora na agregação do solo representa maior capacidade de infiltração de água no solo reduzindo o escoamento superficial e aumentando a retenção de água no solo (Castro Filho et al., 1998). Maiores valores de GFE encontradas em agregados maiores, sugere que os macroagregados estão estabilizados pela ação do emaranhado de raízes finas e hifas, pois essas são responsáveis pela liberação da glomalina (Xie et al., 2015).

A GFE foi mais sensível para detectar diferenças entre os tratamentos, uma vez que apresentou diferença nos três tamanhos de agregados, enquanto a GT apresentou diferença apenas no agregado > 2,0 mm. Isso ocorreu possivelmente devido a GFE representar a fração da glomalina produzida mais recentemente, tendo assim maior influência quanto as plantas cultivadas. Por outro lado, a GT representa a fração mais estável da glomalina, responsável por formar macroagregado a partir da junção de microagregados. Ambas as frações de glomalina indicam que o cultivo de milho no verão favorece a produção dessa proteína.

A correlação positiva entre o CT e GT em agregados > 2,0 mm e correlação entre CT e GT em agregados 0,5 – 0,125 mm, mostram que a GT nessas frações apresenta efeito positivo para aumento do EC no solo. Fato este que demonstra a importância de cultivar espécies de plantas que estimule a produção de glomalina no solo. Maior produção de glomalina irá favorecer a agregação do solo, como já reportado no presente trabalho e conseqüentemente aumenta o EC no solo, pois o carbono fica retido dentro dos microagregados dificultando a sua degradação, dessa forma o CT fica preservado no solo por longo tempo (Six et al., 2004).

Após uma revisão de literatura sobre a contribuição da glomalina para a qualidade do solo Hossain (2021), indica que a glomalina do solo é apontada como um importante atributo de solo para melhor entender a dinâmica dos agregados no solo e do C no solo, contribuindo para mitigar as mudanças climáticas.

Os valores de GT e GFE encontrados no SSD foram menores do que os observado em solos de VN, indicando um decréscimo na qualidade do solo quando colocado em sistemas de cultivo, corroborando com Wang et al. (2015), no entanto, os teores de GT e GFE foram maiores no SSD em relação ao SC, ou seja, o SSD está aumentando esse importante atributo para qualidade do solo, isso reflete em maiores teores de CT no solo, como foi observado no presente estudo.

A forte correlação entre GT em agregados > 2,0 mm e DMP, permite inferir que a glomalina está funcionando como agente cimentante dos microagregados, uma vez que já é consenso que uma das principais funções da glomalina é fazer esse arranjo dos agregados.

## Conclusão

O cultivo de milho no verão aumenta os teores de glomalina nos agregados do solo; o cultivo de leguminosas no verão e inverno reduz a GFE; os macroagregados tem maior teor de C e que a GT está diretamente relacionada com o DMP.

## Referências

Bradford, M. M. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v. 72, p. 248-254, 1976

Castro Filho, C.; Muzilli, O; Podanoschi, A.L. Estabilidade dos agregados e sua relação com o teor de carbono orgânico num Latossolo Roxo distrófico, em função de sistemas de plantio, rotações de culturas e métodos de preparo de amostras. **R. Bras. Ci. Solo**, 22:527- 538, 1998.

Edwards, A.P.; Bremner, J.M. Dispersion of soil particles by sonic vibration. **Journal of Soil Science**, 18:47-63, 1967.

Fokom, R.; Adamou, S.; Teugwa, M. C.; Boyogueno, A. D. B.; Nana, W. L.; Ngonkeu, M. E. L.; Tchameni, N. S.; Nwaga, D.; Ndzomo, G. T.; Zollo, P. H. A. Glomalin related soil protein, carbon, nitrogen and 98 soil aggregate stability as affected by land use variation in the humid forest zone of south Cameroon. **Soil Tillage Research**, v. 120, p. 69-75, 2012. doi:10.1016/j.still.2011.11.004

He, J.D.; Chi, G.G; Zou, Y. N; Shu, B; Wu, Q. S; Srivastava, A.K; Kuča, K. Contribution of glomalin-related soil proteins to soil organic carbon in trifoliolate Orange. **Applied Soil Ecology**, v. 154, 103592, 2020. doi.org/10.1016/j.apsoil.2020.103592

Hontoria, C.; Gómez-Paccard, C.; Mariscal-Sancho, I.; Benito, M.; Pérez, J.; Espejo, R. Aggregate size distribution and associated organic C and N under different tillage systems and Ca-amendment in a degraded Ultisol. **Soil and Tillage Research**, v.160, p.42-52, 2016.

Hossain, M. B. Glomalin and Contribution of Glomalin to Carbon Sequestration in Soil: A Review. **Turkish Journal of Agriculture**, 9(1): 191-196, 2021. doi: https://doi.org/10.24925/turjaf.v9i1.191-196.3803

Lima Filho, O. F, Ambrosano E.J, Rossi, F. Carlos, J.A.D. **Adubação verde e plantas de cobertura no Brasil: fundamentos e prática**. Brasília, DF: Embrapa. v.1. 2014.

Lovelock, C. E.; Wright, S. F.; Clark, D. A.; Ruess, R. W. Soil stocks of glomalina produced by arbuscular mycorrhizal fungal across a tropical rain forest landscape. **Journal of Ecology**, v. 92, n. 2, p. 278- 287, 2004.

Marcelo, A.V.; Corá, J.E.; Fernandes, C.; Martins, M. R.; Jorge, R.F. Crop sequences in no-tillage system: effects on soil fertility and soybean, maize and rice yield. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.33, p.417-428, 2009. DOI: 10.1590/S0100-06832009000200019

Martins, M. R.; Angers, D. A.; Corá, J. E. Carbohydrate composition and water-stable aggregation of an Oxisol as affected by crop sequence under no-till. **Soil Science Society of America Journal**, v.76, p.475-484, 2012. doi:10.2136/sssaj2011.0110

Nimmo, J. R.; Perkins, K. S. Aggregate stability and size distribution. In: Dane, J. H.; Topp, G. C. (Eds.). *Methods of soil analysis: physical methods*. **Soil Science Society of America**, 2002. p. 317-328.

R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. <https://www.R-project.org/>.

Raij, B. V.; Andrade, J. C.; Cantarella, H.; Quaggio, J. A. **Análise química para avaliação da fertilidade de solos tropicais**. Campinas, Instituto Agrônômico, 2001. p. 284.

Sá, J. C. M.; Santos, J. B.; Lal, R.; Moraes, A.; Tivet, F.; Sá, M. F.; Briedis, C.; Ferreira, A. O.; Eurich, G.; Farias, A.; Friedrich, T. Soil-Specific Inventories of Landscape Carbon and Nitrogen Stocks under No-till and Native Vegetation to Estimate Carbon Offset in a Subtropical Ecosystem. **Soil Science Society of America Journal**, v.77, p. 2094 - 2110, 2013. doi:10.2136/sssaj2013.01.0007

Santos, H. G.; Jacomine, P.K.T.; Anjos, L. H. C.; Oliveira, V. A.; Lumberras, J. F.; Coelho, M.R.; Almeida, J. A.; Cunha, T. J. F.; Oliveira, J. B. **Sistema Brasileiro de Classificação de Solos**. Empresa brasileira de pesquisa agropecuária-EMBRAPA. 3 ed. 353p, 2013. Brasília.

Seben Junior, G. F.; Cora, J. E.; Lal, R. Soil aggregation according to the dynamics of carbon and nitrogen in soil under different cropping systems. **Pesq. agropec. bras.**, v. 51, n. 9, p. 1652-1659. 2016. doi.org/10.1590/s0100-204x2016000900065

Six, J.; Bossuyt, H.; Gryze, S. & Denef, K. A history of research on the link between (micro) aggregates, soil biota, and soil organic matter dynamics. **Soil and Tillage Research**, v.79, p.7-31, 2004.

Sousa, C. S.; Menezes, R. S. C.; Sampaio, E. V. S. B.; Lima, F. S. L. Glomalina: Características, produção, limitações e contribuição nos solos. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 3, n. 1, p. 3033-3044, 2012. doi:10.5433/1679- 0359.2012v33Supl1p3033

Tisdall, J.M.; Oades, J.M. Organic matter and water- stable aggregates in soil. **Journal of Soil Science**, v.33, p.141-163, 1982.

Truber, P. V. **Agregação do solo e ocorrência de fungos micorrízicos arbusculares em sistemas de rotação de culturas**. 2013. 75 f. Dissertação (Mestrado em Solos) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal.

Urquiaga, S. Jantalia, C.P. Zotarelli, L. Alves, B.J.R, Boddey, R.M. **Manejo de sistemas agrícolas para o sequestro de carbono no solo**. In: Aquino A.M.; Assis, R.L, organizadores. **Conhecimentos e técnicas avançadas para o estudo dos processos da biota no sistema solo-planta**. Brasília, DF: Embrapa; 2005. p.257-273.

Wang, Y.; Hu, N.; Ge, T.; Kuzyakov, Y.; Wang, Z. L.; Li, Z.; Tang, Z.; Chen, Y.; Wu, C.; Lou, Y. Soil aggregation regulates distributions of carbon, microbial community and enzyme activities after 23-year manure amendment. **Applied Soil Ecology**, v. 111, p. 65–72, 2017. doi:10.1016/j.apsoil.2016.11.015

Wright, S.F.; Upadhyaya, A. Extraction of an abundant and unusual protein from soil and comparison with hyphal protein of arbuscular mycorrhizal fungi. **Soil Sci.**, 161:575-586, 1996.

Xie, H.; Li, J.; Wang, B. Z. L.; He, J. W. H.; Zhang, X. Long-term manure amendments reduced soil aggregate stability via redistribution of the glomalin-related soil protein in macroaggregates. **Scientific Reports**, v.5, p.14687, 2015.

## **CAPÍTULO 4 – Diversidade microbiana e atividade enzimática em solo sob semeadura direta de longa duração**

Henildo de Sousa Pereira<sup>a</sup>; José Eduardo Corá<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Universidade Estadual Paulista - UNESP, Câmpus de Jaboticabal, Via de Acesso Prof. Paulo Donato Castellane, s/n. Jaboticabal, SP, 14884-900, Brasil.

**Resumo** – Espécies de plantas que compõem o sistema de semeadura direta (SSD) podem alterar a diversidade de microrganismos e atividade enzimática do solo ao longo do tempo. Os microrganismos, por sua vez, controlam a maior parte dos processos que ocorrem no solo, que podem refletir na produtividade das culturas. O presente trabalho teve como objetivo avaliar o efeito de sequências de culturas na diversidade de fungo e bactéria e na atividade enzimática do solo. O experimento vem sendo conduzindo ao longo de 20 anos. O delineamento estatístico foi em faixas com três repetições. Os tratamentos foram constituídos de três sequências de culturas de verão: monocultura de milho (MM), monocultura de soja (SS) e rotação soja/milho (SM) com cultivos intercalados de soja e milho ano a ano; e duas culturas de entressafra: sorgo granífero e crotalária, totalizando seis tratamentos. Adicionalmente, dois tratamentos foram utilizados para comparação com o SSD, sendo sistema de preparo convencional do solo (aração e gradagem) e vegetação nativa. A diversidade dos microrganismos foi avaliada nas sequências: soja/soja no verão e crotalária no inverno; milho/milho no verão e sorgo no inverno e rotação soja/milho no verão e sorgo no inverno. Comunidades bacterianas foram avaliadas em cada amostra através da extração de DNA e sequenciamento da região V4-V5 do gene 16S rRNA, para bactéria e ITS para fungos. Conclui-se que a monocultura de soja no verão e crotalária no inverno, reduziu a diversidade de fungos e bactérias do solo, enquanto o cultivo de milho no verão e sorgo no inverno aumentou a diversidade fúngica do solo; rotação soja/milho aumenta a atividade enzimática do solo e a produtividade de milho e soja em SSD de longa duração, independente do teor de carbono.

**Palavras Chaves:** Cultura de cobertura, metagenômica, qualidade do solo

## Introdução

Os benefícios proporcionados pelo sistema de semeadura direta (SSD) ao solo, são mostrados por muitos trabalhos que avaliam seu efeito nos atributos do solo como: carbono, índice de agregados, porosidade, densidade do solo, entre outros atributos de solo (Lal, 2004; Lehmann e Kleber, 2015; Sá et al., 2017). No entanto, estudos que buscam estabelecer quais as melhores plantas de coberturas dentro do SSD, visando seu aperfeiçoamento para aumento do potencial produtivo do solo ainda são necessários.

A qualidade do solo, decorrente do efeito das espécies de plantas que compõem o SSD ao longo do tempo, deve ser avaliada de forma mais específica, haja vista que, os efeitos das espécies de plantas sobre os atributos físicos do solo são mais dificilmente detectados. Dessa forma, a avaliação da diversidade microbiana do solo pode ser uma maneira mais adequada de se entender o que pode estar associado à dinâmica do carbono no solo. Visto que os resíduos deixados na superfície do solo pelas culturas, nem sempre pode explicar a dinâmica do C no solo (Kallenbach et al., 2016).

Os resíduos vegetais proporcionam diferentes habitats, resultando em mudanças na diversidade microbiana do solo e na atividade enzimática do mesmo (Nivelle et al., 2016), as quais são reconhecidas por regular vários ciclos biogeoquímicos de carbono e também elementos químicos no solo (White e Rice, 2009). A estrutura da comunidade fúngica do solo foi diferente quando foi cultivado soja em monocultura em relação ao cultivo de soja rotacionada (Liu et al., 2019).

A diversidade microbiana do solo, proporcionada pelo habitat em decorrência da deposição de resíduos vegetais ao longo do tempo, resultará em novo equilíbrio dos teores de C do solo, podendo ou não atingir valores próximos daqueles de antes da intervenção antrópica (Nivelle et al., 2016). Da mesma maneira, uma vez alcançado o equilíbrio, a diversidade microbiana do solo regulará a taxa de decomposição dos resíduos vegetais depositados pelas culturas, evidenciando interdependência entre ambos os fatores.

Avaliando a decomposição de resíduos em SSD, Marcelo et al. (2012) observaram que a taxa de decomposição depende da sua relação C:N e que a taxa de liberação de nutrientes para o solo não é igual para todos os resíduos e/ou

nutrientes. Este fato implica em diferenças nos teores de nutrientes do solo. Diferentes teores de nutrientes e carbono no solo pode afetar diretamente o metabolismo da comunidade microbiana do solo, como observado por Martins et al. (2012), os quais encontraram diferentes teores de pentoses (arabinose e xilose) no solo, sob diferentes sequências de culturas em SSD, e concluíram que indicava haver diferença na comunidade microbiana do solo. Depreende-se do fato, portanto, a importância de se conhecer a diversidade microbiana do solo, visando compreender as alterações no estoque de carbono no solo.

Com estimativas de que apenas 1% dos microrganismos são cultiváveis (Streit e Schmitz, 2004), surgiram novas técnicas independentes de cultivo para avaliar a diversidade de microrganismos. No qual destaca-se a metagenômica, principalmente avaliando o sequenciamento do gene 16S rRNA para bactéria e ITS para fungos, permitindo identificar conjunto de microrganismos que estão presentes em cada ambiente avaliado (Oulas et al., 2015).

Os microrganismos do solo são fontes primárias de enzimas que atuam como mediadoras da ciclagem de nutrientes (Tabatabai, 1994), tornando assim, essencial avaliar a atividade dessas enzimas, visto que possuem elevada sensibilidade para diferenciar agrossistemas (Brennan e Acosta-Martinez, 2018), e podem auxiliar no entendimento das alterações no estoque de C do solo (Inagaki et al., 2016). Avaliando sistemas de plantas de cobertura, Hok et al. (2018) indicaram  $\beta$ -Glicosidase e arilsulfatase como bons indicadores de qualidade do solo, assim como Mendes et al. (2015) avaliando solos do cerrado.

Um grande número de trabalhos nos últimos 20 anos, indicam que as alterações na produtividade das culturas em SSD nem sempre são explicadas pelas análises químicas do solo, incluindo o CS, principalmente em condições em que essa mudança não é drástica (Mendes et al., 2020). Isso significa que solos quimicamente semelhantes podem resultar em plantas com diferentes produtividades, surgindo assim, a necessidade de avaliar atributos biológicos do solo, como atividade das enzimas  $\beta$ -glicosidase e arilsulfatase, indicadas como as mais eficazes para detectar as diferenças no solo (Mendes et al., 2020).

Trabalhos que abordam a influência de plantas de cobertura no estoque de C, atividade enzimática e diversidade de microrganismos do solo, são importantes para

melhor entendimento da dinâmica do C no solo, haja vista que, aproximadamente, 80 a 90% dos processos que ocorrem no solo são mediados por microrganismos, incluindo decomposição de matéria orgânica, transformações de compostos inorgânicos e formação e estabilização dos agregados do solo (Nannipieri e Badalucco, 2003).

Desta forma, partindo-se da análise de um experimento de longa duração, testou-se a hipótese de que a diversificação de culturas em SSD aumenta a atividade enzimática e a diversidade dos microrganismos do solo.

Assim, o objetivo do presente trabalho foi avaliar o efeito de sequências de culturas na diversidade dos microrganismos e atividade enzimática do solo, e avaliar se possuem relação de causa/efeito com a produtividade das culturas.

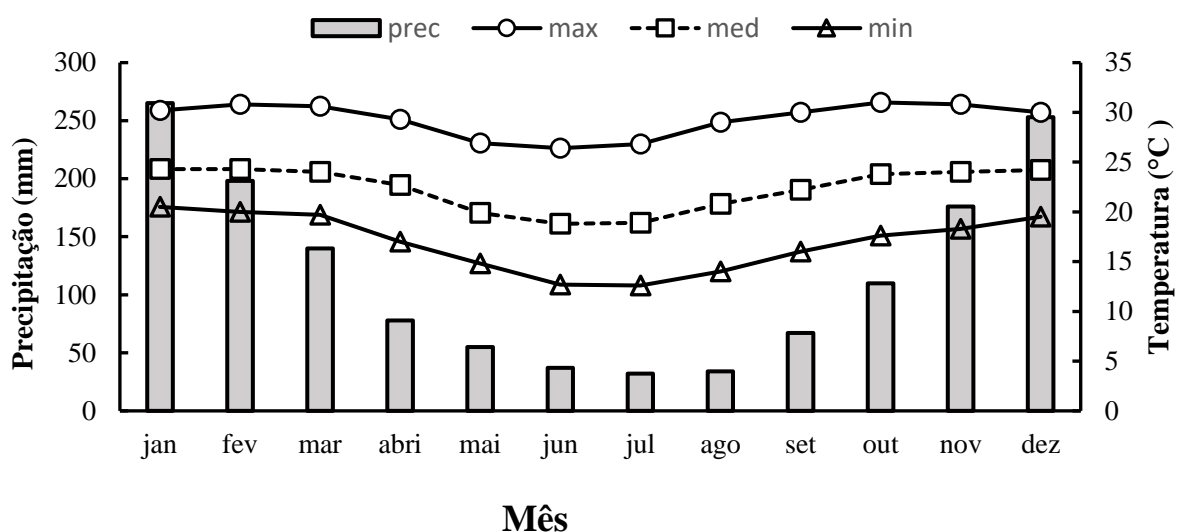
## **Material e Métodos**

Visando avaliar a influência de sequências de culturas na comunidade microbiana e na atividade enzimática do solo, o presente trabalho foi desenvolvido a partir de um experimento de longa duração (20 anos) sob SSD, de modo estabelecer relações de causa/efeito entre espécies de plantas que compõem o SSD e efeitos na diversidade dos microrganismos do solo, na atividade enzimática, no estoque de carbono e na produtividade de culturas.

O experimento localiza-se próximo as coordenadas (48° 18' 58" W e 21° 15' 22" S) na região sudeste do Brasil, e vem sendo conduzido sob SSD desde 2000. Anteriormente a instalação do experimento, a área era utilizada para produção de soja e milho em sistema de preparo convencional do solo por, pelo menos, 30 anos. O solo foi caracterizado como um Latossolo Vermelho eutrófico (Santos et al., 2013), textura argilosa, com teores de argila de 565 g kg<sup>-1</sup>, silte de 65 g kg<sup>-1</sup> e 370 g kg<sup>-1</sup> de areia.

Antes da instalação do experimento foram determinados os atributos químicos do solo da camada arável (0,0 – 0,2 m) de acordo com Raij et al. (2001), sendo: pH (CaCl<sub>2</sub>) = 5,0; teor de matéria orgânica = 19 g dm<sup>-3</sup>; P (resina) = 13 mg dm<sup>-3</sup>; K = 4,1; Ca = 15; Mg = 9; H + Al = 34 e CTC = 62,1 mmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> e 45% de saturação por bases. O clima da região é Aw, segundo a classificação de Köppen, com precipitação média anual de 1.425 mm, concentrada entre os meses de outubro a março (Figura 1). A

temperatura média anual e a umidade relativa do ar são 22°C e 70%, respectivamente.



**Figura 1.** Médias mensais da precipitação e temperatura na área do experimento (1971-2019).

Antes da instalação do experimento (ano agrícola 1999/2000), foram realizadas operações de subsolagem a 0,40 m de profundidade e calagem em área total para elevação da saturação por bases do solo para 70%. A incorporação do calcário com PRNT de 100%, aplicado na dose de 1,5 Mg ha<sup>-1</sup>, foi realizada por meio de operações de aração e gradagem.

O experimento foi implantado seguindo o delineamento estatístico em faixas três repetições. Os tratamentos foram compostos pela combinação de três sequências de culturas de verão e duas culturas de entressafra, totalizando seis parcelas por bloco experimental. As sequências de culturas de verão foram: monocultura de milho (*Zea mays* L.) (MM); monocultura de soja (*Glycine max* L. Merrill) (SS); e rotação soja-milho (SM), com cultivos intercalados de soja e milho ano a ano. As culturas de entressafra foram: sorgo granífero (*Sorghum bicolor* (L.) Moench), crotalária (*Crotalaria juncea* L.), semeadas em fevereiro-março, repetindo-se a cada ano agrícola a mesma cultura de entressafra na mesma parcela. Cada parcela correspondeu a uma área de 200 m<sup>2</sup> (20 m x 10 m).

Adicionalmente, duas áreas foram utilizadas para comparação com o SSD: área com sistema de preparo convencional do solo (CC) (aração e gradagem) e uma área com vegetação nativa (VN), ambas contíguas à área experimental.

A produtividade da soja foi avaliada a partir da colheita de cinco linhas de 15 m de comprimento (33,75 m<sup>2</sup>), enquanto no milho a colheita foi realizada em quatro linhas de 10 m (36 m<sup>2</sup>). A produtividade foi transformada para Mg ha<sup>-1</sup> sendo corrigida a umidade para 13%.

Os atributos biológicos e carbono total (CT) do solo foram avaliados a partir de amostras de solo coletadas em fevereiro de 2020 na camada de 0,0 -0,05 m em 10 pontos da área útil da parcela, no qual foram misturadas formando uma amostra composta. A camada de 0,0 -0,05 foi avaliada, por que apresenta as maiores atividades biológicas no solo (Balota et al., 2013). O teor de C do solo foi determinado por combustão a seco, utilizando-se o equipamento LECO TruMac CNS (Leco Corp., St. Joseph, MI, EUA).

Após coletada, as amostras de solo foram separadas em três partes, uma foi transportada em caixa de isopor com gelo até o laboratório de metagenômica da UNESP/FCAV e armazenada a -80 °C, a segunda parte foi armazenada a 4 °C até a realização das análises de atividade enzimática e a terceira parte foi seca e peneirada para quantificar o teor de CT no solo.

As atividades das enzimas  $\beta$ -glicosidase e arilsulfatase foram determinadas seguindo a descrição de Tabatabai (1994), no qual se baseia na determinação colorimétrica do p-nitrofenol liberado por essas enzimas quando o solo é incubado por 1 h a 37 °C. Os valores de atividade enzimática foram expressos em mg p-nitrofenol kg<sup>-1</sup> de solo seco h<sup>-1</sup>.

A estrutura da comunidade microbiana do solo foi avaliada através de sequenciamento de comunidades em plataforma illumina e análises bioinformáticas. O DNA das amostras de solos foi extraído utilizando o Nextera XT index kit v2, segundo as recomendações do fabricante. Após a extração, foi realizado o sequenciamento na plataforma MiSeq (Illumina, San Diego, USA).

Para a construção das bibliotecas, as regiões hipervariáveis V4–V5 do gene 16S rRNA foram amplificadas usando os primers 515F-Y e 926R. Para a construção das bibliotecas do gene ITS foi utilizada a região ITS1.

A demultiplexação das bibliotecas foi realizada usando o software bcl2fastq (v2.20.0.422; Illumina®) com as configurações padrão. As leituras remanescentes, cujo, barcodes não foram identificados, foram processadas com o programa deML (v.1.1.3) (Renaud et al., 2015) usando as opções rgqual 90 e wrongness 80. Os pares das leituras referentes às sequências da região variável V4-V5 do gene 16S rRNA e do ITS, foram fundidos usando a ferramenta PEAR (v.0.9.11) (Zhang et al., 2014), com sobreposição mínima de 15 pb. Os amplicons referente à região V4-V5 do gene 16S rRNA foram extraídos com os conjuntos de primers 515F-Y (GTGYCAGCMGCCGCGGTAA) e 926R (CCGYCAATTYMTTTRAGTTT) e para o ITS foi utilizado os conjuntos ITS1 (CYHVGYYATTTAGAGGWMSTAA) e ITS1 (rctRYGTTCTTCATCGWTgb) a partir do comando “search\_pcr2” do pacote de ferramentas do USEARCH (v.11.0.667) (Edgar, 2010).

Para a análise do microbioma, foi usado o pipeline Divisive Amplicon Denoising Algorithm - DADA2 (v1.14.1) (Callahan et al., 2016) para inferir e quantificar ASVs (Sequência de Amplicon Variantes) implementado no R (v3.6.3) (R Core Team, 2020).

Ambos os conjuntos de leituras fundidos, região V4-V5 do gene 16S rRNA e ITS não foram truncadas e as sequências foram filtradas usando a função “filterAndTrim” com os parâmetros maxN = 0, truncQ = 2 e maxEE = 2. A taxa de erro por amostra foi estimada com base no modelo de erro por meio da função “learnErros” e redundância das sequências foram removidas por meio da função “derepFastq”. Por fim, as sequências foram corrigidas com base nos modelos de erros obtidos anteriormente com a função “dada” e sequências quiméricas foram removidas usando uma função “removeBimeraDenovo”.

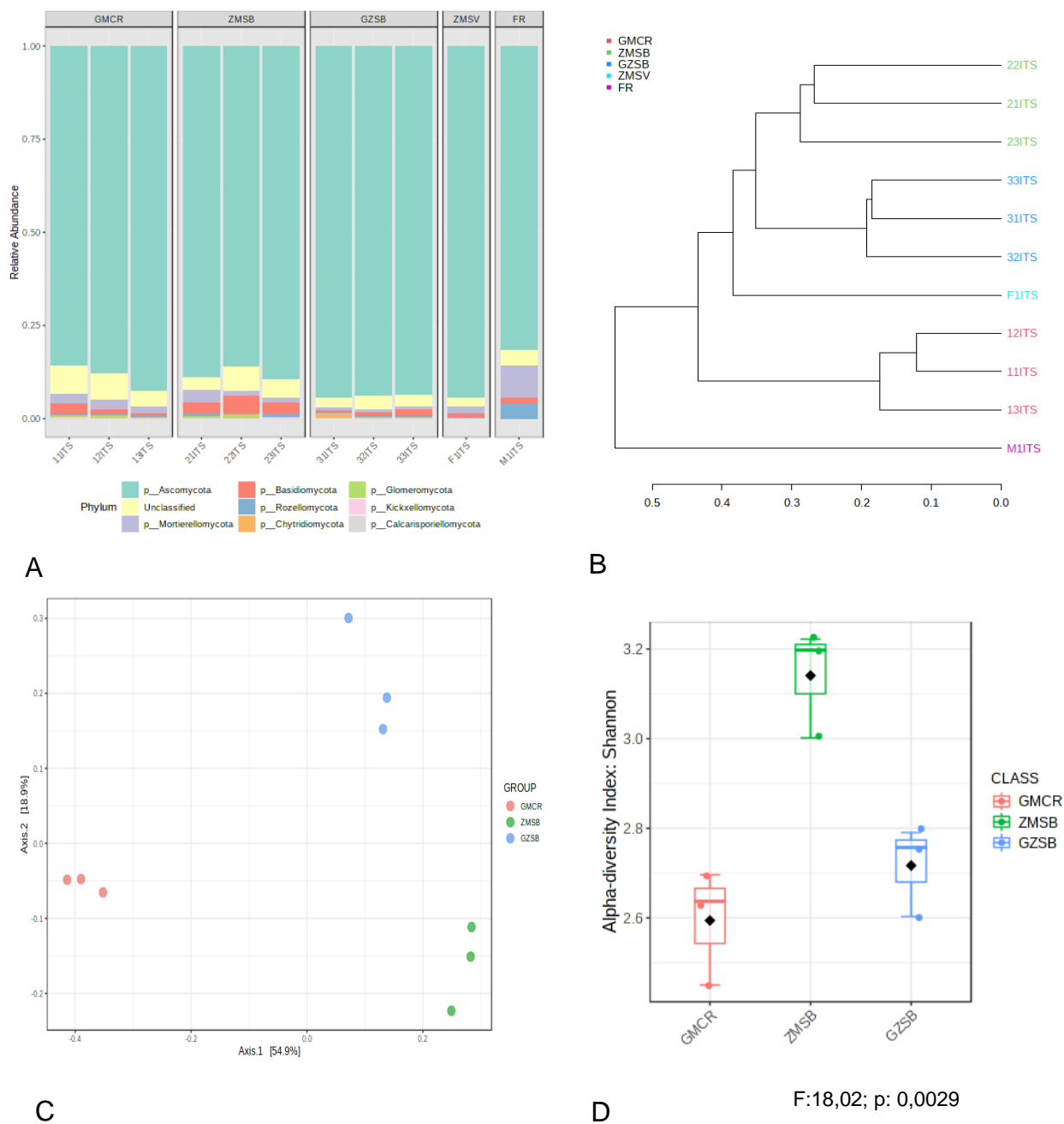
A atribuição taxonômica dos ASVs foi realizada pelo classificador Naive Bayesian (Wang et al., 2007) (implementado no DADA2), utilizando o conjunto de treinamento de banco de dados RDP (v.16) (Cole et al., 2014) para o conjunto de dados referentes ao gene 16S, e o UNITE (v.8.2) (Nilsson et al., 2019) para o ITS aplicando a opção de minboot = 80.

As análises estatísticas de abundância e diversidade foram obtidas a partir da plataforma do MicrobiomeAnalyst (Chong et al., 2020; Dhariwal et al., 2017), a partir da tabela de abundância das ASVs.

Os dados de atividade enzimática, carbono total e produtividade de milho e soja foram submetidos à análise de variância e, quando foram detectadas diferenças significativas entre tratamentos, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade, utilizando o ExpDes.pt do programa R (R Core Team, 2020).

## **Resultados**

O dendograma evidenciou o grau de semelhança entre parcelas que foram cultivadas com as mesmas sequências de culturas (Figura 2b). Observa-se a formação de cinco grupos em que o primeiro é composto pela mata nativa, e apresentou uma distância superior a 50% em relação ao grupo formado pelas áreas cultivadas. Já dentro das áreas de cultivo, as sequências de cultivo composta apenas por leguminosas apresentou uma distância superior a 40% das sequências contendo gramíneas, o sistema de cultivo convencional ficou mais próximo das áreas cultivadas com leguminosas.



**Figura 2.** Análises de alfa-diversidade através de ASVs “Amplicon Sequence Variants” da comunidade fúngica do solo obtidas por meio do sequenciamento da região ITS1 do gene ITS. **a)** Abundância relativa a nível de filo, **b)** dendograma da distância bray-curtis a nível de família, **c)** análise de componentes principais e **d)** diversidade de Shannon a nível de família em amostras de solo na camada de 0,0 -0,05 m sob plantio direto de longa duração com diferentes sequências de culturas: soja/soja no inverno

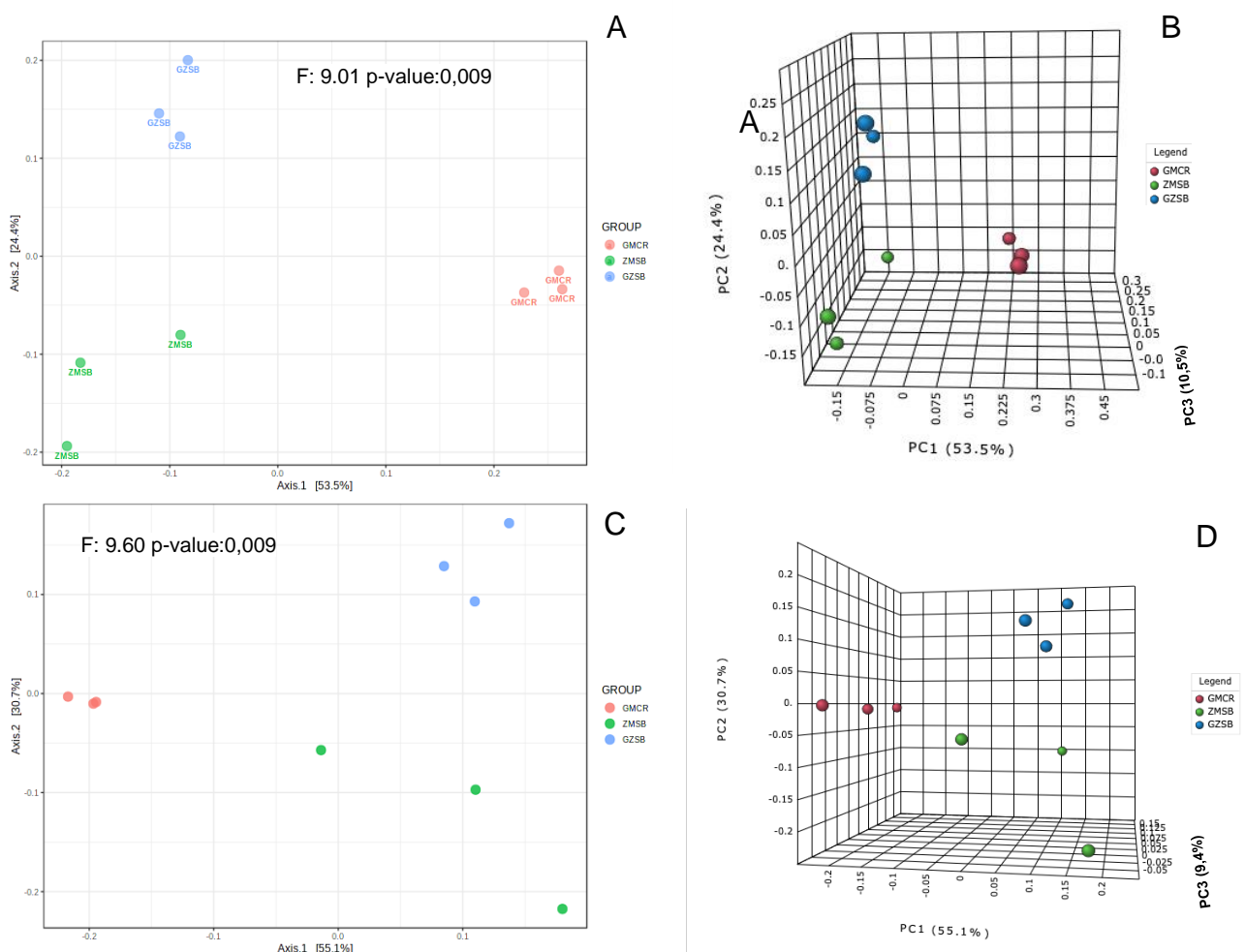
e crotalária no verão (GMCR); milho/milho no verão e sorgo no inverno (ZMSB) e rotação soja/milho no verão e sorgo no inverno (GZSB).

O gráfico de PCoA com base nas unidades taxonômicas operacionais (OTUs) da análise Bray-Curtis, mostrou diferenças claras entre as estruturas da comunidade fúngica das parcelas (Figura 2c). Os dois primeiros eixos principais explicaram 73,8% da variância total das estruturas da comunidade fúngica do solo, sendo possível observar a formação de três grupos com base na análise de PCA, no qual indicaram claramente a diferença entre as sequências de cultivos.

O cultivo de milho no verão e sorgo no inverno (ZMSB) aumentou a diversidade da comunidade fúngica. O índice de Shannon foi significamente maior nas parcelas cultivadas apenas com gramíneas (milho e sorgo), enquanto a rotação soja/milho no verão e sorgo no inverno demonstrou que o limite superior foi maior em relação as parcelas cultivadas apenas com leguminosas (soja e crotalária), no entanto as diferenças não foram estatisticamente significativas (figura 2d).

O gráfico de PCA com base nas OTUs da análise de beta diversidade mostrou diferenças claras entre as estruturas da comunidade fúngica no solo (Figura 3b). Os três primeiros eixos principais explicaram 90% da variância total das estruturas da comunidade fúngica, no qual indicaram claramente a diferença entre as sequências de cultivos (Figura 3b).

A diversidade dos fungos do grupo glomerales também foram agrupados conforme os tratamentos (sequências de culturas), tendo 85% da variância explicada pelos dois primeiros eixos (Figura 3c).

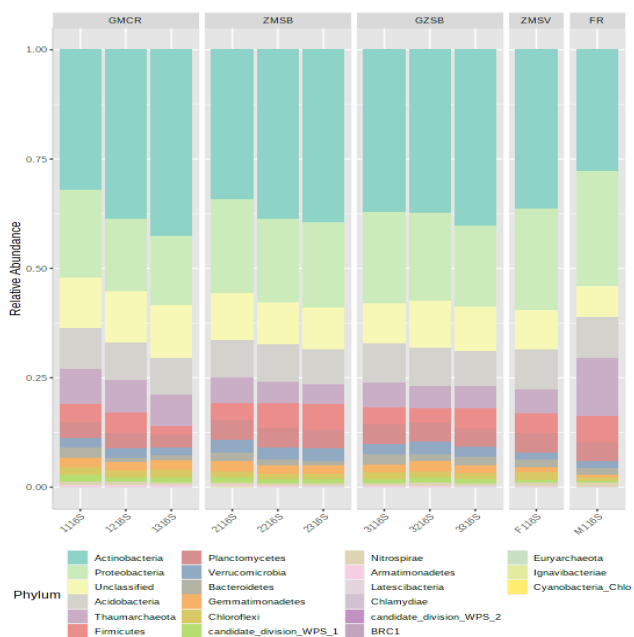


**Figura 3.** Análises da beta-diversidade através de ASVs da comunidade fúngica do solo obtidas por meio do sequenciamento da região ITS1 do gene ITS. **a)** análise de componentes principais (PCA) dos dois primeiros eixos, **b)** PCA dos três primeiros eixos a nível de família **c)** PCA de fungos da ordem Glomerales, **d)** PCA dos três eixos de fungos da ordem Glomerales. Amostras de solo na camada de 0,0 -0,05 m sob plantio direto de longa duração com diferentes sequências de culturas: soja/soja no inverno e crotalária no verão (GMCR); milho/milho no verão e sorgo no inverno (ZMSB) e rotação soja/milho no verão e sorgo no inverno (GZSB).

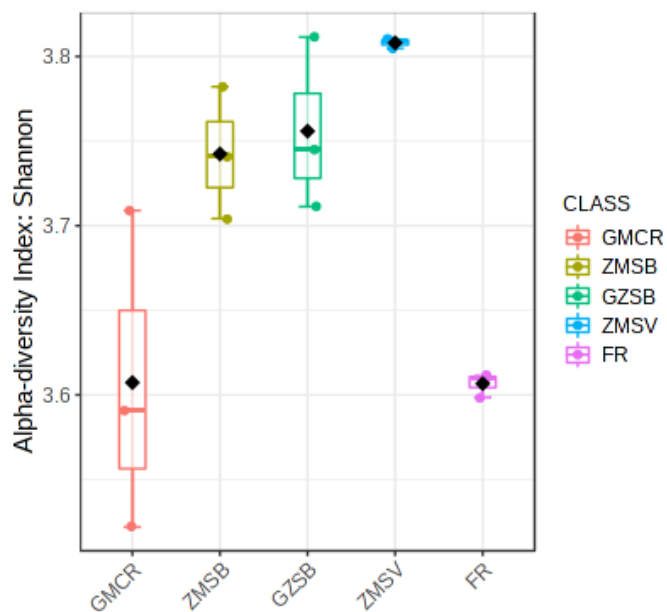
O cultivo de soja no verão e crotalária no inverno (GMCR), diminuiu a diversidade da comunidade bacteriana do solo. Quando incluiu os valores de

diversidade do solo da mata e do cultivo convencional, observou-se que o índice de Shannon do solo da mata foi menor do que os dados do CC e das parcelas que foram cultivado sorgo (Figura 4b). Para ficar mais fácil de observar os dados entre as parcelas do SSD foram excluídos os dados da mata nativa e CC e analisados novamente, no qual o índice de Shannon foi significativamente menor nas parcelas cultivadas apenas com leguminosas (soja e crotalária), enquanto a rotação soja/milho no verão e sorgo no inverno (GZSB) e milho no verão e sorgo no inverno (ZMSB) foram estatisticamente iguais entre si (Figura 4c).

O gráfico de PCoA para beta diversidade com base nas OTUs da análise Bray-Curtis mostrou diferenças entre as estruturas da comunidade de bactérias no solo. Os dois primeiros eixos principais explicaram 83,6% da variância total das estruturas da comunidade de bactérias no solo (Figura 4d).

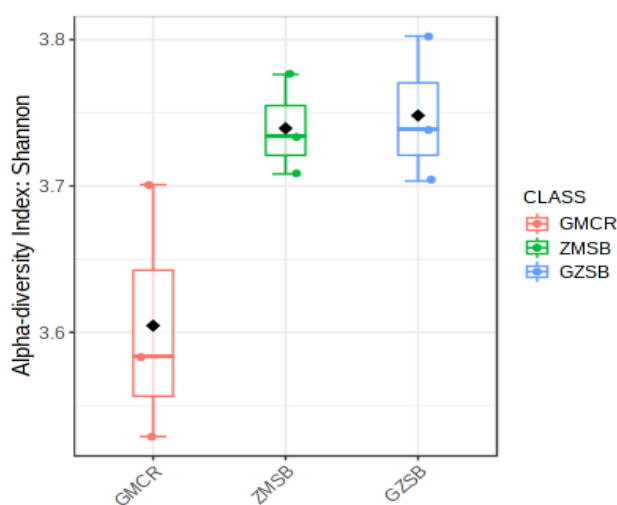


A



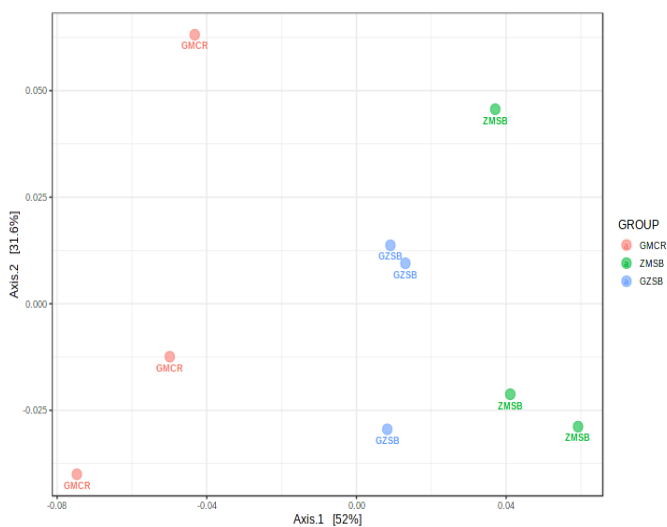
B

P:0,001 f:9,56



C

F: 5,05; p: 0,05



D

F:3,53; p: 0,013

**Figura 4.** Análises de alfa-diversidade através de ASVs de bactérias do solo obtidas por meio do sequenciamento da região variável v4-v5 do gene 16S rRNA. **a)** Abundância relativa a nível de filo, **b)** diversidade alfa de Shannon a nível de família incluindo a mata nativa e cultivo convencional **c)** diversidade alfa de Shannon a nível

de família **d**) análise de componentes principais de beta diversidade a nível de classe em amostras de solo na camada de 0,0 -0,05 m sob plantio direto de longa duração com diferentes sequências de culturas: soja/soja no inverno e crotalária no verão (GMCR); milho/milho no verão e sorgo no inverno (ZMSB) e rotação soja/milho no verão e sorgo no inverno (GZSB).

Os teores de CT no solo não diferiram entre as sequências de culturas, já a atividade da  $\beta$ -glicosidase foi maior na rotação soja/milho (SM), sequência essa que também proporcionou maior produtividade de milho e soja (Tabela 1).

**Tabela 1.** Resultados da análise de variância (Teste F) para atividade das enzimas  $\beta$ -glicosidase e arilsulfatase e carbono total (CT) na camada de solo de 0,0-0,05 m e produtividade de soja e milho sob diferentes sequências de culturas em sistema de semeadura direta.

Tratamento	$\beta$ -glicosidase	Arilsulfatase	CT	----- Produtividade Mg ha <sup>-1</sup> -----	
	mg de p-nitrofenol kg <sup>-1</sup> de solo h <sup>-1</sup>	de solo h <sup>-1</sup>	g kg <sup>-1</sup>	Soja	Milho
<b>Verão</b>					
SS	91,14 b	121,9	13,3	2,86 b	-----
MM	92,70 ab	160,2	13,8	-----	7,47 b
SM	95,68 a	148,7	13,4	3,39 a	8,02 a
Teste F	6,67**	8,35**	0,07ns	59,4 **	5,83*
<b>Inverno</b>					
Sorgo	91,69	158,1	13,3	3,10	7,56 b
Crotalária	94,65	129,2	13,7	3,15	7,93 a
Teste F	0,22ns	106,22*	0,14ns	0,13ns	3,58*
Ver x Inv	1,51ns	97,17*	0,006ns	0,87ns	70,5*
CV	2,34	11,60	17,30	3,74	5,04
CV	14,07	4,14	16,744	6,48	4,28
CV	8,97	2,14	8,64	8,94	0,57

Ns: não siginificaivo; \*: significativo a 5%; \*\*: significativo a 1% pelo teste F. Médias seguidas por letras distintas diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Desdobrando os dados da atividade da Arilsulfatase no solo, observa-se que as maiores atividades foram observadas na sequência SM quando cultivado sorgo no

inverno, mas quando a cultura do inverno foi crotalária o maior valor foi encontrado na sequência MM (Tabela 2). A menor produtividade de milho foi observada na sequência MM e sorgo no inverno (Tabela 2).

**Tabela 2.** Desdobramento da interação da atividade da enzima Arilsulfatase na camada de solo de 0,0- 0,05 m e produtividade de milho sob diferentes sequências de culturas em sistema de semeadura direta.

Verão	Inverno			
	Arilsulfatase (mg de p-nitrofenol kg <sup>-1</sup> de solo h <sup>-1</sup> )		-- Produtividade de milho (Mg ha <sup>-1</sup> ) ---	
	Sorgo	Crotalária	Sorgo	Crotalária
SS	136,7 Ab	107,1 Bb	---	---
MM	162,1 ab	158,3 a	119,8 Bb	129,4 A
SM	175,4 Aa	122,0 Bb	132,5 a	134,9

Médias seguidas por letras distintas diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Letras maiúsculas na linha e minúsculas na coluna.

## Discussão

Com base nos dados observados no presente estudo é possível afirmar que o cultivo de diferentes sequências de culturas soja/soja-crotalária, milho/milho-sorgo e soja/milho-sorgo, ao longo de 20 anos, proporcionou diferença na diversidade microbiana do solo.

O teor de CT no solo na camada 0,0-0,05 m não foi influenciado pelas sequências de culturas, por outro lado a rotação soja/milho aumentou a atividade das enzimas  $\beta$ -glicosidase e arilsulfatase, o que explica a maior produtividade de soja e milho quando cultivado em rotação de culturas.

A maior diversidade alfa da comunidade fúngica quando o cultivo foi exclusivo com gramíneas (milho no verão e sorgo no inverno), pode ser explicado pelo fato das

gramíneas produzirem raízes mais abundante e assim, favorecer a relação de simbiose com os microrganismos, pois onde foi cultivado apenas milho ocorre maior produção de fotoassimilados em relação ao cultivo de leguminosas, favorecendo assim, a abundância dos fungos (Sousa et al., 2015).

Os resíduos depositados no solo pelas gramíneas possuem maior relação C:N do que as leguminosas (Marcelo et al., 2012), isso pode estar favorecendo o desenvolvimento de uma comunidade fúngica mais específica, como pode ser observado pelo índice de Shannon (Figura 2d). Esse índice é mais influenciado pela riqueza de espécies, ou seja, espécies mais raras tem maiores pesos, isso indica que essa maior diversidade de fungos no solo cultivado com gramínea, está selecionando espécies específicas para essa sequência de cultura. Como o solo vem sendo cultivado ao longo de 20 anos apenas com gramínea, pode ter ocorrido uma pressão de seleção, selecionando os fungos mais eficientes na degradação de material lignificado (Ochoa-Hueso et al., 2017).

O agrupamento hierárquico das amostras (Figura 2b), segue um padrão conforme as sequências de culturas, onde os dois grupos mais distantes foram formados pela área de vegetação nativa e outro grupo formado pelas áreas cultivadas. Sendo que houve maior diversidade bacteriana no solo em sistema de preparo convencional (SC) em relação ao SSD quando este foi cultivado com leguminosa seja na rotação ou sucessão (Figura 4b), resultado este que diferem de estudos que avaliaram os sistemas convencionais e orgânicos (Schmidt et al., 2019). Mas vale ressaltar que no presente estudo, quando comparou as áreas de SC com SSD quando ambas foram cultivadas exclusivamente com gramíneas, observa-se que não houve diferença. Ou seja, a diferença do SC para o SSD está relacionada ao fato de um ter

sido cultivado com gramínea e outro com leguminosa, sendo a cultura fator predominante em relação aos tipos de cultivo.

O grande domínio do filo *Ascomycota* (>80%) também foi reportado em outros trabalhos (Coats et al., 2014; Li et al., 2019), pois esse filo predomina nas comunidades fúngicas no solo (Fierer, 2017). A diversidade beta para a ordem Glomerales, do grupo glomerales foram agrupados conforme os tratamentos (sequências de culturas).

A maior diferença da diversidade pelo índice de Shannon foi observado entre parcelas com cultivo exclusivo de leguminosas e gramíneas (Figura 2d), o mesmo comportamento foi observado por Chamberlain et al. (2020). Dados estes que podem explicar a não diferença no teor de carbono na camada superficial do solo 0,0 -0,05 m, uma vez que não é possível ser explicado pela quantidade de resíduos depositados na superfície do solo. Com o maior índice de diversidade nos cultivos exclusivo de gramíneas, pode ocorrer espécies exclusivas para esse ambiente, e essas podem ser as responsáveis pela degradação do material orgânico, ou seja, o cultivo de milho/milho e sorgo depositam maiores quantidades de C pelos resíduos com maior relação C:N, no entanto a comunidade microbiana sofre pressão de seleção e se torna mais específica para degradar esse material (Chamberlain et al., 2020).

A diversidade entre as amostras de cada sequência (beta diversidade) obtida por meio das distâncias de similaridade de Bray-Curtis, indica que as sequências de culturas alteram a microbiota do solo (Figura 3b). A maior diversidade de fungos no cultivo milho/milho, aponta que o milho tende a ser melhor hospedeiro para os fungos em relação a soja, como também foi reportado por Gosling et al. (2013), e avaliando a diversidade na ordem Glomerales (Figura 3c), a qual os fungos micorrízicos

arbusculares – FMAs pertencem (Schübler et al., 2001), observa-se a formação de grupos conforme as diferentes sequências de culturas. Como os FMAs estão diretamente ligados com a formação de agregados no solo, pode-se inferir que maior diversidade desses, indica melhora nesse importante atributo, e assim houve aumento de produtividade conforme observado na Tabela 1.

Como FMAs apresentam uma melhor associação com o milho, esperava-se uma maior produtividade em áreas cultivadas com milho, no entanto não foi isso que aconteceu, pois a produtividade de milho foi menor quando se cultivou milho e sorgo, em relação a rotação soja/milho. Esse não aumento na produtividade ocorre pelo fato do fósforo (P) no solo não está limitando a produtividade, visto que os FMAs auxiliam a planta principalmente na absorção de P. Além de que, o aumento da diversidade de fungos ocasionados pelo cultivo exclusivo de gramíneas, pode provocar o surgimento de mais fungos prejudiciais a planta do que os que auxiliam (Verbruggen e Kiers, 2010).

Já para diversidade de bactérias, a menor diversidade foi observada em parcelas cultivadas exclusivamente com leguminosas, em relação as parcelas que foram cultivadas com gramíneas, isso reforça a importância do cultivo de gramínea para o aumento da comunidade bacteriana (Chamberlain et al., 2020). Essa não diferença entre rotação soja/milho e monocultivo de milho, aponta para efeito de longo prazo, pois ano sim outro não o milho é cultivado na parcela de rotação soja/milho. Essa menor diversidade de bactérias em solos cultivados sempre com leguminosas está fortemente ligada as menores atividades enzimáticas, e as menores produtividades (Tabela 2), pois ocorreu redução para todos esses atributos na sucessão soja/soja.

Dessa forma, pode-se supor que as diferentes plantas cultivadas, deve ser considerada um importante fator na determinação da comunidade microbiana, pois grupos de diversidade microbiana foi formado de acordo com as sequências cultivadas.

As maiores atividades das enzimas  $\beta$ -glicosidase e arilsulfatase na rotação SM em relação a sucessão SS (Tabela 1 e 2) refletiu na produtividade da soja (Tabela 1) e milho (Tabela 2). Isso demonstra que embora o solo tenha apresentado o mesmo teor de CT, o seu funcionamento pode estar diferente (Mendes et al., 2018), como por exemplo, a maior atividade enzimática está diretamente relacionada com a liberação de nutrientes para a solução do solo, pois estão diretamente ligadas as transformações de nutrientes no solo (Yang et al., 2008).

A  $\beta$ -glicosidase no solo, atua no final da etapa de degradação da celulose, liberando glicose, uma importante fonte de energia para os microrganismos (Makoi e Ndakidemi, 2008), o que explica a menor diversidade dos microrganismos na sucessão SS, visto que também houve menor atividade desta enzima.

O aumento da produtividade das culturas em áreas com maiores atividades enzimáticas e maior diversidade de microrganismos, reforça a importância de práticas de manejo que favoreçam a microbiota do solo.

O não revolvimento do solo sob SSD, auxilia no aumento da atividade enzimática, pois esta é composta pelas atividades dos organismos vivos e não vivos do solo, que se acumulam através de ligações com moléculas orgânicas do solo (Mendes et al., 2018). No presente trabalho foi possível afirmar isso, pois o sistema de cultivo convencional apresentou menor valor das atividades enzimáticas de  $\beta$ -glicosidase e arilsulfatase (79,3 e 152,8 mg de p-nitrofenol  $\text{kg}^{-1}$  de solo  $\text{h}^{-1}$ ), dados

inferiores aos observados no SSD e também na vegetação nativa (110,1 e 486,8 mg de p-nitrofenol kg<sup>-1</sup> de solo h<sup>-1</sup>), para β-glicosidase e arilsulfatase, respectivamente.

## Conclusão

A monocultura de soja no verão e crotalária no inverno reduziu a diversidade de fungos e bactérias do solo em relação ao cultivo exclusivo com gramínea. A rotação soja/milho aumenta a atividade enzimática do solo e a produtividade de milho e soja em SSD de longa duração, independente do teor de carbono.

## Referências

Balota, E. L.; Nogueira, M. A.; Mendes, I. C.; Hungria, M.; Fagotti, D. S. L.; Melo, G. M. P. Souza, R. C.; Melo, W. J. Enzimas e seu papel na Qualidade do Solo. In: Araújo, A. P.; Alves, B. J. R. (Eds.). Tópicos em Ciência do Solo - Volume VIII. 1 ed. **Sociedade Brasileira de Ciência do Solo**, p. 221-278, 2013.

Brennan, E. B.; Acosta-Martinez, V. Soil microbial biomass and enzyme data after six years of cover crop and compost treatments in organic vegetable production. *Data in Brief*, 21, 212-227, 2018. doi.org/10.1016/j.dib.2018.09.013

Callahan, B.J., McMurdie, P.J., Rosen, M.J., Han, A.W., Johnson, A.J.A., Holmes, S.P. DADA2: High resolution sample inference from Illumina amplicon data. **Nat Methods** 13, 581–583, 2016. https://doi.org/10.1038/nmeth.3869

Chamberlain, L.; Bolton, M.; Cox, M.S.; Suen, G.; Conley, S.P.; Ane, J.M. Crop rotation, but not cover crops, impact soil bacterial communities in a corn-soybean system in Wisconsin. **Appl. Soil Ecol.** 154, 103603, 2020. https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2020.103603

Chong, J., Liu, P., Zhou, G., Xia, J. Using MicrobiomeAnalyst for comprehensive statistical, functional, and meta-analysis of microbiome data. **Nat Protoc** 15, 799–821, 2020. https://doi.org/10.1038/s41596-019-0264-1

Coats, V. C.; Pelletreau, K.N.; Rumpho, M.E.; Amplicon pyrosequencing reveals the soil microbial diversity associated with invasive japanese barberry (*Berberis thunbergii* DC.). **Mol Ecol.** 23:1318-32, 2014.https://doi.org/10.1111/mec.12544

Cole, J.R., Wang, Q., Fish, J.A., Chai, B., McGarrell, D.M., Sun, Y., Brown, C.T., Porras-Alfaro, A., Kuske, C.R., Tiedje, J.M. Ribosomal Database Project: data and

tools for high throughput rRNA analysis. **Nucl. Acids Res.** 42, D633–D642, 2014. <https://doi.org/10.1093/nar/gkt1244>

Dhariwal, A., Chong, J., Habib, S., King, I.L., Agellon, L.B., Xia, J. MicrobiomeAnalyst: a web-based tool for comprehensive statistical, visual and meta-analysis of microbiome data. **Nucleic Acids Research** 45, W180–W188, 2017. <https://doi.org/10.1093/nar/gkx295>

Edgar, R.C. Search and clustering orders of magnitude faster than BLAST. **Bioinformatics** 26, 2460–2461, 2010. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btq461>

Fierer, N. Embracing the unknown: disentangling the complexities of the soil microbiome. **Nat Rev Microbiol** 15, 579–590, 2017. <https://doi.org/10.1038/nrmicro.2017.87>

Gosling, P.; Mead, A.; Proctor, M.; Hammond, J.P.; Bending, G.D. Contrasting arbuscular mycorrhizal communities colonizing different host plants show a similar response to a soil phosphorus concentration gradient. **New Phytologist**, v. 198, p. 546–556, 2013.

Hok, L.; Sá, J. C. D. M.; Reyes, M.; Boulakia, S.; Tivet, F.; Leng, V.; Kong, R.; Briedis, C.; Hartman, D. C.; Ferreira, L. A.; Inagaki, T. M.; Gonçalves, D. R. P.; Bressan, P. T (2018). Enzymes and c pools as indicators of c build up in short-term conservation agriculture in a savanna ecosystem in cambodia. **Soil and Tillage Research**, v.177, p.125–133. doi:10.1016/j.still.2017.11.015

Inagaki, T. M.; Sá, J. C. M.; Caires, E. F.; Gonçalves, D. R. P. Lime and gypsum application increases biological activity, carbon pools, and agronomic productivity in highly weathered soil. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v. 231, p. 156-165, 2016. doi:10.1016/j.agee.2016.06.034

Kallenbach, C. M.; Frey, S. D.; Grandy, A. S. Direct evidence for microbial-derived soil organic matter formation and its ecophysiological controls. **Nature Communications**, 7:13630, p. 1-10, 2016. doi:10.1038/ncomms13630

Lal, R. Soil Carbon Sequestration Impacts on Global Climate Change and Food Security, **Science**, v. 304, n. 5677, p.1623-1627, 2004. doi:10.1126/science.1097396

Lehmann, J. & Kleber, M. The contentious nature of soil organic matter. **Nature**, 528, 60 - 68, 2015. doi:10.1038/nature16069

Li, Jun; Wu, Zelong; Yuan, Jun. Impact of agro-farming activities on microbial diversity of acidic red soils in a Camellia Oleifera Forest. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**. 43, e0190044, 2019.

Liu, H., Pan, F., Han, X., Song, F., Zhang, Z., Yan, J., Xu, Y. Response of soil fungal community structure to long-term continuous soybean cropping. **Front. Microbiol.** 10, 1–13 (2019). <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.03316>.

Makoi J.; Ndakidemi, P. Selected soil enzymes: examples of their potential roles in the ecosystem. **African Journal of Biotechnology**, 7 (3), 181-191, 2008.

Marcelo, A. V.; Corá, J. E.; Fernandes, C. Sequências de culturas em sistema de semeadura direta: II - decomposição e liberação de nutrientes na entressafra. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.36, n.5, p.1568-1582, 2012. doi:10.1590/S0100-06832012000500021

Martins, M. R.; Angers, D. A.; Corá, J. E. Carbohydrate composition and water-stable aggregation of an Oxisol as affected by crop sequence under no-till. **Soil Science Society of America Journal**, v.76, p.475-484, 2012. doi:10.2136/sssaj2011.0110

Mendes, I. C. Sousa, D. M. G. Reis Junior, F. B. Lopes, A. A.C. **Bioanálise de solo: como acessar e interpretar a saúde do solo**. Embrapa, 2018. p. 1-23. (Circular técnica Embrapa, n. 38).

Mendes, I. C.; Ono, F. B.; Oliveira, M. I.; Silva, R. G.; Kappes, C.; Reis Junior, F. B.; Zancanaro, L. **Rotação de culturas, bioindicadores e saúde do solo**. In: Silva, P. A.; Oliveira, L. C. Boletim de Pesquisa 2019/2020. 19.ed. Fundação MT, p. 102-110. 2020.

Mendes, I. C.; Sousa, D. M. G.; Reis Junior, F. B. Bioindicadores de qualidade de solo: dos laboratórios de pesquisa para o campo. **Cadernos de Ciência e Tecnologia**, v. 32, p. 191-209, 2015.

Nannipieri, P.; Badalucco, L. Biological Processes. In: Bembli, D.K.; Nieder, R. Handbook of processes and modeling in the soil-plant system. (The Haworth Press: Binghamton NY, EUA). p. 57-76 2003.

Nilsson, R.H., Larsson, K.-H., Taylor, A.F.S., Bengtsson-Palme, J., Jeppesen, T.S., Schigel, D., Kennedy, P., Picard, K., Glöckner, F.O., Tedersoo, L., Saar, I., Kõljalg, U., Abarenkov, K. The UNITE database for molecular identification of fungi: handling dark taxa and parallel taxonomic classifications. **Nucleic Acids Research** 47, D259–D264, 2019. <https://doi.org/10.1093/nar/gky1022>

Nivelle, E.; Verzeaux, J.; Habib, H.; Kuzyakov, Y.; Decocq, G.; Roger, D.; Lacoux, J.; Duclerq, J.; Spicher, F.; Nava-Suacedo, J.; Catterou, M.; Dubois, F.; Tetu, T. Functional response of soil microbial communities to tillage, cover crops and nitrogen fertilization. **Applied. Soil Ecology**, v.108, p.147–155, 2016. doi:10.1016/j.apsoil.2016.08.004

Ochoa-Hueso R.; Eldridge DJ.; Delgado-Baquerizo M.; Soliveres S.; Bowker MA.; Gross N.; le Bagousse-Pinguet Y.; Quero JL.; García-Gómez M.; Valencia E.; Arredondo T.; Beinticincio L.; Bran D.; Cea A.; Coaguila D.; Dougill AJ.; Espinosa CI.; Gaitán J.; Guuroh RT.; Guzman E.; Gutiérrez JR.; Hernández RM.; Huber-Sannwald E.; Jeffries T.; Linstädter A.; Mau RL.; Moneris J.; Prina A.; Pucheta E.; Stavi I.; Thomas AD.; Zaady E.; Singh BK.; Maestre FT. Soil fungal abundance and plant functional traits drive fertile island formation in global drylands. **Journal of Ecology**. 106, 242-253, 2017. doi.org/10.1111/1365-2745.12871

Oulas, A.; Pavludi, C.; Polymenakou, P.; Pavlopoulos, G. A.; Papanikolaou, N.; Kotoulas, G.; Arvanitidis, C.; Iliopoulos, I. Metagenomics: Tools and Insights for Analyzing Next-Generation Sequencing Data Derived from Biodiversity Studies. **Bioinformatics and Biology Insights**, v. 9, p. 75-88, 2015. doi:10.4137 / BBI.S12462

R Core Team, 2020. **R: A Language and Environment for Statistical Computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.

Raij, B. V.; Andrade, J. C.; Cantarella, H.; Quaggio, J. A. **Análise química para avaliação da fertilidade de solos tropicais**. Campinas, Instituto Agronômico, 2001. p. 284.

Renaud, G., Stenzel, U., Maricic, T., Wiebe, V., Kelso, J. deML: robust demultiplexing of Illumina sequences using a likelihood-based approach. **Bioinformatics** 31, 770-772, 2015. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btu719>

Sá, J.C.M, Lal, R., Cerri, C.C. Lorenz, K., Hungria, M. & Carvalho, P.C.F. Low-carbon agriculture in South America to mitigate global climate change and advance food security. **Environment International**, 98, 102 – 112, 2017. doi.org/10.1016/j.envint.2016.10.020

Santos, H. G.; Jacomine, P.K.T.; Anjos, L. H. C.; Oliveira, V. A.; Lumbreiras, J. F.; Coelho, M.R.; Almeida, J. A.; Cunha, T. J. F.; Oliveira, J. B. **Sistema Brasileiro de Classificação de Solos**. Empresa brasileira de pesquisa agropecuária-EMBRAPA. 3 ed. 353p, 2013. Brasília.

Schmidt, J.E, Vannette, R. L.; Igwe, A.; Blundell, R.; Casteel, C.L.; Gaudin, A.C.M. Effects of Agricultural Management on Rhizosphere Microbial Structure and Function in Processing Tomato Plants. Cann I (Ed.). **Applied and Environmental Microbiology** 85: e01064-19, 2019. <https://doi.org/10.1128/AEM.01064-19>

Schübler, A.; SCHWARZOTT, D.; WALKER, C. A new fungal phylum, the Glomeromycota: phylogeny and evolution. **Mycol. Res**, v. 105: p.1413-1421, 2001.

Sousa, R.F.D.; Brasil, E.P.F.; Figueiredo, C.C.D.; Leandro, W. M. Soil organic matter fractions in preserved and disturbed wetlands of the cerrado biome. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, 39(1), 222-231. 2015.

Streit W.R, Schmitz R.A. Metagenomics – the key to the uncultured microbes. **Current Opinion in Microbiology** 7: 492–498, 2004. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2004.08.002>

Tabatabai, M. A.; Enzymes. In: Weaver, R. W.; Agle, S.; Bottomley, P. J.; Bezdicek, D.; Smith, S.; Tabatabai, A.; Wollum, A. Methods of soil analysis. Part 2 (Microbial and Biochemical Properties). **Soil Science Society of America**, p. 775-833, 1994. doi:10.2136/sssabookser5.2.c37

Verbruggen, E.; Kiers, E. T. Evolutionary ecology of mycorrhizal functional diversity in agricultural systems. **Evolutionary Applications**. 3. 547–560, 2010. doi:10.1111/j.1752-4571.2010.00145.x

Wang, Q., Garrity, G.M., Tiedje, J.M., Cole, J.R. Naïve bayesian classifier for rapid assignment of rRNA sequences into the new bacterial taxonomy. **Applied and Environmental Microbiology**, 73, 5261–5267., 2007. <https://doi.org/10.1128/AEM.00062-07>

White, P. M.; Rice, C. W. Tillage Effects on Microbial and Carbon Dynamics during Plant Residue Decomposition. **Soil Science Society of America Journal**, v.73, n. 1, p. 138-145, 2009. doi:10.2136/sssaj2007.0384

Yang, L.; Li, T.; Li, F.; Lemcoff, J.H.; Cohen, S. Fertilization regulates soil enzymatic activity and fertility dynamics in a cucumber field. **Sci. Hortic.**, 116:21-26, 2008.

Zhang, J., Kobert, K., Flouri, T., Stamatakis, A. PEAR: a fast and accurate Illumina Paired-End reAd mergeR. **Bioinformatics** 30, 614–620, 2014. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btt593>