

HUGO MOTA FERREIRA LEITE

**FÓSFORO E COMUNIDADE BACTERIANA DO SOLO EM SUCESSÕES DE
CULTURAS SOB SEMEADURA DIRETA**

Botucatu

2019

HUGO MOTA FERREIRA LEITE

**FÓSFORO E COMUNIDADE BACTERIANA DO SOLO EM SUCESSÕES DE
CULTURAS SOB SEMEADURA DIRETA**

Tese apresentada à Faculdade de
Ciências Agronômicas da Unesp Câmpus
de Botucatu, para obtenção do título de
Doutor em Agronomia (Agricultura).

Orientador: Prof. Dr. Juliano Carlos
Calonego

Botucatu

2019

L533f Leite, Hugo Mota Ferreira
Fósforo e comunidade bacteriana do solo em
sucessões de culturas sob semeadura direta / Hugo Mota
Ferreira Leite. -- Botucatu, 2019
127 p. : il., tabs.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista
(Unesp), Faculdade de Ciências Agrônômicas, Botucatu
Orientador: Juliano Carlos Calonego

1. Fracionamento de P. 2. Plantio direto. 3. 16S rDNA.
4. Microbiologia do solo. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca
da Faculdade de Ciências Agrônômicas, Botucatu. Dados fornecidos pelo
autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

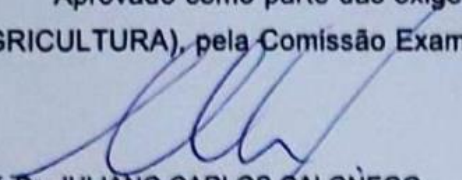
CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

Título: FÓSFORO E COMUNIDADE BACTERIANA DO SOLO EM SUCESSÕES DE CULTURAS SOB SEMEADURA DIRETA

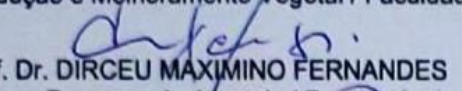
AUTOR: HUGO MOTA FERREIRA LEITE

ORIENTADOR: JULIANO CARLOS CALONEGO

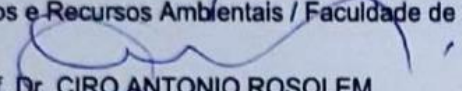
Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Doutor em AGRONOMIA (AGRICULTURA), pela Comissão Examinadora:


Prof. Dr. JULIANO CARLOS CALONEGO

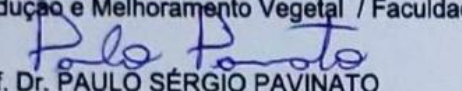
Produção e Melhoramento Vegetal / Faculdade de Ciências Agrônômicas de Botucatu - UNESP


Prof. Dr. DIRCEU MAXIMINO FERNANDES

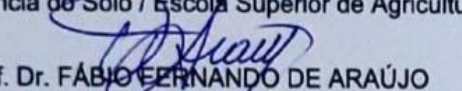
Solos e Recursos Ambientais / Faculdade de Ciências Agrônômicas de Botucatu - UNESP


Prof. Dr. CIRO ANTONIO RO SOLEM

Produção e Melhoramento Vegetal / Faculdade de Ciências Agrônômicas de Botucatu - UNESP


Prof. Dr. PAULO SÉRGIO PAVINATO

Ciência do Solo / Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz


Prof. Dr. FÁBIO FERNANDO DE ARAÚJO

Agronomia / Universidade do Oeste Paulista

Botucatu, 12 de dezembro de 2019.

Ào meu pai,
Jeronildo (*in memoriam*),
dedico

AGRADECIMENTOS

A Deus, pelas bençãos.

À Faculdade de Ciências Agronômicas – UNESP e ao Programa de Pós-graduação em Agronomia – Agricultura.

À Universidade Federal do Acre – UFAC.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela bolsa do Programa Novo Prodoutoral concedida (Edital nº 15/2017-PROPEG-UFAC).

Ao Prof. Dr. Juliano Calonego, pela orientação, dedicação, profissionalismo e confiança.

Ao Prof. Dr. Ciro Rosolem e à Profa. Dra. Rejane, por ter contribuído no desenvolvimento desse trabalho, por meio de seus ensinamentos e sugestões.

Ao Prof. Dr. Dirceu, pela atenção dispensada, sempre atencioso.

Aos demais professores do Programa de Pós-Graduação em Agricultura, pelos ensinamentos repassados.

Aos funcionários e alunos do Laboratório de Relações Solo-Planta da FCA – UNESP, em especial à Iara e estagiários Vinícius, Júlia e Dariele pelo auxílio nas análises.

Aos funcionários e alunos do Laboratório de Biologia Molecular do Hemocentro de Botucatu, Faculdade de Medicina, UNESP, em especial ao Leonardo e à Flávia pela ajuda e disposição sempre.

Ao Prof. Dr. Fábio do Laboratório de Biologia do Solo da Universidade do Oeste Paulista - Faculdade de Ciências Agrárias – UNOESTE, pelo apoio nas análises.

Ao Dr. Carlos Nascimento, pela amizade e conselhos prestados durante essa trajetória.

Aos funcionários da Fazenda do Lageado – UNESP, por todo apoio na condução dos experimentos no campo.

Aos funcionários da Biblioteca do Lageado – FAC, pelo pronto atendimento sempre.

Aos amigos Igor, Caio, Gustavo, Douglas, Letícia Frare, Michely, Jusley, Letícia Pastore, Leandro, Bárbara, Marcelo, Tiara, João Paulo, João Bossolani e Ruan pelo companheirismo e por me auxiliarem nessa jornada.

Aos amigos de longa data Leonardo, Denis, Alan, Alisson, Fabrício, Paulão, Maísa, Waldiane, Alexandre e Marcos, que sempre me acompanham.

Aos amigos Jeunes, Dayane, Laura e Elenice pelos momentos de alegria e amizade.

À minha esposa Lydia e filha Alice, por serem minha fonte de alegria. E aos meus pais, Jeronildo (*in memoriam*) e Lúcia; irmãos, Guilherme e Ivna; avós e familiares pelos momentos agradáveis em família. Todos são essenciais na minha vida.

E a todos que de alguma forma contribuíram para a realização desse trabalho.

“Through hard work, perseverance and a faith in God, you can live your dreams”.

Benjamin Carson.

RESUMO

As plantas de cobertura em sucessão nos cultivos agrícolas realizam a ciclagem de P por diversos mecanismos, que podem contribuir para o aumento da eficiência da utilização do P pelas culturas cultivadas subsequentes. Além disso, o cultivo de plantas de cobertura na entressafra modifica a comunidade bacteriana do solo, que tem o potencial de modificar seu ambiente químico. O objetivo do presente trabalho foi avaliar a disponibilidade do fósforo e a comunidade microbiana do solo em diferentes sucessões de culturas conduzidas em SSD por 14 anos. A pesquisa foi realizada nas safras 2016/2017 e 2017/2018, em Nitossolo Vermelho distroférrico, estruturado, de textura argilosa. A área é conduzida na Fazenda Experimental Lageado, UNESP, Botucatu-SP. Os sistemas de sucessão avaliados foram constituídos pelos seguintes cultivos de primavera: milheto (*Pennisetum glaucum* L.), sorgo forrageiro (*Sorghum bicolor* (L.) Moench), crotalária (*Crotalaria juncea* L.), além de uma área de pousio/escarificação. Na camada superficial do solo (0-10 cm), os maiores teores de P inorgânico lábil foram nas sucessões sorgo-soja e pousio/escarificação-soja. Porém, em profundidade, o sorgo obteve maior teor de P inorgânico lábil. A escarificação do solo realizada na área do pousio/escarificação na camada de 0-20 cm aumentou a concentração de P orgânico lábil. Os sistemas de sucessão de culturas com sorgo e crotalária foram eficientes na ciclagem de P. Os atributos químicos do solo, após 14 anos de sucessão de culturas em sistema de semeadura direta, foram modificados pelo cultivo das plantas de cobertura. Em relação aos atributos microbiológicos do solo, as plantas de cobertura proporcionaram aumento nas concentrações de carbono da biomassa microbiana (C_{mic}) e influenciaram na maior atividade microbiológica do solo. As alterações nos atributos químicos e biológicos do solo pelos sistemas de sucessão de culturas influenciou na composição e abundância das bactérias solubilizadoras de P, principalmente os teores Ca, H+Al e o quociente microbiano (qMIC). Com o cultivo de plantas de cobertura, quanto maior os teores de P_i lábil e P_o moderadamente lábil maior a abundância das bactérias solubilizadoras de P.

Palavras-Chave: Fracionamento de P. Plantio direto. 16S rDNA. Microbiologia do solo.

ABSTRACT

The cover crops in succession on agricultural rotation perform P cycling by various mechanisms, which may contribute to the increased use efficiency P by subsequent crops. Cultivation of cover crops in inter-harvest changes the soil bacterial community. Like plants, bacteria have the potential to modify their chemical environment by absorbing and releasing ions and organic and inorganic molecules increasing the P availability in soil. The objective of this work was to evaluate the P availability and soil microbial community in different crops succession in no-tillage system conducted for 14 years. The research was carried out during the cycles of 2016/2017 and 2017/2018, in the Typic Rhodudalf. The area is conducted at Experimental Farm Lageado, UNESP, Botucatu-SP. The succession systems evaluated were made up of the following spring crops: pearl millet (*Pennisetum glaucum* L.), forage sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench), sunn hemp (*Crotalaria juncea* L.) and besides a fallow/chisel area. In the soil surface layer (0-10 cm), the highest contents of labile inorganic P were in the sorghum-soybean and fallow-soybean successions. However, in depth, sorghum obtained higher labile inorganic P content. For the non-labile inorganic P content in the surface layer, the crop succession systems did not show significant differences. Soil chiseling in the fallow area in the 0-20 cm layer increased the concentration of labile organic P. Sorghum and sunn hemp crop succession systems were efficient in P cycling. The chemical attributes of the soil, after 14 years of succession of crops under no-tillage system, were modified by cultivation of cover crops. Soil microbiological attributes, the cover crops promoted an average increase in soil microbial biomass carbon (C_{mic}) concentrations and influenced the higher soil microbiological activity. Changes in soil chemical and biological attributes by crop succession systems influenced the composition and abundance of P solubilizing bacteria, especially the Ca, H+Al and microbial quotient (qMIC) contents. With the cultivation of cover crops, the higher concentration of labile inorganic phosphorus and moderately labile organic phosphorus, greater will be abundance of phosphorus solubilizing bacteria.

Keywords: Fractionation P. No-till. 16S rDNA. Soil microbiology.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Precipitação pluvial (■) e temperaturas máximas (—) e mínimas (—) registradas, durante o período de janeiro a dezembro de 2016, 2017 e 2018.....	31
Figura 2 – Acúmulo de P na MMS de parte aérea e grãos para o cultivo de soja e tritcale e na MMS de parte aérea no cultivo da primavera nos sistemas de sucessão de culturas durante as safras 16/17 (A) e 17/18 (B). MI = milho; SO = sorgo; CR = crotalária e PO = pousio/escarificação. Letras minúsculas distintas para os sistemas de sucessão de culturas diferem entre si pelo teste LSD ($p \leq 0,05$).....	43
Figura 3 – Acúmulo de P na MMS da raiz nos sistemas de sucessão de culturas durante a safra 2016/2017. MI = milho; SO = sorgo; CR = crotalária e PO = pousio/escarificação. Letras minúsculas distintas para os sistemas de sucessão de culturas diferem entre si pelo teste LSD ($p \leq 0,05$).....	46
Figura 4 – P inorgânico lábil (A), moderadamente lábil (B) e não lábil (C) do solo nas parcelas milho (MI), sorgo (SO), crotalária (CR) e pousio/escarificação (PO), nas camadas de 0-10, 10-20, 20-40 e 40-60 cm no ano de 2017. Letras minúsculas distintas para os sistemas de sucessão de culturas em cada profundidade diferem entre si pelo teste LSD ($p \leq 0,05$).....	48
Figura 5 – P orgânico do solo (lábil, moderadamente lábil e não lábil) nas parcelas milho (MI), sorgo (SO), crotalária (CR) e pousio/escarificação (PO), nas camadas de 0-10, 10-20, 20-40 e 40-60 cm no ano de 2017. Letras minúsculas distintas para os sistemas de sucessão de culturas em cada profundidade diferem entre si pelo teste LSD ($p \leq 0,05$).....	51
Figura 6 – Contribuição relativa (%) do P lábil, Moderadamente lábil e não lábil (A), do P orgânico total e P inorgânico total (B) e do P orgânico lábil e inorgânico lábil (C) do solo nas parcelas milho (MI), sorgo (SO), crotalária (CR) e pousio/escarificação (PO), na camada de 0-20 cm no ano de 2017.....	54

Figura 7 – Alteração da alfa-diversidade da comunidade bacteriana do solo nas parcelas milho, sorgo, crotalaria e pousio/escarificação. A diversidade foi quantificada pelo índice de Shannon (H') com base nas OTUs encontradas a 97% de similaridade.....	83
Figura 8 – Análise de coordenadas principais (PCoA) revelando diferenciações entre as comunidades bacterianas do solo nas parcelas milho, sorgo, crotalaria e pousio/escarificação. Dados baseados na distância métrica de UniFrac.....	84
Figura 9 – Abundância total de filos bacterianos do solo nas parcelas milho (MI), sorgo (SO), crotalaria (CR) e pousio/escarificação (PO).....	86
Figura 10 – Diagrama de Venn representando o número de OTUs da comunidade bacteriana do solo nas parcelas milho, sorgo, crotalaria e pousio/escarificação.....	88
Figura 11 – Abundância a nível de gênero da comunidade bacteriana do solo nas parcelas milho (MI), sorgo (SO), crotalaria (CR) e pousio/escarificação (PO). Dados baseados nos gêneros relatados na literatura como solubilizadores de P.....	89
Figura 12 – Análise de redundância (RDA) da comunidade bacteriana e propriedades químicas e microbiológicas do solo (A) e entre as frações orgânicas e inorgânicas de P (B) nas parcelas milho (MI), sorgo (SO), crotalaria (CR) e pousio/escarificação (PO). Os gêneros foram selecionados como solubilizadores de P baseada no gene 16S rDNA. As setas azuis indicam os gêneros. As setas pretas indicam as propriedades químicas e microbiológicas do solo. A significância dessas correlações foi avaliada pelo teste de permutação de Monte Carlo e é indicado pela cor vermelha ($p \leq 0,05$). As linhas tracejadas indicam agrupamento significativo pela PERMANOVA ($p \leq 0,01$).....	91

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Caracterização química em 2003 e distribuição granulométrica em 2017 do solo da área experimental.....	30
Tabela 2 – Teores de P nas folhas diagnósticas de tritcale dos anos 2016 e 2017 e de soja das safras 2016/2017 e 2017/2018.....	38
Tabela 3 – Massa de matéria seca da parte aérea (MMS-PA), produtividade de grãos e teor de P na massa de matéria seca da parte aérea (P na MMS-PA) e teor de P na massa de matéria seca dos grãos (P na MMS-Grãos) dos cultivos de tritcale e plantas de cobertura das safras de 2016 e 2017 e de soja nas safras 2016/2017 e 2017/2018.....	39
Tabela 4 – Acúmulo de massa de matéria seca da raiz (MMS-Raiz) e teor de P na matéria seca da raiz (P na MMS-Raiz) dos cultivos de tritcale, primavera e soja na safra 2016/2017.....	45
Tabela 5 – pH, teores de P, K, Ca, Mg e H+Al, V%, teor de N, Amônio e carbono orgânico total (COT) do solo nas parcelas milheto, sorgo, crotalária e pousio/escarificação, na camada de 0-10 cm no ano de 2017.....	77
Tabela 6 – Carbono microbiano (Cmic), quociente metabólico (qCO ₂), quociente microbiano (qMIC), Respiração basal do solo (RBS), desidrogenase e fosfatase ácida do solo nas parcelas milheto, sorgo, crotalária e pousio/escarificação, na camada de 0-10 cm no ano de 2017.....	80
Tabela 7 – Beta-diversidade da comunidade bacteriana do solo pela análise PERMANOVA nas parcelas milheto (MI), sorgo (SO), crotalária (CR) e pousio/escarificação (PO).....	85

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL.....	21
CAPÍTULO 1 – Plantas de cobertura alteram a disponibilidade de fósforo no solo.....	26
1.1 Introdução.....	27
1.2 Material e métodos.....	29
1.2.1 Localização e características da área experimental.....	29
1.2.2 Histórico da área e rotações de cultura.....	30
1.2.3 Delineamento experimental e tratamentos.....	32
1.2.4 Condução do experimento.....	32
1.2.4.1 Semeadura e cultivo do triticale em 2016 e 2017.....	32
1.2.4.2 Semeadura e condução das plantas de primavera em 2016 e 2017.....	33
1.2.4.3 Semeadura e condução da soja nas safras 2016/2017 e 2017/2018.....	33
1.2.5 Avaliações.....	34
1.2.5.1 Avaliação do material vegetal.....	34
1.2.5.2 Coletas e análises de solo.....	36
1.2.5.3 Fracionamento do Fósforo do solo.....	36
1.2.6 Análise estatística.....	37
1.3 Resultados e discussão.....	37
1.3.1 Avaliação do material vegetal.....	37
1.3.2 Avaliação da disponibilidade de P no solo.....	46
1.3.2.1 P inorgânico lábil, moderadamente lábil e não lábil.....	46
1.3.2.2 P orgânico lábil, moderadamente lábil e não lábil.....	50
1.3.2.3 Distribuição dos compartimentos de P na camada de 0-20 cm.....	53
1.4 Conclusões.....	56
Referências.....	57

CAPÍTULO 2 – Diversidade bacteriana e disponibilidade de fósforo do solo em sistemas de sucessão de culturas.....	65
2.1 Introdução.....	66
2.2 Material e métodos.....	69
2.2.1 Coletas e análises de solo.....	70
2.2.2 Avaliações.....	71
2.2.2.1 Determinação de Amônio.....	71
2.2.2.2 Carbono orgânico e Nitrogênio total.....	71
2.2.2.3 Análises microbianas.....	71
2.2.2.4 Avaliação das comunidades bacterianas do solo.....	75
2.2.3 Análise estatística.....	75
2.3 Resultados e discussão.....	77
2.3.1 Fertilidade do solo.....	77
2.3.2 Biomassa microbiana e atividade enzimática do solo.....	80
2.3.3 Diversidade microbiana do solo sob cultivo de plantas de cobertura por inferência do gene 16S rDNA.....	83
2.3.4 Correlação dos gêneros bacterianos com a fertilidade e biomassa microbiana do solo.....	90
2.4 Conclusões.....	95
Referências.....	96
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	111
REFERÊNCIAS.....	113
APÊNDICE.....	117
ANEXOS.....	119

INTRODUÇÃO GERAL

Os solos sob atividade agrícola de longa duração com sucessão de culturas e aportes sequenciais de fósforo (P), em sistema de semeadura direta (SSD), necessitam de um sistema de produção com eficiência no uso do P. Pois existem diversos fatores que influenciam no dreno de P para as frações de menor labilidade, dificultando sua absorção pelas plantas. As concentrações de P disponíveis na solução do solo são baixas devido à alta reatividade do P inorgânico (Pi), que resulta na retenção nos coloides do solo reduzindo sua disponibilidade para as plantas, o que torna o P um dos nutrientes mais limitantes para a produção agrícola brasileira (MESQUITA FILHO; TORRENT, 1993; NOVAIS; SMYTH, 1999).

Com a menor disponibilidade de P, a maioria dos processos metabólicos dos vegetais podem ser afetados, tais como síntese de ácidos nucleicos, fotossíntese, respiração, fixação do N₂, ativação e inativação enzimática, fatores estes que impedem o melhor rendimento da planta (VANCE et al., 2003). Por outro lado, para manter altos rendimentos das culturas graníferas e ao mesmo tempo aumentar a disponibilidade de P nesses solos com alta capacidade de adsorção, têm-se usado adubações fosfatadas cada vez maiores e acima do que a planta exporta/absorve (LEITE et al., 2017).

O P proveniente da adubação pode ser complexado em frações orgânicas e inorgânicas. Os compostos fosfatados inorgânicos estão presentes na solução do solo, na estrutura dos minerais fosfatados do solo, adsorvidos ou complexados aos compostos inorgânicos (GATIBONI et al., 2013). Em solos ácidos, a maior presença de óxidos e hidróxidos de Fe³⁺ e Al³⁺ diminuem a disponibilidade de Pi, pela maior adsorção a esses óxidos e hidróxidos (SANTOS et al., 2008). As ligações covalentes são formadas com o Pi carregado negativamente, tornando-o recalcitrante para as reações de troca e com o tempo essas ligações vão diminuindo a capacidade de dessorção de P. O Pi do solo encontra-se em compostos insolúveis (baixa disponibilidade) ou como íons ortofosfatos solúveis, sendo as formas HPO₄²⁻ e H₂PO₄⁻ preferencialmente absorvidas pelas plantas (SCHACHTMAN et al., 1998; CONDRON; TIESSEN, 2005).

Em frações orgânicas o P para ser absorvido pelas plantas depende da sua mineralização. Os grupos de P orgânico (Po) com maior presença na matéria orgânica são os fosfatos de inositol, fosfolipídios e ácidos nucleicos. Essas formas provêm da

oxidação da matéria orgânica e da ciclagem da biomassa microbiana no solo (OBERSON et al., 1996). Os fosfatos de inositol são as formas de Po de maior abundância no solo. São fosfatos que apresentam alta reatividade à adsorção aos coloides minerais e assim menos suscetível a mineralização (GILES et al., 2011). Os fosfolipídios representados pelos fosfoglicerídeos e os ácidos nucleicos são rapidamente mineralizados e, assim, combinados com outros constituintes do solo ou incorporados na biomassa microbiana (BM), motivo pelo qual ocorrem em menor frequência (TURNER; NEWMAN, 2005).

As diferentes frações de P variam entre os tipos de solo e o sistema de manejo do solo. Dessa forma, os diferentes níveis de disponibilidade dessas frações para as plantas podem ser compreendidos por meio do método de extração sequencial das formas de P do solo, proposto por Hedley et al. (1982) com modificações de Condrón e Goh (1989). A partir do fracionamento é possível entender o efeito do manejo do solo na dinâmica das frações de P (OLIVEIRA et al., 2002). O Pi com ligações de ponte de cátions ou adsorvidos aos coloides do solo e o Po ligado à matéria orgânica são agrupados em formas lábeis, moderadamente lábeis e não lábeis (GATIBONI et al., 2013). A extração de P inicia pela resina de troca aniônica (RTA) e pela solução de NaHCO_3 , as quais são consideradas as formas lábeis que estão facilmente disponíveis às plantas. Após, tem-se o P extraído pela solução de NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ e HCl 1 mol L^{-1} , que compõem a forma moderadamente lábil, que pode ser considerado como um tamponante do P, e o P extraído pela solução extratora NaOH $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ e digestão sulfúrica recupera o P não lábil e residual, sendo que em determinados solos o P extraído por NaOH $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ pode comportar-se como um tamponante e o HCl como não disponível (CROSS; SCHLESINGER, 1995; NOVAIS; SMYTH, 1999; RHEINHEIMER et al., 2000; DAYTON et al., 2017).

O estudo da estratificação vertical das formas de P do solo influenciadas pelo cultivo de plantas de cobertura em SSD é importante para entender a dinâmica do P no solo. Em SSD, devido à ausência do revolvimento do solo, ocorre a formação de um gradiente de concentração de P na camada superficial (SCHLINDWEIN; ANGHINONI, 2000; OLIVEIRA et al., 2002), contudo as plantas de cobertura por meio do sistema radicular podem contribuir no enriquecimento de P em profundidade. Corrêa et al. (2004) observaram a movimentação de P em profundidade e que a forma como o P se movimenta no perfil do solo é diferente de acordo com a planta de cobertura, como, por exemplo, o milho na forma de Pi e o sorgo-de-guiné na forma

de Po. Nunes et al. (2011), estudando o acúmulo de P em profundidade em SSD conduzido por 14 anos, observaram a redistribuição de P até 20 cm de profundidade pela decomposição de raízes da soja e do milho. Leite et al. (2016), avaliando a influência das plantas de cobertura nas frações de Po e Pi no solo em SSD cultivado por 12 anos, verificaram aumento do Po moderadamente lábil no cultivo sob crotalária em relação ao cultivo do milho e pousio/escarificação na camada superficial. O acúmulo de P nesse compartimento não afetou o P resina, impedindo, assim, a adsorção de P nos colóides dos minerais do solo.

Dessa forma, as plantas de cobertura em sucessão nos cultivos agrícolas possibilitam a ciclagem de P por meio de diferentes mecanismos inerentes de cada espécie, que podem contribuir para o aumento da eficiência da utilização do P pelas culturas cultivadas subsequentes. Os principais mecanismos de absorção de P pelas plantas são: alteração das características morfológicas da raiz permitindo maior exploração do volume do solo, aumento da capacidade de absorção reduzindo o Pi rizosférico e permitindo maior difusão de P, liberação de substâncias para aumentar a taxa de micorrização, aumento da diversidade microbiana por excreção de exsudatos radiculares, liberação de ácidos orgânicos para solubilização de P, excreção de fosfatases ácidas e alterações no pH promovendo a dissolução de fosfatos de reações de complexação (HINSINGER, 2001; YADAV; TARAFDAR, 2001; BUCHER, 2007; LYNCH; BROWN, 2008) .

Nesse aspecto, assim como as plantas, as bactérias do solo têm o potencial de modificar seu ambiente químico. Com a redução do pH nas proximidades das bactérias ocorre o aumento da solubilidade de P, por meio da absorção e liberação de íons (H^+ e NH_4^+), moléculas orgânicas, complexos ou compostos de dissolução mineral e CO_2 proveniente da respiração microbiana. As bactérias do solo possuem outros mecanismos que contribuem no aumento da disponibilidade de P, por exemplo, liberação de enzimas extracelulares, como a fosfatase ácida que age na mineralização bioquímica de P; excreção de ácidos orgânicos, que podem atuar na dessorção do fitato dos colóides do solo facilitando sua mineralização pelas enzimas; e liberação de polissacarídeos, que auxiliam no desenvolvimento radicular da planta e na absorção de P (WIELBO; SKORUPSKA, 2008; BEN FARHAT et al.; 2009; GYANESHWAR et al., 2002; PARK et al., 2009; SHARMA et al., 2013).

Muitos gêneros de bactérias estão envolvidos na solubilização e ou mineralização de P, como as *Pseudomonas* sp., *Bacillus* sp., *Burkholderia* sp., *Enterobacter* sp.,

Paenibacillus sp., *Bradyrhizobium* sp., *Streptomyces* sp., *Micromonospora* sp., *Azospirillum* sp., *Mesorhizobium* sp., *Pantoea* sp., *Actinomadura* sp., *Arthrobacter* sp., *Flavobacterium* sp., e *Sphingomonas* sp. (OLIVEIRA et al., 2009; RICHARDSON et al., 2009; SHARMA et al. 2013; ALORI et al., 2017; ARIF et al., 2017; HALLAMA et al., 2019).

Dessa forma, é importante que o sistema de cultivo possibilite maior diversidade de microrganismos no solo. Pois, é considerado um indicador de qualidade do solo e tem potencial de subsidiar informações que possam auxiliar na escolha de sistemas de produção com maior potencial agrícola, devido aos microrganismos do solo participarem na ciclagem de P (ALKORTA et al., 2003).

O solo é um ambiente com múltiplas interações entre fatores biótico e abióticos, o que dificulta a escolha de um método que melhor reflete a diversidade microbiana. Nesse contexto, o sequenciamento de nova geração (NGS) possibilita acessar o DNA do solo permitindo ampla visão da biodiversidade e abundância das unidades taxonômicas operacionais em nível de gênero e monitoramento de alteração de uma comunidade bacteriana. Além de obter genomas de microrganismos não cultiváveis em laboratório. Dessa forma, o NGS é uma eficiente ferramenta nos estudos da microbiota e identificação de bactérias no solo (FIERER; JACKSON; 2006; TRINGE; HUGENHOLTZ, 2008; BUKIN et al., 2019).

Como o uso de adubos verdes para a cobertura do solo na entressafra possibilita a melhoria da fertilidade do solo, são importantes estudos referente às interações do SSD de longa duração com plantas de cobertura na dinâmica e distribuição de P no perfil dos solos para entender as modificações na labilidade de P ocasionadas pelas plantas. Não é apenas a labilidade de P que pode ser alterada pelas plantas de cobertura, a atividade microbiana do solo também pode ser característica de cada sistema de sucessão estudados, o que pode influenciar na oxidação da matéria orgânica do solo e consequentemente na labilidade de P.

Vale salientar que, na presente área de estudo ao longo dos 14 anos de cultivo em diferentes sistemas de sucessão de culturas, observou-se aumento de P em profundidade, o que motivou a investigação sobre qual ou quais sistemas de sucessão de cultura que influenciam nesse aumento de P. Os resultados médios de fósforo no solo em estudos anteriores em toda a área experimental, extraído por resina, nas camadas de 20-40 cm e 40-60 cm foram de 3,3 e 2,3 mg dm⁻³, respectivamente, em 2003 (CALONEGO, 2007), enquanto em 2012, os valores foram de 20,5 e 10,5 mg

dm-3, respectivamente (RIGON, 2013). Diante do exposto, o objetivo do presente trabalho foi avaliar a disponibilidade do P e as alterações na comunidade bacteriana do solo em diferentes sucessões de culturas conduzidas em SSD por 14 anos.

CAPÍTULO 1 – Plantas de cobertura alteram a disponibilidade de fósforo no solo

Resumo

O uso de plantas de cobertura em sistemas de semeadura direta altera a disponibilidade de fósforo (P) para a cultura subsequente. Nesses sistemas, o não revolvimento do solo forma um gradiente de concentração de P na camada superficial, contudo o cultivo de plantas de cobertura pode contribuir com o aumento dos teores de P em profundidade pela decomposição de raízes. O objetivo desse trabalho consistiu em verificar o efeito das espécies de plantas de cobertura na disponibilidade de P no solo e aproveitamento pelas plantas em sucessão e o acúmulo de P no solo em sistema de semeadura direta conduzido por 14 anos. O estudo foi realizado nas safras 2016/2017 e 2017/2018, em Nitossolo Vermelho, cujos tratamentos foram instalados e mantidos desde 2003, em Botucatu-SP. O delineamento experimental utilizado foi o de blocos casualizados com quatro repetições, sendo as parcelas constituídas pelos cultivos de primavera: milho, sorgo forrageiro, crotalária, além de uma área de pousio/escarificação. Os cultivos de primavera foram avaliados entre os meses de outubro e novembro de 2016 e 2017, em sucessão ao cultivo de triticle com safra de outono-inverno. Nas safras de verão 2016/2017 e 2017/2018 foi cultivado soja entre os meses de dezembro e março. A disponibilidade de P foi avaliada pelo método de fracionamento de P. Em geral, nos dois anos de avaliação o acúmulo de P na parte aérea foi superior no cultivo da crotalária, sendo em média 25% superior ao milho em 2016 e 40% maior que o sorgo em 2017. Os maiores teores de P inorgânico lábil foram nas sucessões sorgo-soja e pousio/escarificação-soja, apresentando valores superiores a 50 mg kg⁻¹ de P na camada de 0-10 cm de solo. Porém, nas demais camadas analisadas os cultivos de plantas de cobertura obtiveram maior disponibilidade de P inorgânico lábil. Sistemas de sucessão de culturas com uso de plantas de cobertura recuperaram 100% do P adubado no cultivo da soja.

Palavras-chave: *Glycine max*. Rotação de culturas. Adubo verde. Ciclagem de P.

Long-term no-till cover crops affect soil phosphorus availability

Abstract

The use of cover crops in no-tillage systems changes phosphorus (P) availability on the following crop. In these systems, forms a gradient of P concentration in the superficial soil layer. However, the cultivation of cover crops can contribute to the increase in depth phosphorus content by root decomposition. The objective of this work was to verify the effect of cover crops species on soil phosphorus availability and use by successive plants and the accumulation of soil P in no-tillage system conducted for 14 years. The study was carried out during the harvest of 2016/2017 and 2017/2018, in the Typic Rhodudalf, whose treatments have been installed and maintained since 2003, in Botucatu-SP. The experimental design was a randomized block design with four replications, and the plots consisted of spring crops: pearl millet, forage sorghum, sunn hemp and besides of fallow/chisel area. Spring cultivations were evaluated between October and November 2016 and 2017, in succession to triticale cultivation in the fall-winter crop. In the summer crops 2016/2017 and 2017/2018 soybean was cultivation between December and March. Available-P evaluation was by P fractionation. In general, in the two years of evaluation the accumulation of P in the shoot dry matter was higher in sunn hemp cultivation, on average 25% higher than pearl millet in 2016 and 40% higher than sorghum in 2017. The highest contents of labile inorganic P were in the sorghum-soybean and fallow/chisel-soybean successions, with values higher than 50 mg kg⁻¹ of P in the 0-10 cm soil layer. However, in the other layers analyzed, cover crops obtained higher availability of labile inorganic P. The crops succession systems using cover crops recovered 100% of P fertilized in soybean.

Keywords: *Glycine max*. Crop rotation. Green manure crops. P cycling.

1.1 Introdução

A soja (*Glycine max* L. Merrill) é a principal cultura produtora de grãos no Brasil, sendo produzidos, na safra 2018/2019, 115 milhões de toneladas de grãos, fazendo do Brasil o segundo maior produtor do mundo, ficando atrás dos EUA que alcançou nessa safra a marca de 120 milhões de toneladas (CONAB, 2019). Na safra

2016/2017 o cultivo de soja ocupou no bioma do Cerrado 17 milhões de hectares (RUDORFF; RISSO, 2018). A maioria das áreas produtoras de soja no Brasil está sujeita à adsorção de P aos colóides do solo, reduzindo assim a sua disponibilidade para as plantas, embora o P dentre o NPK seja um dos nutrientes menos demandados pela soja, a menor disponibilidade limita o desenvolvimento da cultura (OLIVEIRA JÚNIOR et al., 2010). O aumento da produtividade de grãos de soja com o aumento da disponibilidade de P demonstra a alta relação desse nutriente com incrementos de produtividade, principalmente nos solos do Cerrado (SILVA et al., 2019).

O Sistema de semeadura direta, quando utiliza plantas de cobertura com culturas produtoras de grãos, promove o aumento da matéria orgânica do solo e reciclagem de P resultando em maior produtividade, seja pelo acúmulo de resíduos em superfície ou decomposição das raízes (BOER et al., 2007; CRUSCIOL; SORATTO; 2010). As culturas de cobertura podem aumentar a eficiência dos fertilizantes adicionados ao solo por meio da redução da fixação de P (KUO et al., 2005). Em que ocorre competição entre ácidos orgânicos (cítrico e málico) e pelo P nos sítios de adsorção na superfície dos óxidos de Fe e Al ou pelo seu bloqueio (ANDRADE et al. 2003; JANEGITZ et al., 2013).

As plantas de cobertura como milheto (*Pennisetum glaucum* L.), sorgo forrageiro (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) e crotalária juncea (*Crotalaria juncea* L.) são cultivadas em todo o país em diversos sistemas de produção e possuem boa adaptabilidade em diferentes climas e tolerância a regimes pluviométricos limitados. Janegitz et al., (2017), em pesquisa sobre o efeito das plantas de cobertura na disponibilidade de P, verificaram que o cultivo do sorgo reduziu a adsorção de P em relação ao milheto. A recuperação de P pela crotalária para a cultura subsequente foi 1,6 vezes maior em relação ao milheto (SILVA et al., 2012). A concentração de P nos resíduos culturais determina a quantidade de P ciclado pela cultura, que pode variar de 1 a 30 kg de P ha⁻¹, dependendo da espécie e da disponibilidade de P no solo (HALLAMA et al., 2019).

Rosolem e Calonego (2013), estudando o balanço de P em sistemas de produção em sucessão soja-tritcale, observaram que o teor de P disponível foi reduzido na camada de 0-60 cm sob milheto e pousio/escarificação e aumentou sob crotalária e sorgo. A redução do P no cultivo do milheto ocorreu mais pelo decréscimo da disponibilidade de P, onde ocorreu alta fixação de P do que pela exportação desse nutriente.

A quantificação do P do solo em diferentes reservatórios auxilia na avaliação da disponibilidade dessas frações para a planta (YANG et al., 2012; SCHMITT et al., 2017). O P proveniente da adubação passa por diversas reações no solo com compostos orgânicos e inorgânicos. A extração sequencial de P proposto por Hedley et al. (1982) extrai frações de P ligadas a esses compostos permitindo o conhecimento da labilidade de P no solo (GATIBONI et al., 2013). O fracionamento de Hedley tem sido utilizado como indicador do P disponível para a planta (FOLTRAN et al., 2019), podendo mostrar as alterações da disponibilidade de P ocasionadas pelo cultivo de plantas de cobertura (KAMH et al., 1999; LEITE et al., 2016; TELES et al., 2017).

Dada a importância do P nos sistemas de produção agrícola brasileiro e pela elevada capacidade de adsorção nesses solos, o objetivo desse trabalho consistiu em verificar o efeito das espécies de plantas de cobertura na disponibilidade e o acúmulo de P no solo em sistema de semeadura direta conduzido por 14 anos.

1.2 Material e Métodos

1.2.1 Localização e características da área experimental

O experimento foi conduzido na Fazenda Experimental Lageado da FCA/Unesp, em Botucatu-SP, durante as safras de 2016/2017 e 2017/2018. A localização geográfica dessa área está definida pelas seguintes coordenadas: latitude 22°48'57" S, longitude 48°25'41" W e altitude de 786 m. O clima da região é o mesotérmico com inverno seco (Cwa), segundo classificação de Köppen. A estação seca ocorre entre os meses de maio a setembro. A precipitação média anual é de 1.400 mm, com temperatura média do mês mais quente superior a 22 °C e a do mês mais frio entre 3 e 18 °C. O solo da área experimental foi classificado como Nitossolo Vermelho distroférrico, estruturado, de textura argilosa (CARVALHO et al., 1983; EMBRAPA, 2018), com relevo suave ondulado.

Na Tabela 1 está apresentada a caracterização química do solo na área experimental em 2003 e a distribuição granulométrica do solo em 2017. Vale ressaltar que as análises apresentadas (Tabela 1) foram realizadas em área total. Durante a condução do experimento foram coletados os dados de precipitação e temperaturas máxima e mínima (Figura 1).

Tabela 1 – Caracterização química em 2003 e distribuição granulométrica em 2017 do solo da área experimental.

Profundidade	pH	M.O.	P _{resina}	H+Al	K	Ca	Mg	SB	CTC	V
(cm)	CaCl ₂	g dm ⁻³	mg dm ⁻³	-----mmol _c dm ⁻³ -----						%
0-5	5,4	31,8	37,1	56,0	4,7	37,5	15,9	58,1	114,1	50,9
5-10	4,6	27,2	25,9	91,0	3,0	28,4	11,2	42,6	133,6	31,9
10-20	4,6	25,9	15,2	97,2	2,5	35,2	15,7	53,4	150,5	35,4
20-40	4,8	22,4	3,3	68,7	1,1	46,3	15,0	62,4	131,1	47,6
40-60	5,1	22,0	2,3	63,5	0,2	56,7	11,5	68,3	131,9	51,8

Profundidade	Areia	Silte	Argila
(cm)	----- g kg ⁻¹ -----		
0-10	107	238	655
10-20	100	245	655
20-40	84	211	705
40-60	66	204	730

Fonte: Calonego (2007) e Rigon (2017).

1.2.2 Histórico da área e rotações de cultura

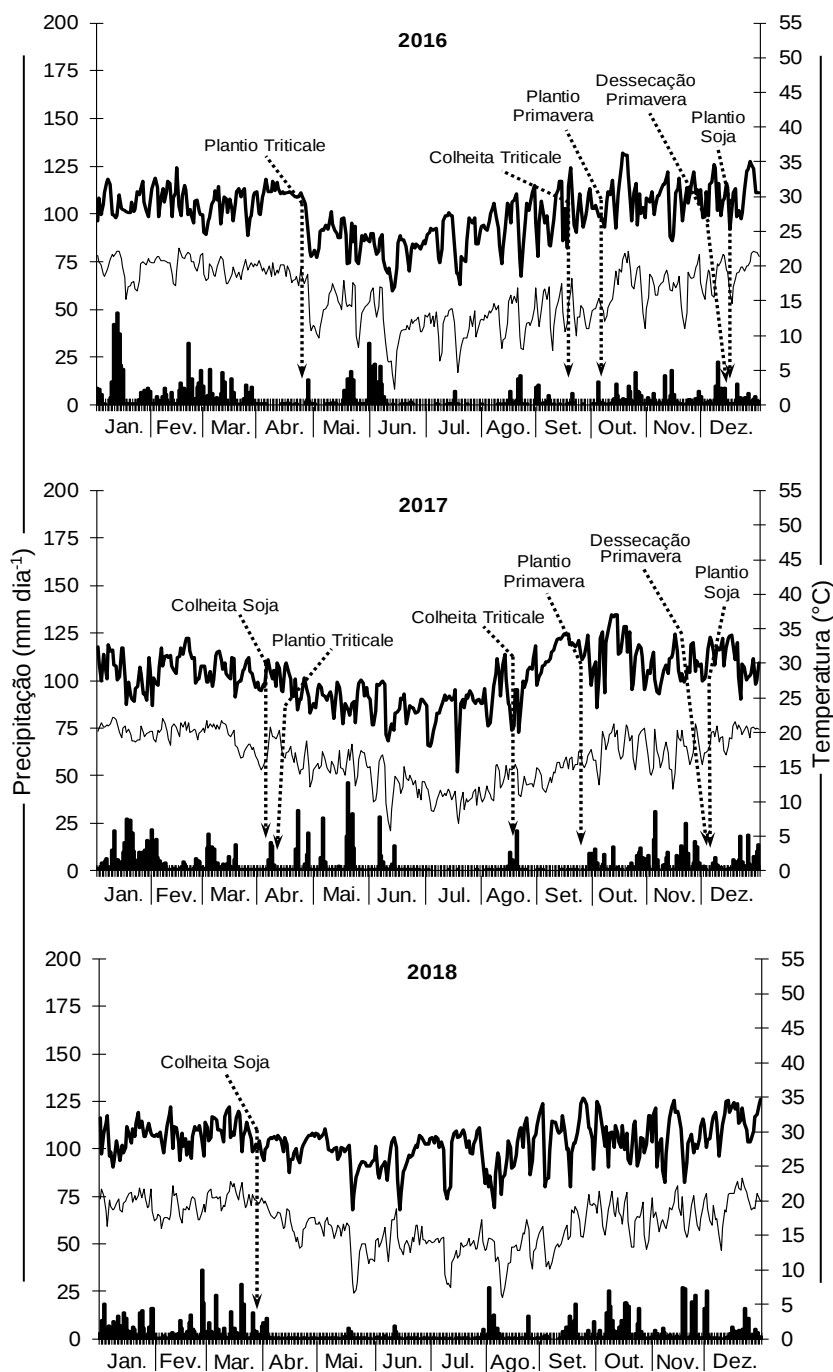
A área foi conduzida em SSD entre os anos de 1997 e 2002 com a rotação soja/aveia-preta/milho/triticale. A partir de 2003 foram iniciados os experimentos com sucessões de culturas com plantas de cobertura até 2017. O triticale (X *Triticosecale* Wittmack) é cultivado no outono/inverno. Após a colheita do triticale e com o início das chuvas de primavera (entre os meses de setembro e outubro) são cultivadas as espécies de cobertura, milheto (*Pennisetum glaucum* L.), sorgo forrageiro (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) e crotalária juncea (*Crotalaria juncea* L.), com intuito de produzir palhada para o cultivo da soja. Uma área em pousio/escarificação é mantida apenas na época da primavera, sem a presença de plantas de cobertura e foi escarificada com a profundidade de descompactação de 30 cm nos anos de 2003, 2009, 2011, 2013 e 2016. No verão, foi cultivada a cultura da soja (*Glycine max* L. (Merril)).

Não foi realizada adubação mineral nitrogenada nas culturas e a adubação com P e K foi realizada em linha de semeadura somente na soja. As adubações fosfatadas realizadas desde a implantação do experimento foram 30,5 kg ha⁻¹ de P entre os anos 2003 e 2008, 26,2 kg ha⁻¹ de P entre 2009 e 2010, 22,1 kg ha⁻¹ de P de 2011 a 2015 e 26,2 kg ha⁻¹ de P de 2016 a 2017. O somatório de adubação ao longo desses anos chegou a aproximadamente 400 kg ha⁻¹ de P, na forma de superfosfato triplo. As

adubações potássicas desde a implantação do experimento foram de 50 kg ha⁻¹ de K, na forma de cloreto de potássio.

Ao longo dos anos de condução do experimento foram realizadas aplicações de calcário de 1,8 t ha⁻¹ em 2009 e 2 t ha⁻¹ em 2013.

Figura 1 – Precipitação pluvial (■) e temperaturas máximas (—) e mínimas (—) registradas, durante o período de janeiro a dezembro de 2016, 2017 e 2018.



1.2.3 Delineamento experimental e tratamentos

O delineamento experimental utilizado foi o de blocos casualizados com quatro repetições. Dessa forma, são consideradas as parcelas os cultivos de primavera (milheto, crotalária, sorgo forrageiro e pousio/escarificação).

Cada parcela experimental foi demarcada com uma área útil de 40 m² (5 x 8 m). No cultivo do tritcale instalado em toda a área experimental, foram instaladas 29 linhas de semeadura com um espaçamento entrelinhas de 0,17 m em cada parcela. No cultivo das culturas de primavera foram semeados 29 linhas de milheto, sorgo e crotalária com um espaçamento entrelinhas de 0,17 m. A soja foi semeada em todas as parcelas com um espaçamento entrelinhas de 0,45 m, resultando em 11 linhas de semeadura. Os carregadores entre os blocos e entre as parcelas foram dimensionados com 4 m de largura. O experimento utilizou uma área total de 736 m² (46 x 16 m).

1.2.4 Condução do experimento

1.2.4.1 Semeadura e cultivo do tritcale em 2016 e 2017

Antecedendo a semeadura do tritcale em 2016 foi realizada o manejo das plantas daninhas por meio de aplicação do herbicida Glyphosate (2 kg ha⁻¹, 720 g e.a.) no dia 15/04/2016.

A cultura do tritcale foi semeada nos dois anos agrícolas em 25/04/2016 e 10/04/2017, por meio da semeadora-adubadora para semeadura direta de fluxo contínuo sem o uso de fertilizantes, utilizando 170 kg ha⁻¹ de sementes da cultivar IPR 111. Foi aplicado formicida a base de Sulfluramida nas duas semeaduras no dia 10/05/2016 e 30/04/2017. Para o controle de invasoras de folhas largas foi realizada uma aplicação de 2,4 D (0,35 L ha⁻¹) no início do perfilhamento nos dois plantios.

A colheita do tritcale foi realizada de forma manual nas duas safras nos dias 16/09/2016 e 18/08/2017 em uma área de 2,7 m² em cada parcela. As amostras foram trilhadas mecanicamente. O teor de umidade foi ajustado para 13% e os valores convertidos em kg ha⁻¹. O restante da área experimental foi colhida com colhedora automotriz no dia 20/09/2016 e 23/08/2017.

1.2.4.2 Semeadura e condução das plantas de primavera em 2016 e 2017

Após a colheita do tritcale nos anos agrícolas 2016 e 2017 foi realizado o manejo químico das plantas daninhas por meio da aplicação do herbicida Glyphosate (2 kg ha⁻¹, 720 g e.a.) no dia 23/09/2016 e 12/09/2017, respectivamente.

A semeadura das plantas de primavera foi realizada nos dois anos agrícolas em 05/10/2016 e 25/09/2017. Devido à escassez de chuva na época do plantio em 2017, ocorreu baixa taxa de germinação sendo necessário outra semeadura, realizada no dia 16/10/2017. As semeaduras foram realizadas por meio da semeadora-adubadora de fluxo contínuo para semeadura direta sem adubação. Foram utilizados em cada plantio 25 kg ha⁻¹ de sementes de milho cultivar BRS-1501, 30 kg ha⁻¹ de sementes de crotalaria juncea cultivar IAC KR-1 e 20 kg ha⁻¹ de sementes de sorgo forrageiro híbrido Podium.

Para o controle fitossanitário das plantas de cobertura foi aplicado inseticida Espinosade (0,03 L ha⁻¹) para ambos os plantios em 10/11/2016 e 22/11/2017 e foi aplicado formicida a base de Sulfluramida de acordo com a necessidade. A dessecação química das plantas de cobertura ocorreu no pré-florescimento das culturas em 10/12/2016 e 01/12/2017, por meio da aplicação de Glyphosate (2 kg ha⁻¹; 720 g e.a.). No ano agrícola de 2017, com o plantio atrasado das plantas de cobertura, a produção de matéria seca foi afetada, não tendo tempo suficiente para uma boa produção de palhada.

1.2.4.3 Semeadura e condução da soja nas safras 2016/2017 e 2017/2018

A cultivar de soja TMG 7062 RR foi semeada nas safras 2016/2017 e 2017/2018 em 15/12/2016 e 05/12/2017, respectivamente. Para a semeadura foi utilizada a semeadora-adubadora de fluxo contínuo, com população de semeadura de 445 mil sementes ha⁻¹. No tratamento das sementes foi usado o fungicida Carboxin + Thiran, o inseticida Tiametoxam e o inoculante *Bradyrhizobium* sp.

A adubação de semeadura foi realizada com 50 kg ha⁻¹ de K e 26,2 kg ha⁻¹ de P, na forma de cloreto de potássio e superfosfato triplo, respectivamente. Após a semeadura da soja na safra 2017/2018, o experimento foi afetado por veranico que atrapalhou o desenvolvimento da soja refletindo em menor produtividade em comparação a safra 2016/2017.

O controle de plantas daninhas nas duas safras foi realizado com aplicação do herbicida Glyphosate (0,75 kg ha⁻¹, 720 g e.a.) associado com o herbicida Setoxidim

(1,25 L ha⁻¹, 184 g e. a.) em 13/01/2017 e 10/01/2018. Na safra 2017/2018 foi aplicado, de forma preventiva, o fungicida Pyraclostrobin + Epoxiconazol (0,6 L ha⁻¹) para controle de doenças foliares e o inseticida Tiametoxam + Lambda-Cialotrin (0,2 L ha⁻¹) para controle de percevejos, em associação de calda no dia 16/01/2018. Nas duas safras foi aplicado, de forma preventiva, o fungicida Azoxystrobin + Cyproconazole (0,6 L ha⁻¹) e o inseticida Tiametoxam + Lambda-Cialotrin (0,2 L ha⁻¹) para controle de percevejos, em associação de calda em 24/01/2017 e 30/01/2018. Foi realizada outra aplicação, de forma preventiva, do fungicida Trifloxistrobina + Prothioconazol (0,4 L ha⁻¹) e do inseticida Tiametoxam + Lambda-Cialotrin (0,2 L ha⁻¹) para controle de percevejos, em associação de calda na safra 2016/2017 em 23/02/2017 e 07/03/2017 e na safra 2017/2018 em 07/03/2018.

A soja foi dessecada nas duas safras com Paraquate (2,0 L ha⁻¹) em 03/04/2017 e 21/03/2018. A colheita dos grãos na safra 2016/2017 foi realizada no dia 06/04/2017 com a colhedora de parcelas automotriz e na safra 2017/2018 foi realizada de forma manual. Nas duas safras foram coletadas de cada parcela três linhas centrais com 3 m de comprimento, perfazendo uma área de 2,7 m² e as amostras foram trilhadas mecanicamente. Nas duas safras o restante da área experimental foi colhida no mesmo dia com a colhedora de parcelas automotriz. O teor de umidade foi ajustado para 13% e os valores convertidos em kg ha⁻¹.

1.2.5 Avaliações

1.2.5.1 Avaliação do material vegetal

Para a quantificação do aporte dos resíduos culturais sobre o solo foram realizadas amostragens de material vegetal após a colheita das culturas graníferas e a dessecação das plantas de cobertura. As datas de coleta nos dois anos agrícolas foram: tritcale em 16/09/2016 e 18/08/2017, plantas de primavera em 10/12/2016 e 28/11/2017 e soja em 06/04/2017 e 27/03/201. As amostragens foram realizadas com uso de quadros de madeira com área 0,5 x 0,5 m (0,25 m²), lançados aleatoriamente em cada parcela. Essas amostras foram acondicionadas em sacos de papel e secos em estufa de aeração forçada a 60°C até massa constante para a determinação da massa da matéria seca (MMS) dos resíduos aportados, que foram convertidos para Mg ha⁻¹. Após a pesagem, o material foi moído e analisado o teor de P (MALAVOLTA

et al., 1997). Conhecendo-se o valor de MMS e o teor de P do material vegetal foi possível quantificar o acúmulo de P na MMS da parte aérea (MMS-PA) em kg ha^{-1} .

A coleta de raízes das plantas cultivadas na primavera ocorreu na dessecação em 2016 e a amostragem da soja e do triticale quando as plantas atingiram mais de 50% do florescimento em 2017. Para análise de raízes foram coletadas amostras de solo com trado “tipo caneca” com 5 cm de diâmetro, nas camadas de 0-10 cm, 10-20 cm, 20-40 cm e 40-60 cm, sendo retirada quatro subamostras por profundidade para compor uma amostra. Nas camadas de 0-10 e 10-20 cm o volume coletado em cada subamostra foi $196,34 \text{ cm}^3$ e nas camadas de 20-40 e 40-60 cm foi de $392,69 \text{ cm}^3$. Após a coleta, as amostras foram separadas, organizadas em sacos plásticos e congeladas a -2°C para em seguida serem lavadas e analisadas. O processo de separação das raízes do solo iniciou após o descongelamento dos torrões, sendo despejadas as amostras em peneiras com malha de 1 mm e lavadas com água para a retirada de todo o solo das amostras. Com auxílio de uma pinça foi separado as raízes de impurezas, como pedras, caules e folhas. Em seguida, as amostras de raízes foram colocadas em sacos de papel e secas em estufa de aeração forçada a 60°C por 48h para determinação da massa da matéria seca produzida. Os valores de cada camada foram somados e convertidos para Mg ha^{-1} por parcela. Após a pesagem, o material foi moído e realizada análise do teor de P nas raízes (MALAVOLTA et al., 1997). Com os resultados de MMS e de teor de P na raiz foi possível quantificar o acúmulo de P na raiz em kg ha^{-1} .

Para a análise do teor de P nos grãos da soja nas safras 2016/2017 e 2017/2018 e no triticale nos anos 2016 e 2017, os grãos das respectivas colheitas foram moídos e a análise realizada conforme Malavolta et al. (1997). De posse dos dados de massa de matéria seca da parte aérea, produtividade dos grãos e do teor de P, foi determinado o acúmulo de P nas culturas nas safras 2016/2017 e 2017/2018. A massa de matéria seca, o teor de P e o acúmulo de P nas raízes foram processados somente na safra 2016/2017 de cada sistema de sucessão. Por ocasião do estágio R2 de desenvolvimento da soja das safras 2016/2017 e 2017/2018 foram coletados 30 trifólios (terceiro ou quarto a partir do ápice) e para o triticale a coleta ocorreu no início do florescimento em 2016 e 2017 da 1ª a 4ª folhas do ápice da planta para diagnose foliar (teor de P), de acordo com Malavolta et al. (1997).

1.2.5.2 Coletas e análises de solo

Antes da semeadura da soja na safra 2017/2018, no mês de novembro foi realizada a coleta do solo nas camadas de 0-10, 10-20, 20-40 e 40-60 cm. As amostras com estrutura deformada de solo foram compostas por 4 subamostras por parcela, que foram coletadas por meio de trado tipo sonda, e acondicionadas em sacos plásticos no interior de caixa térmica. As amostras foram levadas ao laboratório, reunidas e peneiradas em malha de 2 mm, secas ao ar e conservadas em temperatura ambiente para as determinações de fertilidade de pH (CaCl_2), fósforo (P), potássio (K), cálcio (Ca), magnésio (Mg), enxofre (S), acidez potencial (H+Al) e saturação por bases (V%) (RAIJ et al., 2001) (APÊNDICE A) e para o fracionamento do fósforo do solo.

1.2.5.3 Fracionamento do Fósforo do solo

O Fracionamento do fósforo inorgânico e orgânico (P_i e P_o) foi realizado nas profundidades amostradas de solo, seguindo o protocolo proposto por Hedley et al. (1982) com as modificações sugeridas por Condrón e Goh (1989). O detalhamento da metodologia encontra-se nos ANEXOS A, B, C, D, E e F.

De forma resumida, o fracionamento do P do solo iniciou-se pesando 0,5 g de solo em tubos de centrífuga. Após, deu-se início às extrações pela seguinte ordem: resina de troca aniônica (P_{RTA}); NaHCO_3 0,5 mol L^{-1} (P_{Bic}), com pH 8,5; NaOH 0,1 mol L^{-1} ($P_{Hid0,1}$); HCl 1 mol L^{-1} (P_{HCl}); NaOH 0,5 mol L^{-1} ($P_{Hid0,5}$). Realizadas as extrações, o solo foi seco em estufa a 50 °C, moído em gral de ágata e 0,1 g desse solo foi submetido à digestão sulfúrica (H_2SO_4) para extração do P residual (BROOKES; POWLSON, 1982).

Os extratos alcalinos, resultantes das extrações de P_{Bic} , $P_{Hid0,1}$ e $P_{Hid0,5}$, foram divididas em duas alíquotas. Em que uma delas foi determinado o P_i , conforme a metodologia proposta por Dick e Tabatabai (1977) modificado por He e Honeycutt (2005). A outra alíquota foi utilizada para extração do fósforo total (Pt), em que realizada a digestão com persulfato de sódio e ácido sulfúrico em bloco digestor (US EPA, 1978), com modificações sugeridas por Nascimento et al. (2015) e com adaptações de Dayton et al. (2017). O P dos extratos ácidos (P_{RTA} , P_{HCl} e P residual), além das digestões totais de P_{Bic} , $P_{Hid0,1}$ e $P_{Hid0,5}$, foram determinados segundo a metodologia de Murphy e Riley (1962). A diferença entre o P total e o P inorgânico

resultou no P orgânico (Po) para P_{Bic} , $P_{Hid0,1}$ e $P_{Hid0,5}$. As determinações dos teores de P foram analisadas por meio do espectrofotômetro (Modelo 600S, FEMTO).

As frações de P foram divididas em Pi lábil ($Pi_{RTA} + P_{Bic}$) e Po lábil, que foi composto por P_{Bic} . O Pi moderadamente lábil ($Pi_{Hid0,1} + P_{HCl}$) e o Po moderadamente lábil por $P_{Hid0,1}$ e por fim o Pi não lábil ($Pi_{Hid0,5} + P$ residual) e Po não lábil composto por $P_{Hid0,5}$. O P do solo foi separado em origem biológica e geoquímica com uso dos valores médio das frações da camada de 0-20 cm. As frações biológicas consistiram na soma das frações orgânicas de P e a fração geoquímica foram agrupadas em todas as frações inorgânicas mais o P residual (CROSS; SCHLESINGER, 1995; RODRIGUES et al., 2016).

1.2.6 Análise estatística

As médias obtidas em cada ano safra e em cada camada de solo foram analisados em separado. Os dados foram submetidos à análise de normalidade usando o teste de Kolmogorov – Smirnov. Em sequência foram submetidos à análise de variância pelo teste F ($p \leq 0,05$) e as médias foram comparadas pelo teste LSD, ao nível de 5% de probabilidade.

1.3 Resultados e discussão

1.3.1 Avaliação do material vegetal

Os teores de P nas folhas diagnósticos da soja nas safras 2016/2017 e 2017/2018 foram semelhantes, sendo os maiores teores de P observados quando a soja foi cultivada em sucessão ao milho e sorgo e os menores valores quando em sucessão à crotalária e o pousio/escarificação (Tabela 2). Na safra 2017/2018 após a semeadura da soja o experimento passou por veranico que afetou o desenvolvimento das plantas, mas não a absorção de P, pois, mesmo com diferenças entre os tratamentos, todos apresentaram o teor de P dentro da faixa adequada para a cultura. Os teores de P adequados para cultura da soja são 2,3 a 3,4 g kg⁻¹ de P (MALAVOLTA et al., 1997) e os valores apresentados nesse estudo na safra 2016/2017 foram 2,49 a 2,97 g kg⁻¹ de P e na safra 2017/2018 foram 2,5 a 2,87 g kg⁻¹ de P.

O teor de P nas folhas do triticale em 2016 foi maior quando cultivado sob a sucessão milho-soja mas não diferiu do pousio/escarificação (Tabela 2). Em 2017 o teor de P nas folhas do triticale não apresentou diferença entre os tratamentos. Os

valores de P foliar dos dois anos de avaliação estão de acordo recomendado para a cultura, na faixa de 2-3 g kg⁻¹ de P (MALAVOLTA et al., 1997), indicando que mesmo na ausência da adubação fosfatada no cultivo do triticales, em todos os sistemas de sucessão o P disponível no solo não limitou o desenvolvimento da cultura.

Tabela 2 – Teores de P nas folhas diagnósticas de triticales dos anos 2016 e 2017 e de soja das safras 2016/2017 e 2017/2018.

	Teor de P foliar (g kg ⁻¹)			
	Triticales (16)	Triticales (17)	Soja (16/17)	Soja (17/18)
Milheto	3,47a	2,90	2,97a	2,87a
Sorgo	3,10b	2,84	2,81ab	2,77ab
Crotalária	3,01b	2,82	2,49c	2,50c
Pousio/escarificação	3,23ab	2,82	2,60bc	2,56bc
ANOVA (<i>P</i> > <i>F</i>)	0,0835	NS	0,0048	0,0362

Os valores seguidos por letras diferentes nas linhas diferem entre si pelo teste LSD ($p \leq 0,05$). NS: não significativo. ⁽¹⁾ MI = milho; SO = sorgo; CR = crotalária e PO = pousio/escarificação.

O aporte de massa de matéria seca da parte aérea (MMS-PA) produzida pelo triticales após a colheita dos grãos não apresentou diferença significativa entre as plantas de cobertura nos dois anos avaliados (Tabela 3). A maior produtividade de grãos do triticales em 2016 foi no tratamento pousio/escarificação, com 2,06 Mg ha⁻¹, em média de 0,76 Mg ha⁻¹ a mais que os demais sistemas de sucessão. O triticales cultivado no sistema com sorgo apresentou menor produtividade de grãos nos dois anos de avaliação, o que pode ser atribuído ao menor valor de pH do solo (APÊNDICE A). O pH 4,5 na camada 10-20 cm neste tratamento pode ter sido um dos fatores que afetou a produtividade da cultura, a qual apresenta melhor rendimento na faixa de pH de 5 a 5,5 (BAIER et al., 1994).

Os teores de P na MMS-PA do triticales no ano de 2016 entre os sistemas de sucessão de culturas obteve valores na faixa de 2,27 a 2,76 g kg⁻¹ de P, sendo que o menor teor ($p \leq 0,05$) foi na sucessão triticales-milheto (Tabela 3). O teor de P nos grãos (MMS-Grãos) apresentou diferença significativa entre os sistemas de sucessão de culturas em 2016, com as menores médias nas sucessões triticales-milheto e triticales-sorgo, apresentando teores de 1,89 e 1,91 g kg⁻¹ de P, respectivamente.

Tabela 3 – Massa de matéria seca da parte aérea (MMS-PA), produtividade de grãos e teor de P na massa de matéria seca da parte aérea (P na MMS-PA) e teor de P na massa de matéria seca dos grãos (P na MMS-Grãos) dos cultivos de triticale e plantas de cobertura das safras de 2016 e 2017 e de soja nas safras 2016/2017 e 2017/2018.

Variáveis	MI ⁽¹⁾	SO	CR	PO	MI	SO	CR	PO	ANOVA (P>F)	
	Triticale (2016)				Triticale (2017)				2016	2017
MMS-PA (Mg ha ⁻¹)	2,36	2,25	2,18	2,40	3,22	2,99	3,25	2,89	NS	NS
Produtividade (Mg ha ⁻¹)	1,25b	1,23b	1,42b	2,06a	1,76a	1,44b	1,67ab	1,64ab	0,0020	0,0500
P na MMS-PA (g kg ⁻¹)	2,27b	2,61a	2,76a	2,55a	2,50	2,47	2,28	2,31	0,0175	NS
P na MMS-Grãos (g kg ⁻¹)	1,89b	1,91b	2,09ab	2,17a	2,02	1,85	2,09	2,00	0,0552	NS
	Primavera (2016)				Primavera (2017)				2016	2017
MMS-PA (Mg ha ⁻¹)	4,51b	5,89a	5,50a	-	1,59ab	1,44b	1,97a	-	0,0030	0,0500
P na MMS-PA (g kg ⁻¹)	2,12a	1,91b	2,15a	-	2,22	2,01	2,09	-	0,0500	NS
	Soja (safra 16/17)				Soja (safra 17/18)				16/17	17/18
MMS-PA (Mg ha ⁻¹)	4,27b	4,56ab	4,09b	5,13a	1,90ab	1,54b	2,07a	2,28a	0,0500	0,0431
Produtividade (Mg ha ⁻¹)	3,17	3,16	3,05	2,82	1,39b	1,48b	1,83a	1,77a	NS	0,0110
P na MMS-PA (g kg ⁻¹)	1,35b	2,28a	1,91a	2,19a	1,30b	2,19a	2,35a	2,09a	0,0057	<0,0001
P na MMS-Grãos (g kg ⁻¹)	4,97ab	5,34a	4,67b	4,61b	5,19ab	5,38a	4,77bc	4,41c	0,0250	0,0068

Os valores seguidos por letras diferentes nas linhas diferem entre si pelo teste LSD ($p \leq 0,05$). NS: não significativo. ⁽¹⁾ MI = milho; SO = sorgo; CR = crotalaria e PO = pousio/escarificação.

Em 2017, não houve efeito dos tratamentos para a MMS-PA, teores de P na MMS-PA e na MMS-Grãos, mas houve diferença significativa na produtividade do triticales, apresentando maior produtividade na sucessão triticales-milheto e a menor na sucessão triticales-sorgo (Tabela 3). A MMS-PA foi em média 3,09 Mg ha⁻¹ e a maior produtividade foi de 1,76 Mg ha⁻¹ na sucessão triticales-milheto. Os dados de MMS-PA e produtividade de grãos obtidas nesse estudo com adubação fosfatada antecedendo o cultivo do triticales de 60 kg de P₂O₅ (na semeadura da soja) foi superior aos 2,4 Mg ha⁻¹ de MMS e inferior aos 2,4 Mg ha⁻¹ de produtividade de grãos observados por Esteves e Rosolem (2011) quando aplicaram 80 kg de P₂O₅ na semeadura do triticales. Vale salientar que o experimento citado foi realizado na mesma condição climática do presente estudo.

Os resultados de MMS-PA das plantas de cobertura produzidas na primavera diferiram significativamente nos anos de 2016 e 2017 (Tabela 3). No primeiro ano as MMS-PA produzidas pela crotalária e sorgo foram significativamente maiores, chegando a produzir 1,0 Mg ha⁻¹ de MMS-PA a mais que o milho. No segundo ano de experimento a crotalária, apesar de não diferir do milho, foi superior em 37% de MMS-PA em relação ao sorgo. A queda de produção de MMS-PA das plantas de cobertura em 2017 foi devido à falta de chuvas para a implantação das culturas de primavera, atrasando a instalação desse cultivo, reduzindo o tempo de crescimento das plantas para 45 dias até a dessecação, já que não seria viável atrasar a semeadura da soja. Cabe salientar que o milho, sorgo e crotalária são considerados grandes produtores de MMS-PA e na literatura alcançam aportes de MMS-PA de 14, 7 e 8 Mg ha⁻¹ (TORRES et al., 2008; SORATTO et al., 2012), respectivamente, porém com períodos maiores de cultivo em relação à presente avaliação.

O teor de P na MMS-PA das plantas de crotalária e milho foi maior em relação às plantas de sorgo no ano de 2016 (Tabela 3), provavelmente por se tratar de espécies distintas com eficiência de absorção inerente de cada planta (MARCELO et al., 2012). Os teores de P na MMS-PA das plantas de cobertura ficaram dentro da faixa considerada como adequada para as culturas do milho, sorgo e crotalária, que são de 2-4, 1-3 e 0,9-3,7 g kg⁻¹ de P, respectivamente (VALADARES et al., 2016). Os teores de P na MMS-PA em plantas leguminosas normalmente apresentam valores superiores, resultando em maior eficiência na absorção de P (SILVA et al., 2006; TORRES et al., 2008; PEREIRA et al., 2017). Cabe ressaltar que o milho apresenta maior capacidade de acumular P em menor período de cultivo quando comparado a

outras gramíneas, como o sorgo, por exemplo (BRAZ et al., 2004; SCHONINGER, 2011).

Em 2017, não houve diferença significativa para as concentrações de P na MMS-PA entre as plantas de cobertura (Tabela 3), as quais foram dessecadas antes do florescimento. É de se esperar que diferenças nas concentrações de P ocorram nessa fase, conforme os dados de 2016, pois o maior acúmulo de nutrientes ocorre no início do florescimento (SILVA et al., 2002; CARPIM et al., 2008).

A MMS-PA da soja na safra 16/17 apresentou efeito significativo entre os sistemas de sucessão avaliados (Tabela 3). O maior acúmulo de MMS-PA foi verificado no pousio/escarificação em relação às sucessões com milho e crotalária, sendo em média 23% superior. Enquanto na safra 17/18, a produção de MMS-PA pela soja foi maior nas sucessões com crotalária e pousio/escarificação em relação ao sorgo.

A produtividade de grãos de soja na safra 16/17 teve diferença significativa entre os sistemas de sucessão de culturas (Tabela 3). Os valores de produtividade de grãos de soja relatados neste trabalho estão próximos da média nacional, que é de 3,2 Mg ha⁻¹ (CONAB, 2019). Na safra 17/18, a maior produtividade da soja ocorreu nos sistemas de sucessão pousio/escarificação e crotalária em relação aos demais tratamentos. Calonego et al. (2017) verificaram que, após 12 anos de cultivo na mesma área de estudo, a maior produtividade da soja foi no tratamento crotalária, em que atribui esse resultado à maior macroporosidade promovida pela planta, permitindo uma maior aeração do solo em comparação aos demais tratamentos.

A maior produtividade da soja no tratamento pousio/escarificação pode ser atribuída ao manejo da escarificação realizada na safra anterior (16/17) por ocasionar melhorias na aeração do solo ocasionando menor restrição física. Porém, esse efeito tem tendência de diminuir ao longo dos anos (ROSOLEM; CALONEGO, 2010; CALONEGO et al., 2017). A menor produtividade da soja observada no tratamento com sorgo pode ser devido que as raízes do sorgo podem exsudar compostos com potencial alelopático, como o composto hidrofóbico sorgoleone, podendo afetar o desenvolvimento da soja (MONQUERO; HIRATA, 2014).

Outro fator que pode influenciar no desenvolvimento da soja em sucessão ao sorgo forrageiro é a redução do pH e da saturação de bases no solo (OLIBONE et al., 2006), em que esses efeitos foram observados na sucessão com sorgo e milho (Apêndice A). Na safra 16/17 esses efeitos de compostos alelopáticos e de redução

de pH não afetaram a produtividade da soja, que pode ser atribuído a precipitação regular durante o ciclo da cultura, o que pode ter atenuado esses efeitos.

De forma geral, houve redução no acúmulo de MMS-PA e produtividade da soja na safra 17/18 devido à falta de chuvas após a semeadura, com mais de 20 dias de estiagem (Figura 1), atrasando a emergência e, conseqüentemente, o desenvolvimento e rendimento da cultura.

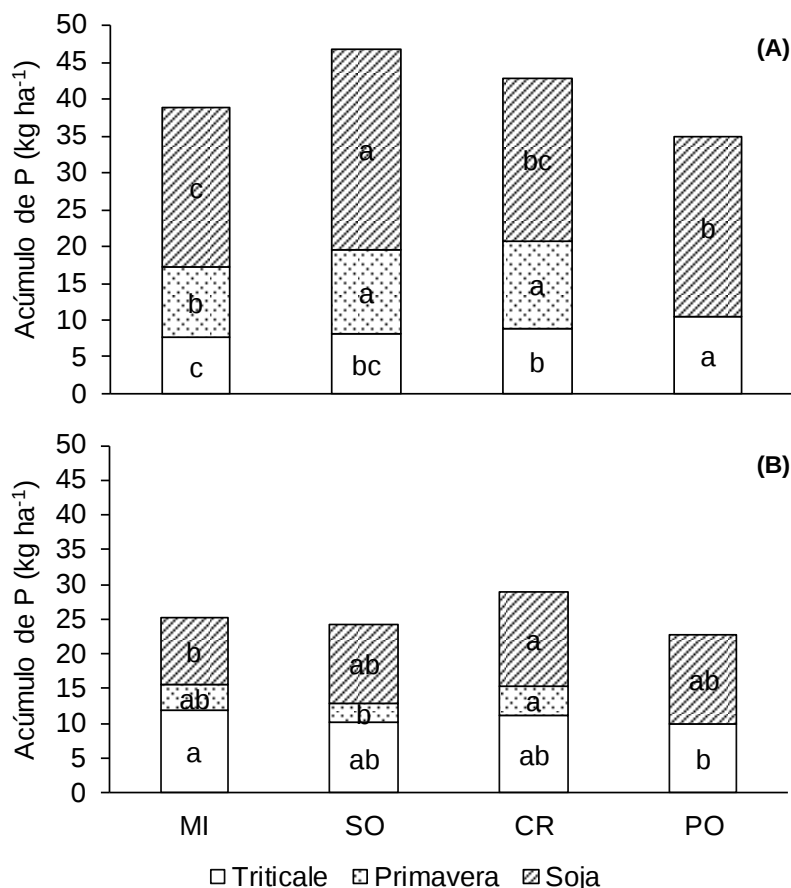
Os sistemas de sucessão influenciaram os teores de P na MMS-PA da soja, apresentando comportamentos semelhantes nas duas safras avaliadas, em que a soja cultivada em sucessão ao sorgo apresentou maior teor de P na MMS-PA e na MMS-Grãos (Tabela 3).

A eficiência de absorção de P pela planta, que é o acúmulo total de P na parte aérea (MANSCHADI et al., 2014), foi definida para a soja e o triticale como a soma da quantidade de P presente na MMS-PA + grãos e para as plantas de cobertura apenas o acumulado na MMS-PA. A eficiência de absorção de P diferiu significativamente nas duas safras avaliadas entre os sistemas de sucessão de cultura nos cultivos de outono-inverno, primavera e verão (Figuras 2A e 2B).

Na safra 16/17, no cultivo do triticale o maior acúmulo de P ocorreu no pousio/escarificação em relação ao milho, resultante dos maiores teores de P e produtividade de grãos (Figura 2A e Tabela 3). Em relação às plantas cultivadas na primavera, os maiores acúmulos de P ocorreram no sorgo e crotalária em comparação ao milho, o qual obteve menor rendimento de MMS-PA, contribuindo para o menor acúmulo desse nutriente. O maior acúmulo de P na cultura do sorgo deve-se à presença do gene Sb03g006765, que está relacionado à maior absorção de P por essa forrageira. A estreita relação do gene com a parede celular da raiz resulta em aumento da área de superfície radicular pela redução do diâmetro da raiz e assim aumenta o volume de exploração do solo (HUFNAGEL et al., 2014).

A eficiência da crotalária para absorção de P deve-se à liberação de ácidos orgânicos alterando quimicamente a rizosfera, aumentando assim a capacidade de absorver o P de menor labilidade, e também pela alteração morfológica das raízes, como, por exemplo, seu maior alongamento para obter maior exploração do solo (SANTANA; ASCENCIO; 2011; ZIBLIM et al., 2013).

Figura 2 – Acúmulo de P na MMS de parte aérea e grãos para o cultivo de soja e triticale e na MMS de parte aérea no cultivo da primavera nos sistemas de sucessão de culturas durante as safras 16/17 (A) e 17/18 (B). MI = milho; SO = sorgo; CR = crotalária e PO = pousio/escarificação. Letras minúsculas distintas para os sistemas de sucessão de culturas diferem entre si pelo teste LSD ($p \leq 0,05$).



No cultivo da soja na safra 16/17, o maior acúmulo de P ocorreu quando cultivada na sucessão sorgo-soja, com 27,3 kg ha⁻¹ de P acumulado, seguido pelo pousio/escarificação com 24,3 kg ha⁻¹ de P acumulado (Figura 2A). Ramos et al. (2010), avaliando a influência do cultivo prévio de forrageiras na produtividade da soja em um Cambissolo, observaram maior acúmulo de P na soja cultivada em sucessão ao sorgo com maior produção em relação à sucessão pousio/escarificação-soja.

Os resultados de acúmulo de P no cultivo da soja na safra 16/17 demonstram, em geral, alta eficiência dos sistemas de sucessão de cultura em relação à absorção de P pela soja (Figura 2A). Entre os sistemas pode-se destacar a sucessão sorgo-soja, em que apresentou 100% de eficiência no acúmulo de P na parte aérea, mostrando que a adubação de 26 kg ha⁻¹ de P realizada apenas na semeadura da soja foi satisfatória. Além disso, todos os sistemas de sucessão de culturas recuperaram os

26 de kg ha⁻¹ de P adubados no cultivo da soja. De forma geral, o somatório dos cultivos de outono-inverno, primavera e verão acumularam de 35 a 47 kg ha⁻¹ de P. Desta forma, pode-se inferir que as plantas de cobertura promoveram a solubilização e/ou menor adsorção de P do solo.

Na safra 17/18, as plantas de triticale apresentaram diferenças significativas em relação ao acúmulo de P em função dos manejos de primavera, em que o milho apresentou maior acúmulo de P e o pousio/escarificação menor acúmulo (Figura 2B). Entretanto, entre as plantas de cobertura na primavera, a crotalária obteve acúmulo de P superior ao sorgo, resultando também em maior acúmulo de P na soja cultivada em sucessão.

Pelo somatório do acúmulo de P dos três cultivos na safra 17/18, o sistema de sucessão com a crotalária foi o único a recuperar os 26 kg ha⁻¹ de P adicionado via adubação na semeadura da soja (Figura 2B) e pela ciclagem de P dos cultivos no sistema de sucessão. Vale salientar, que os cultivos de primavera e de verão na safra 17/18 passaram por veranico no estágio vegetativo afetando o desenvolvimento das plantas, obtendo quase metade do acúmulo de P em relação à safra 16/17. De modo geral, as culturas de cobertura beneficiam a nutrição de P dos cultivos subsequentes por processos diferentes e simultâneos: transferência de P na decomposição dos resíduos culturais, exsudação de ácidos orgânicos e enzimas pelas raízes e interações microbianas disponibilizando P, via solubilização e/ou mineralização para cultura principal (HALLAMA et al., 2019).

O acúmulo de massa de matéria seca da raiz (MMS-Raiz) no perfil de solo de 0 a 60 cm de profundidade foi quantificado para os cultivos outono-inverno, primavera e verão apenas na safra 16/17 (Tabela 4). Em relação ao aporte de MMS-Raiz, não foi observado para o triticale efeito dos tratamentos. Já os teores de P na MMS-Raiz de triticale diferiram entre si ($p \leq 0,05$), com maiores teores nos tratamentos envolvendo milho e sorgo.

As plantas de cobertura no cultivo de primavera não diferiram entre si ($p \leq 0,05$) quanto à MMS-Raiz, mas as concentrações de P nas raízes foram distintas ($p \leq 0,05$), sendo a crotalária a planta de cobertura com maior teor de P nas raízes (Tabela 4).

A soja na sucessão milho-soja obteve maior produção de raízes ($p \leq 0,05$), em média 23% superior em relação às sucessões sorgo-soja e pousio/escarificação-soja (Tabela 4). As maiores concentrações de P encontradas na MMS-Raiz da soja foram nas sucessões milho-soja e crotalária-soja em relação ao à sucessão sorgo-soja.

Tabela 4 – Acúmulo de massa de matéria seca da raiz (MMS-Raiz) e teor de P na matéria seca da raiz (P na MMS-Raiz) dos cultivos de tritcale, primavera e soja na safra 2016/2017.

Variáveis	MI ⁽¹⁾	SO	CR	PO	ANOVA (P>F)
Triticale					
MMS-Raiz (Mg ha ⁻¹)	1,3	1,19	1,46	1,3	NS
P na MMS-Raiz (g kg ⁻¹)	2,04a	2,08a	1,51b	1,22c	<0,0001
Primavera					
MMS-Raiz (Mg ha ⁻¹)	2,25	2,38	2,15		NS
P na MMS-Raiz (g kg ⁻¹)	0,90b	0,98b	1,26a		0,0215
Soja					
MMS-Raiz (Mg ha ⁻¹)	3,00a	2,24b	2,52ab	2,28b	0,0306
P na MMS-Raiz (g kg ⁻¹)	1,87a	1,47b	2,02a	1,73ab	0,0483

Os valores seguidos por letras diferentes nas linhas diferem entre si pelo teste LSD ($p \leq 0,05$). NS: não significativo. ⁽¹⁾ MI = milho; SO = sorgo; CR = crotalaria e PO = pousio/escarificação.

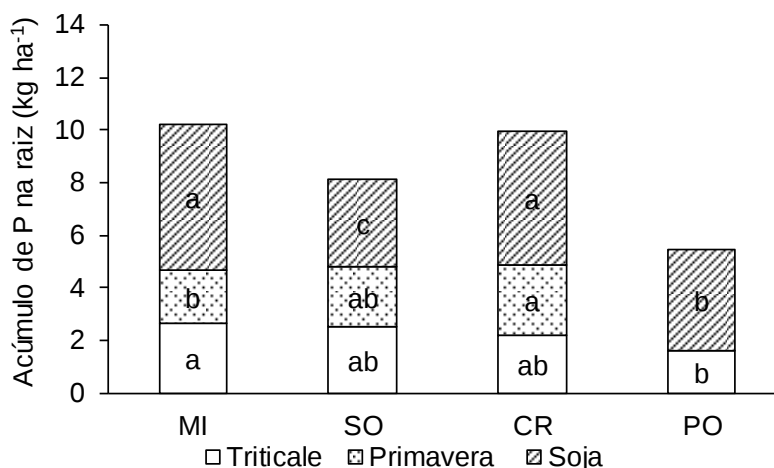
O acúmulo de P na MMS das raízes na camada 0-60 cm dos três cultivos da safra 16/17 diferiu significativamente entre os sistemas de sucessão de culturas (Figura 3). No outono-inverno (tritcale), o milho apresentou maior acúmulo de P nas raízes e o pousio/escarificação o menor acúmulo. No cultivo da primavera, o maior acúmulo de P na MMS da raiz ocorreu na crotalaria e o menor no milho. Para o cultivo de verão (soja), os maiores acúmulos de P na MMS da raiz foram nos tratamentos milho, com 5,54 kg ha⁻¹ de P e crotalaria, com 5,05 kg ha⁻¹ de P.

O acúmulo de P pelas raízes dos sistemas de sucessão demonstra o efeito da solubilização de P em profundidade pelo intenso cultivo de plantas. A soma nos três cultivos do acúmulo de P nas raízes dos sistemas de sucessão com uso de plantas de cobertura na primavera proporcionou acúmulo médio superior em 73% de P na camada de 0-60 cm em relação ao pousio/escarificação (Figura 3). A incorporação biológica de P realizado pelas raízes das plantas de cobertura, torna-se necessário em sistemas de semeadura direta, por não fazer o uso de incorporação mecânica de fertilizantes. Pois, de acordo com Sá (2004), as raízes das plantas de cobertura redistribuem o P no perfil do solo, uma vez que em SSD não há revolvimento ocasionando uma nova arquitetura de poros pelas raízes e com a decomposição das mesmas ocorre a liberação de formas orgânicas e inorgânicas de P.

Considerando que a área do presente experimento vem sendo cultivada repetindo-se os mesmos tratamentos desde 2003, ou seja, com 14 anos fazendo-se a incorporação biológica de P, pode-se estimar para os tratamentos milho, sorgo e

crotalária uma incorporação aproximada de 143, 114 e 139 kg ha⁻¹ de P, respectivamente (Figura 3).

Figura 3 – Acúmulo de P na MMS da raiz nos sistemas de sucessão de culturas durante a safra 2016/2017. MI = milho; SO = sorgo; CR = crotalária e PO = pousio/escarificação. Letras minúsculas distintas para os sistemas de sucessão de culturas diferem entre si pelo teste LSD ($p \leq 0,05$).



Para que o P presente na raiz seja absorvido é necessário a decomposição e mineralização desses resíduos para formas de Pi para posterior utilização pelas plantas. Subbiah e Mannikar (1964) relataram por meio de estudos de diluição isotópica com ³²P a extração de P de camadas subsuperficiais pelas raízes da crotalária para camadas superficiais, evidenciando a importância das raízes das plantas de cobertura na movimentação de P no perfil do solo.

As plantas de cobertura, além de contribuírem na deposição de P em superfície pela decomposição dos seus resíduos, incorporam P no solo por meio das raízes. Dependendo da cultura podem acumular cerca de 65% do P absorvido pelas raízes, redistribuindo o P aplicado em superfície em SSD para camadas inferiores do solo (FRANCHINI et al., 2004).

1.3.2 Avaliação da disponibilidade de P no solo

1.3.2.1 P inorgânico lábil, moderadamente lábil e não lábil

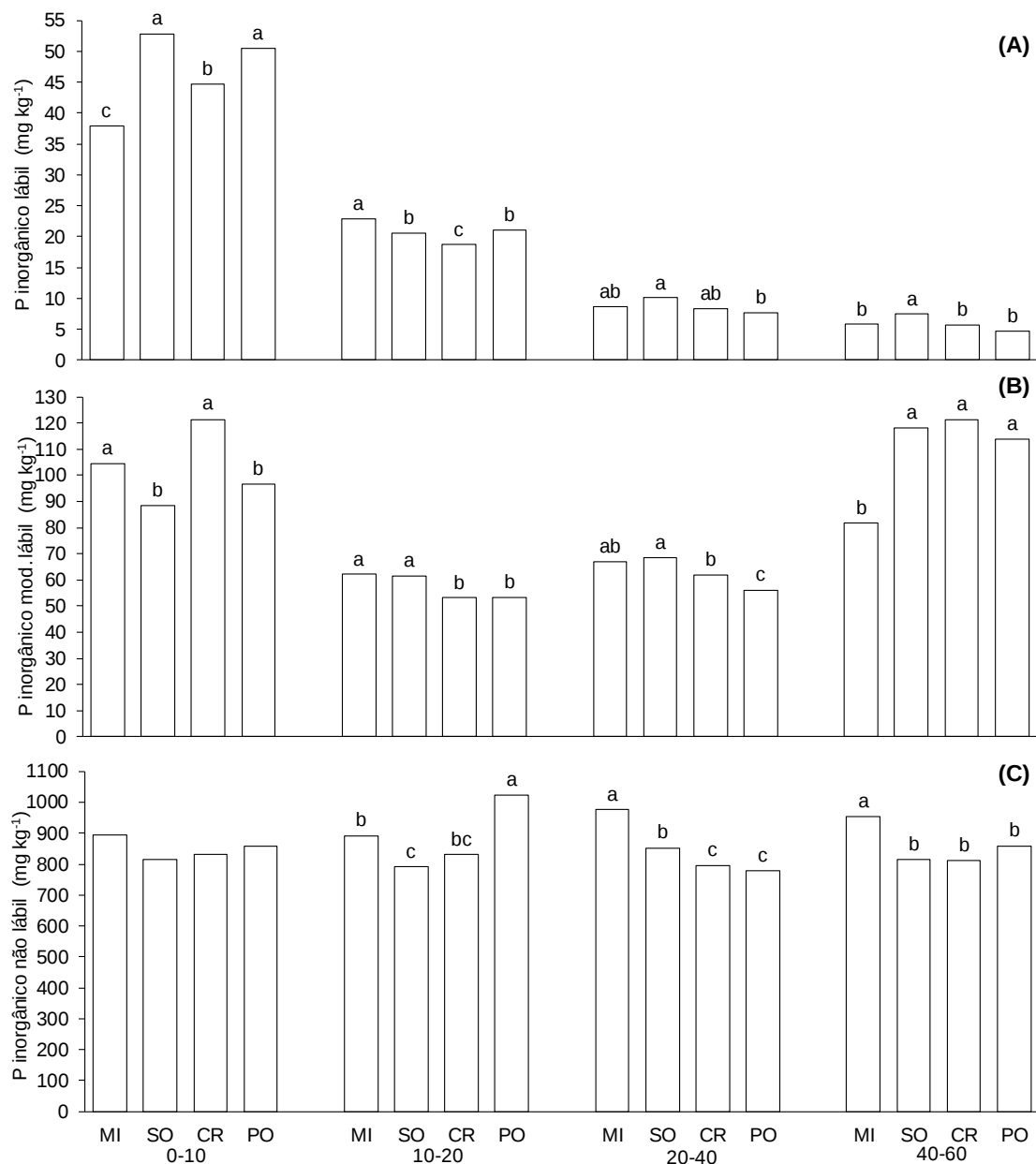
Os sistemas de sucessão influenciaram na labilidade do P do solo, com diferenças entre as plantas de cobertura cultivadas na primavera e o pousio/escarificação na dinâmica do P nas camadas analisadas (Figuras 4A, 4B e 4C). Os trabalhos em

relação à disponibilidade de P normalmente analisam até no máximo de 40 cm de profundidade (RHEINHEIMER; ANGHINONI, 2001; GATIBONI et al., 2007; ZAMUNER et al., 2008; YANG et al., 2015; LEITE et al., 2016; ALMEIDA et al., 2019; FOLTRAN et al., 2019). Porém, os dados obtidos no presente estudo evidenciam que a ação das plantas de cobertura após 14 anos de cultivo extrapola as camadas analisadas atualmente.

Na primeira camada avaliada, de 0-10 cm, os maiores teores de Pi lábil ($p \leq 0,05$) foram obtidos nas sucessões sorgo-soja e pousio/escarificação-soja, com valores superiores a 50 mg kg^{-1} de P (Figura 4A). Mesmo sem aporte de P por meio dos resíduos culturais no cultivo da primavera, o tratamento do pousio/escarificação obteve concentrações de Pi lábil superior aos manejos do milho e crotalária. Almeida et al. (2018) observaram resultado semelhante em estudo sobre a disponibilidade de P com *Urochloa ruziziensis*, em que houve uma maior redução do P_{resina} (que compõe o Pi lábil) no solo cultivado com braquiária do que no pousio/escarificação, sem uso de adubação fosfatada. Esse efeito ocorre pela baixa dessorção e maior adsorção de P ocasionado pela adição de fitatos que afetam a dessorção, sob cultivo da forrageira. Além disso, o aumento da oxidação da matéria orgânica pela escarificação realizada no pousio/escarificação pode melhorar a disponibilidade de P, mas também pode ter impactos indesejáveis no ciclo do carbono, incluindo o aumento da perda de matéria orgânica (MENEZES-BLACKBURN et al., 2018).

Em profundidade, as plantas de cobertura apresentaram desempenho superior na concentração de Pi lábil ($p \leq 0,05$) em comparação ao pousio/escarificação (Figura 4A). Como pode-se observar na camada de 10-20 cm, a maior concentração de Pi lábil foi na sucessão milho-soja. Na camada seguinte, de 20-40 cm, o milho, o sorgo e a crotalária não diferiram entre si ($p \leq 0,05$), com concentrações entre $8,4$ a 10 mg kg^{-1} de Pi lábil, e somente o sorgo apresentou superioridade no teor de P em relação ao pousio/escarificação, com uma diferença de 31% de Pi lábil nessa camada. Por fim, na camada de 40-60 cm, a maior concentração de Pi lábil foi na sucessão sorgo-soja ($p \leq 0,05$), em que esse sistema permitiu maior disponibilidade do Pi tanto em superfície como em profundidade, pois somente na camada 10-20 cm não obteve maior concentração em relação aos demais tratamentos.

Figura 4 – P inorgânico lábil (A), moderadamente lábil (B) e não lábil (C) do solo nas parcelas milho (MI), sorgo (SO), crotalária (CR) e pousio/escarificação (PO), nas camadas de 0-10, 10-20, 20-40 e 40-60 cm no ano de 2017. Letras minúsculas distintas para os sistemas de sucessão de culturas em cada profundidade diferem entre si pelo teste LSD ($p \leq 0,05$).



Os cultivos do sorgo e do milho tiveram concentrações mais altas de H+Al (APÊNDICE A), o que pode ter reduzido o teor de Pi lábil no milho com a maior adsorção de P. Porém, para o sorgo esse comportamento não foi o mesmo, devido a planta apresentar uma alteração morfológica na raiz do sorgo expressada pelo gene *Alt_{SB}* que confere tolerância ao alumínio pela liberação de citrato (CANIATO et al., 2014). O citrato é um ácido orgânico que reduz a adsorção de P pelo bloqueio dos

sítios de adsorção, apresentando menor taxa de degradação pela alta reatividade com oxihidróxidos de Fe e Al (PAVINATO; ROSOLEM, 2008).

Os cultivos sob plantas de cobertura obtiveram maiores concentrações de Pi moderadamente lábil (Pimod) nas camadas avaliadas ($p \leq 0,05$), exceto na camada de 40-60 cm em que a sucessão milho-soja apresentou a menor concentração de Pimod em relação ao pousio/escarificação (Figura 4B). O aumento do Pimod torna-se importante pela contribuição para a reserva lábil de P, sendo considerado como disponível para a solução do solo (RHEINHEIMER, 2000). Na camada de 0-10 cm, observou-se maiores teores de Pimod nos tratamentos milho e crotalária, com 104 e 121 mg kg⁻¹ de Pimod, respectivamente. Os menores teores de Pimod sob cultivo do sorgo mostram a maior capacidade de solubilização desse compartimento de P pela cultura, resultado semelhante foi observado por Silva et al. (2003) em experimento de vaso com *Urochloa* sp.

Fazendo uma relação com os teores de Pi lábil dos cultivos de milho e crotalária, que apresentaram os menores teores, essas sucessões de cultura promoveram a conversão de Pi lábil a Pimod (Figuras 4A e 4B). Quando a adubação fosfatada é abaixo da quantidade de P exportada do sistema pelas plantas de cobertura (Figura 2A), as formas de P de labilidade intermediária atuam como fonte, mantendo os teores de Pi lábil do solo (SANTOS et al., 2008). Os cultivos de milho e sorgo como plantas de cobertura modificaram os teores de Pimod resultando em aumento médio de 17 e 21% nas camadas 10-20 cm e 20-40 cm, respectivamente, em relação ao pousio/escarificação (Figura 4B). Pavinato et al. (2008) verificaram que os ácidos orgânicos provenientes de extratos vegetais, como milho e sorgo, aumentaram os teores de Pi moderadamente lábil em todas as profundidades analisadas (0-30 cm).

Na camada de 0-10 cm, os sistemas de produção não diferiram significativamente em relação aos teores de Pi não lábil (Figura 4C). Na camada de 10-20 cm, as plantas de cobertura promoveram a menor concentração de Pi para a forma não lábil ($p \leq 0,05$), em que o pousio/escarificação promoveu um aumento em torno de 29% na concentração de Pi não lábil quando comparado ao sorgo. O fluxo contínuo de diferentes formas de carbono oriundo da decomposição de raízes e o não revolvimento do solo nessa camada contribuiu para a ocupação dos colóides inorgânicos pelas substâncias húmicas reduzindo a passagem de Pi lábil para Pi não lábil (FRANCHINI et al., 1999; NOVAIS; SMYTH, 1999). Contudo, na camada de 20-40 cm o milho e o sorgo apresentaram efeito inverso, com maior teor de Pi na forma

não lábil, em que o cultivo do milho teve aumento de 25% em relação ao manejo com pousio/escarificação. Os sistemas de cultivo alteraram as concentrações de Pi não lábil, com o cultivo do milho aumentando os teores de Pi não lábil em profundidade (camadas de 20-40 cm e 40-60 cm) em relação aos demais sistemas de cultivo. Os menores valores Pi não lábil para o cultivo do sorgo e da crotalária deve-se à ação das raízes que apresentam maior capacidade na solubilização de P, por meio da acidificação da rizosfera, exsudação de ácidos orgânicos e secreção de fosfatases extracelulares (HINSINGER, 2001).

De modo geral, os teores de Pi lábil na camada de 0-10 cm tem correlação com o Pimod, ou seja, quando há aumento na concentração de Pi lábil há redução de Pimod e o inverso também é observado, dependendo do sistema manejo (Figuras 4A e 4B). Para as demais camadas ocorre o mesmo comportamento entre o Pimod e o Pi não lábil apenas para o sistema de sucessão com milho (Figuras 4B e 4C). Enquanto no cultivo do sorgo e da crotalária observa-se efeito contrário, ou seja, está ocorrendo a redução da adsorção de P no compartimento de menor labilidade. O cultivo de plantas de cobertura eficientes na absorção de P é importante para a solubilização do P recalcitrante, tornando-o disponível para a cultura subsequente (MENEZES-BLACKBURN et al., 2018).

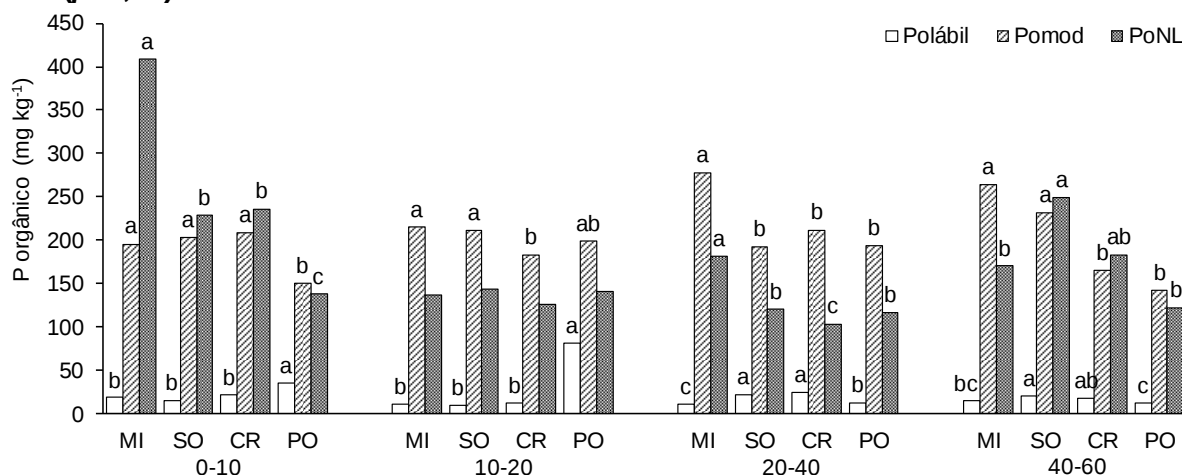
1.3.2.2 P orgânico lábil, moderadamente lábil e não lábil

Os sistemas de manejo com uso de plantas de cobertura na primavera diferiram ($p \leq 0,05$) do sistema de pousio/escarificação nas concentrações e formas de Po presente no solo nas camadas avaliadas (Figura 5). Na camada de 0-10 cm, de forma geral, a maior labilidade do Po (Po lábil) foi no pousio/escarificação (extraído por Po_{Bic}) em comparação às plantas de cobertura. O cultivo das plantas de cobertura proporcionou aumento nos teores de Po nos compartimentos moderadamente lábil (Pomod) e não lábil (PoNL), extraídas por $Po_{Hid-0,1}$ e $Po_{Hid-0,5}$, respectivamente.

As concentrações de Po lábil e moderadamente lábil entre as plantas de cobertura na camada de 0-10 cm não diferiram significativamente ($p \leq 0,05$) (Figura 5). Como em SSD não ocorre a incorporação dos resíduos culturais, os quais permanecem em superfície com uma pequena área de contato com o solo, a decomposição é lenta e desta forma reduz a mineralização, sendo um dos fatores responsáveis pela falta de alterações no Po (PAVINATO et al., 2009). A diferença na concentração do Pomod das plantas de cobertura para o pousio/escarificação, na camada de 0-10 cm, chega

a 45 mg kg⁻¹ de Pomod. O acúmulo de Po em formas mais estáveis pode refletir em alta atividade microbiana (KAMH et al., 1999).

Figura 5 – P orgânico do solo (lábil, moderadamente lábil e não lábil) nas parcelas milho (MI), sorgo (SO), crotalaria (CR) e pousio/escarificação (PO), nas camadas de 0-10, 10-20, 20-40 e 40-60 cm no ano de 2017. Letras minúsculas distintas para os sistemas de sucessão de culturas em cada profundidade diferem entre si pelo teste LSD ($p \leq 0,05$).



Em relação ao Po não lábil (PoNL), na camada de 0-10 cm, o cultivo do milho diferiu significativamente dos demais tratamentos, com uma concentração maior em 197% de Po não lábil em comparação ao pousio/escarificação (Figura 5). A maior concentração de Po de menor labilidade nos sistemas de sucessão com cultivo de plantas de cobertura podem ser explicados pelo aporte sequencial de material vegetal em superfície, ocasionando adição de formas de Po de maior recalcitrância e a proteção do Po pelos coloides do solo, dificultando sua mineralização (OTABBONG et al., 1997).

Em revisão de literatura sobre o uso do fracionamento do P do solo em diferentes manejos do solo, Negassa e Leinweber (2009) observaram que as formas de Po acabam sendo acumuladas quando ocorre adubação fosfatada e o tamponamento de P para solução do solo é pelo Pi. Possivelmente as maiores concentrações de Pimod e Pi não lábil nos cultivos com plantas de cobertura deve-se à deposição de fosfato de inositol no solo por meio dos resíduos culturais e esse fosfato sendo complexado aos minerais de argila, ácidos fúlvicos e húmicos, tornando-o fracamente disponível para os microrganismos do solo (QUIQUAMPOIX; MOUSAIN, 2005; DEISS et al., 2016).

Na camada de 10-20 cm, observou-se a mesma tendência da camada anterior, tendo a maior concentração de Po lábil (81 mg kg^{-1}) no tratamento pousio/escarificação (Figura 5). Em relação ao Pomod, os sistemas de sucessões não apresentaram diferenças significativas, com média geral entre os tratamentos de $201,5 \text{ mg kg}^{-1}$ de Pomod. O Po não lábil no pousio/escarificação não diferiu dos sistemas de sucessão com plantas de cobertura.

No tratamento pousio/escarificação, os maiores teores de Po lábil nas camadas 0-10 e 10-20 cm podem ter ocorrido devido a escarificação, até 30 cm de profundidade, realizada no ano de 2016 (Figura 5). Esse manejo aumenta a macroporosidade e a aeração do solo, sendo que a maior entrada de O_2 aliado a ação mecânica do escarificador sobre a estrutura do solo acelera a taxa de oxidação da matéria orgânica (SÁ et al., 2010) pelos microrganismos, disponibilizando P de formas de Po lábil. Como o mecanismo do escarificador não realiza a inversão da camada do solo, não permite o maior contato entre as partículas de argilominerais, o que poderia reduzir a labilidade do Po. Santos e Tamm (2003), avaliando a disponibilidade de nutrientes em diferentes preparos do solo, observaram maiores teores de P na camada de 0-10 cm com uso do escarificador em relação ao preparo convencional.

Os cultivos de sorgo e crotalária promoveram maior concentração de Po lábil na camada de 20-40 cm ($p \leq 0,05$), com uma diferença de 83% em relação ao pousio/escarificação (Figura 5). Na camada de 40-60 cm o comportamento foi o mesmo do relatado para a camada anterior, em que os teores de Po lábil para o sorgo e crotalária foram de 20 e 17 mg kg^{-1} de Po lábil, respectivamente, e para o pousio/escarificação foi de 12 mg kg^{-1} de Po lábil. Enquanto houve maior concentração de Pomod e PoNL para o cultivo de milho na camada de 20-40 cm e para o sorgo na camada de 40-60 cm, porém não diferiu ($p \leq 0,05$) do milho na concentração de Pomod. O Po nos cultivos de milho e sorgo pode estar sendo convertido a formas de menor labilidade por meio de reações da matéria orgânica do solo com os colóides inorgânicos (BAYER; MIELNICZUK, 2008).

De modo geral, os tratamentos com plantas de cobertura apresentam maior quantidade de Po do que o pousio/escarificação devido o aporte sequencial de Po por meio dos resíduos vegetais nos cultivos de primavera realizando, dessa forma, a ciclagem de P e/ou o seu incremento nos compartimentos de menor labilidade. Nesse sentido, Foltran et al. (2019) observaram que a elevada deposição de resíduos

vegetais contribui para o incremento de Po moderadamente lábil. Cabe salientar que essa fração também pode atuar como fonte de P para as plantas (CONTE et al., 2003).

Os efeitos das plantas de cobertura são contrastantes em relação a labilidade do Po a partir dos 20 cm de profundidade (Figura 5). Enquanto o sorgo e a crotalária promoveram a maior labilidade, o milheto aumentou a concentração de Po nas formas de menor labilidade. O acúmulo de Po de menor labilidade depende da qualidade do resíduo aportado ao solo, como alta concentração de lignina e alta relação C/N, que torna a decomposição dos resíduos mais lenta acumulando formas de Po de menor labilidade (GATIBONI et al., 2013).

As concentrações de Pi lábil (Figura 4A) e Po lábil (Figura 5) nas camadas 20-40 cm e 40-60 cm foram maiores sob o cultivo do sorgo e da crotalária em relação ao pousio/escarificação. Em que, à medida que as plantas absorvem o Pi lábil, o seu tamponamento pode estar ocorrendo por meio do Po lábil, o qual é geralmente considerado prontamente disponível para as plantas, pois ocorre rápida mineralização (GATIBONI et al., 2007).

1.3.2.3 Distribuição dos compartimentos de P na camada de 0-20 cm

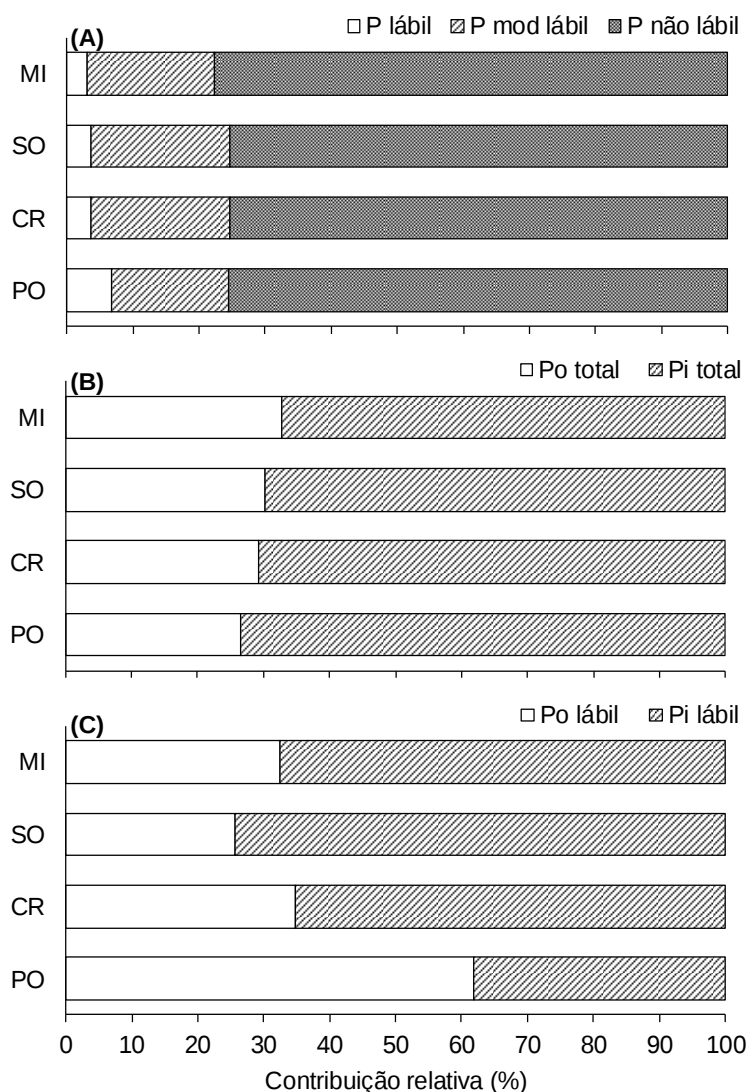
Os dados referentes à contribuição relativa (%) na camada de 0-20 cm do P lábil, moderadamente lábil e não lábil são o somatório do Po e Pi nas respectivas formas (Figura 6A). As proporções das formas de P em relação aos sistemas de sucessão demonstram que o P não lábil não foi afetado pelos manejos, mas as formas de P lábil e Pmod foram influenciados pelos sistemas de sucessão.

O cultivo de plantas de cobertura proporcionou menores contribuições relativas no P lábil, representando de 3 a 3,6% do P do solo, enquanto no pousio/escarificação o P lábil representou 6,7% (Figura 6A). Os valores de P lábil estão abaixo do encontrado por Rodrigues et al. (2016), em áreas de SSD no Cerrado para a mesma camada avaliada, o P lábil representou aproximadamente 20% do P do solo. A contribuição relativa do Pmod é menor no pousio/escarificação (em torno de 17%) e maior nos cultivos sob plantas de cobertura (aproximadamente 21% para o sorgo e a crotalária), ou seja, as plantas de cobertura estão mantendo o P em moderadamente lábil, exceto para o milheto que aportou mais o P na forma não lábil.

O P não lábil nos tratamentos sorgo, crotalária e pousio/escarificação representa em média 75% do P do solo (Figura 6A). O P é acumulado no solo em formas inorgânicas lábeis e moderadamente lábeis quando as entradas e saídas de P tiverem

saldo positivo (GATIBONI, 2003). O P acumulado em frações de menor labilidade pode ser considerado uma reserva de P que poderá ser aproveitado em sistemas de sucessões com plantas de cobertura eficientes para converter essa reserva em formas de P de maior labilidade, sendo uma importante estratégia reduzir perdas de P e aumentar a produção de alimentos em solos com alta capacidade de adsorção de P (MENEZES-BLACKBURN et al., 2018).

Figura 6 – Contribuição relativa (%) do P lábil, Moderadamente lábil e não lábil (A), do P orgânico total e P inorgânico total (B) e do P orgânico lábil e inorgânico lábil (C) do solo nas parcelas milho (MI), sorgo (SO), crotalária (CR) e pousio/escarificação (PO), na camada de 0-20 cm no ano de 2017.



A fração do Po total nos cultivos do sorgo e da crotalária obtiveram porcentagem semelhante, em torno de 30% do P do solo (Figura 6B). No cultivo do milho, observou-se aumento do Po total em relação aos demais tratamentos, o que se

confirma pela alta concentração de Po não lábil de 408 mg kg⁻¹ na camada de 0-10 cm (Figura 5). Rheinheimer et al. (2019), em SSD por um período de 30 anos, observaram que a taxa adequada de fertilizantes inorgânicos de P por um longo período permitiram o aumento do Po do solo em relação ao cultivo convencional. As proporções de Po encontradas estão dentro da faixa relatada por Guerra et al. (1996) em solos brasileiros, de 13 a 47% de P na forma orgânica.

O Po do solo se expressa como dreno quando os processos de imobilização de Pi superam os de mineralização de Po (NOVAIS; SMYTH, 1999). Solos com altos teores de argila, como o do presente estudo (Tabela 1), e óxidos de Fe e Al resultam em maior aporte de P ao compartimento geoquímico em relação ao biológico. Dessa forma, sistemas de produção que reduzem as perdas de Po do solo são importantes para manter a disponibilidade de P às plantas (CONTE et al., 2003). Todos os sistemas de sucessão de culturas possuem a maior parte das suas reservas de P na forma inorgânica, em que nos sistemas com cultivo de plantas de cobertura apresentaram em média 69% de Pi total e o pousio/escarificação em torno de 74%.

A contribuição relativa do Po lábil e do Pi lábil foram diferentes entre os manejos, em que o maior incremento no Pi lábil foi observado na sucessão de culturas com sorgo (74% de Pi lábil), enquanto no manejo com pousio/escarificação a maior proporção foi do Po lábil, com 61% (Figura 6C). O Po pode contribuir para a nutrição das culturas, com a liberação de ácidos orgânicos e enzimas por meio de plantas e microrganismos realizando a mineralização do Po (RICHARDSON; SIMPSON, 2011).

Os sistemas de sucessão com milho e crotalária tiveram contribuição relativa de Pi lábil e Po lábil semelhantes, em torno de 34% de Pi lábil (Figura 6C). O Pi lábil presente na sucessão envolvendo a cultura do sorgo é composto em sua maioria pela forma inorgânica facilitando o suprimento para as plantas. Rodrigues et al. (2016) verificaram em áreas do Cerrado com mecanização do solo que a contribuição do P lábil do solo foi de origem orgânica enquanto para os sistemas de semeadura direta foi de forma inorgânica. Contudo, o conhecimento das transformações de P pelas plantas de cobertura são importantes para possibilitar aumento da disponibilidade de P em sistemas de produção de longa duração, principalmente em solos intemperizados de regiões tropicais (TELES et al., 2017).

1.4 Conclusões

A produtividade da soja não foi influenciada pela disponibilidade de P, contudo os teores de P na massa de matéria seca da parte aérea dos cultivos de triticales e primavera no ano de 2016 e da soja nas safras 16/17 e 17/18 foram afetados pela maior disponibilidade de P no perfil analisado.

Na safra 16/17, todos os sistemas de sucessão de culturas com uso de plantas de cobertura recuperaram os 26 de kg ha⁻¹ de P adubados no cultivo da soja.

O acúmulo de P pelas raízes dos sistemas de sucessão demonstra a incorporação biológica de P em profundidade pelo intenso cultivo de plantas.

A disponibilidade de P no solo após 14 anos de sucessão de culturas em sistema de semeadura direta foi modificada pelo cultivo de plantas de cobertura. O cultivo prévio do sorgo aumenta a disponibilidade de P inorgânico em profundidade, enquanto o milho resultou em maior concentração de P orgânico em superfície.

De forma geral, os sistemas de sucessão de culturas com plantas de cobertura promoveram aumento do compartimento de P lábil na forma inorgânica na camada de 0-20 cm. Porém, no sistema de sucessão com o pousio/escarificação o compartimento de P lábil foi composto principalmente pela forma orgânica.

Referências

- ALMEIDA, D. S.; MENEZES-BLACKBURN, D.; ZHANG, H.; HAYGARTH, P. M.; ROSOLEM, C. A. Phosphorus availability and dynamics in soil affected by long-term ruzigrass cover crop. **Geoderma**, v. 337, p. 434-443, 2019.
- ALMEIDA, D. S.; PENN, C. J.; ROSOLEM, C. A. Assessment of phosphorus availability in soil cultivated with ruzigrass, **Geoderma**, v. 312, p. 64-73, 2018.
- ANDRADE, F. V.; MENDONÇA, E. S.; ALVAREZ, V. H.; NOVAIS, R. F. Adição de ácidos orgânicos e húmicos em Latossolos e adsorção de fosfato. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 27, n. 6, 1003-1011, 2003.
- BAIER, A. C.; NEDEL, J. L.; REIS, E. M.; WIETHÖLTER, S. **Triticale**: cultivo e aproveitamento. Passo Fundo: EMBRAPA-CNPT, 1994. (Documentos, 19).
- BAYER, C.; MIELNICZUK, J. Dinâmica e função da matéria orgânica. In: SANTOS, G. de A.; SILVA, L. S.; CANELLAS, L. P.; CAMARGO, F. A. O. (ed.). **Fundamentos da matéria orgânica do solo**: ecossistemas tropicais e subtropicais. 2.ed. Porto Alegre: Metrópole, 2008. p. 7-18.
- BOER, C. A.; ASSIS, R. L.; SILVA, G. P.; BRAZ, A. J. B. P.; BARROSO, A. L. L.; CARGNELUTTI FILHO, A.; PIRES, F.R. Ciclagem de nutrientes por plantas de cobertura na entressafra em um solo de Cerrado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 42, p. 1269-1276, 2007.
- BRAZ, A. J. B. P.; SILVEIRA, P. M.; KLIEMANN, H. J.; ZIMMERMANN, F. J. P. Acumulação de nutrientes em folhas de milho e dos capins braquiária e mombaça. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 34, p. 83-87, 2004.
- BROOKES, P. C.; POWLSON, D. S.; JENKINSON, D. S. Measurement of microbial biomass phosphorus in soil. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 14, p. 319-329, 1982.
- CALONEGO, J. C. **Uso de plantas de cobertura na recuperação de solo Compactado**. 2007. Tese (Doutorado em Agronomia - Agricultura) - Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2007.
- CALONEGO, J. C.; RAPHAEL, J. P. A.; RIGON, J. P. G.; OLIVEIRA NETO, L.; ROSOLEM, C. A. Soil compaction management and soybean yields with cover crops under no-till and occasional chiseling. **European Journal of Agronomy**, v. 85, p. 31-37. 2017.
- CANIATO, F. F.; HAMBLIN, M. T.; GUIMARAES, C. T.; ZHANG, Z.; SCHAFFERT, R. E.; KOCHIAN, L.V.; MAGALHAES, J. V. Association mapping provides insights into the origin and the fine structure of the sorghum aluminum tolerance locus, *Alt_{SB}*. **Plos One**, v. 9, p. 1-12, 2014.

CARPIM, L. K.; ASSIS, R. L.; BRAZ, A. J. B. P.; SILVA, G. P.; PIRES, F. R.; PEREIRA, V. C.; GOMES, G. V.; SILVA, A. G. Liberação de nutrientes pela palhada de milho em diferentes estádios fenológicos. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 32, p. 2813-2819, 2008.

CARVALHO, W. A.; ESPÍNDOLA, C. R.; PACCOLA, A. A. **Levantamento de solos da Fazenda Lageado – Estação Experimental “Presidente Médici”**. Botucatu: Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista, 1983. (Boletim técnico, 1).

CONAB. Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento da safra brasileira de grãos**. Brasília: Conab, v. 6, n. 12, safra 2018/19, p. 1-47, 2019.

CONDRON, L. M.; GOH, K. M. Effects of long-term phosphatic fertilizer applications on amounts and forms of phosphorus in soils under irrigated pasture in New Zealand. **Journal of Soil Science**, v. 40, p. 383-395, 1989.

CONTE, E.; ANGHINONI, I.; RHEINHEIMER, D. S. Frações de fósforo acumuladas em Latossolo argiloso pela aplicação de fosfato no sistema plantio direto. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 27, n. 5, p. 893-900, 2003.

CROSS, A. F., SCHLESINGER, W. H. A literature review and evaluation of the Hedley fractionation: applications to the biogeochemical cycle of soil phosphorus in natural ecosystems. **Geoderma**, v. 64, p. 197-214, 1995.

CRUSCIOL, C. A. C.; SORATTO, P. R. Sistemas de produção e eficiência agrônômica de fertilizantes. In: PROCHNOW, L. I.; CASARIN, V.; STIPP, S. R. **Boas práticas para uso eficiente de fertilizantes: contexto mundial e práticas de suporte**. Piracicaba: IPNI, 2010. v. 1, p. 231-268.

DAYTON, E. A.; WHITACRE, S.; HOLLOMAN, C. Comparison of three persulfate digestion methods for total phosphorus analysis and estimation of suspended sediments. **Applied Geochemistry**, v. 78, p. 357-362, 2017.

DEISS, L.; MORAES, A.; DIECKOW, J.; FRANZLUEBBERS, A. J.; GATIBONI, L. C.; SASSAKI, G. L.; CARVALHO P. C. F. Soil phosphorus compounds in integrated crop-livestock systems of subtropical Brazil. **Geoderma**, v. 274, p. 88-96, 2016.

DICK, W. A.; TABATABAI, M. A. Determination of orthophosphate in aqueous solutions containing labile organic and inorganic phosphorus compounds. **Journal of Environmental Quality**, v. 6, n. 1, p. 82-85, 1977.

EMBRAPA. EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. 5. ed. rev. ampl. Brasília, DF: Embrapa, 2018.

US EPA. United States Environmental Protection Agency. **Method 365.3: Phosphorous, All Forms (Colorimetric, Ascorbic Acid, Two Reagent)**. 1978. 5p. Disponível em: https://www.epa.gov/sites/production/files/2015-08/documents/method_365-3_1978.pdf. Acesso em: 10/08/2018.

ESTEVEES, J. A. F.; ROSOLEM, C. A. Triticale, milho e adubação fosfatada para formação de palhada em semeadura direta. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 35, n. 3, p. 981-990, 2011.

FOLTRAN, E. C.; ROCHA, J. H. T.; BAZANI, J. H.; GONCALVES, J. L. D.; RODRIGUES, M.; PAVINATO, P.; VALDUGA, G. R.; ERRO, J.; GARCIA-MINA, J. M. Phosphorus pool responses under different P inorganic fertilizers for a eucalyptus plantation in a loamy Oxisol. **Forest Ecology and Management**, v. 435, p. 170-179, 2019.

FRANCHINI, J. C.; MALAVOLTA, E.; MIYAZAWA, M.; PAVAN, M. A. Chemical changes in acid soils after application of plant residues. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 23, p. 533-542, 1999.

FRANCHINI, J. C.; PAVAN, M. A.; MIYAZAWA, M. Redistribution of phosphorus in soil through cover crop roots. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 47, n. 3, p. 381-386, 2004.

GATIBONI, L. C.; BRUNETTO, G.; RHEINHEIMER, D. S.; KAMINSKI, J. Fracionamento químico das formas de P do solo: usos e limitações. In: ARAÚJO, A. P.; ALVES, B. J. R. (eds.). **Tópicos em Ciência do Solo**. Editora: SBCS, 2013. v. 8, p. 141-187.

GATIBONI, L. C. **Disponibilidade das formas de fósforo do solo às plantas**. 2003. Tese (Doutorado em Agronomia) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2003.

GATIBONI, L. C.; KAMINSKI, J.; RHEINHEIMER, D. S.; FLORES, J. P. C. Biodisponibilidade de formas de fósforo acumuladas em solo sob sistema plantio direto. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 31, n. 4, p. 691-699, 2007.

GUERRA, J. G. M.; FONSECA, M. C. C.; ALMEIDA, D. J.; DEPOLLI, H.; FERNANDES, M. S. Conteúdo de fósforo em amostras de solos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 31, p. 291-299, 1996.

HALLAMA, M.; PEKRUN, C.; LAMBERS, H.; KANDELER, E. Hidden miners – the roles of cover crops and soil microorganisms in phosphorus cycling through agroecosystems. **Plant Soil**, v. 434, p. 7-45, 2019.

HE, Z.; HONEYCUTT, C. W. A modified molybdenum blue method for orthophosphate determination suitable for investigating enzymatic hydrolysis of organic phosphates. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v. 36, p. 1373-1385, 2005.

HEDLEY, M. J.; STEWART, J. W. B.; CHAUHAN, B. S. Changes in inorganic and organic soil phosphorus fractions induced by cultivation practices and by laboratory incubations. **Soil Science Society of America Journal**, v. 46, p. 970-976, 1982.

HINSINGER, P. Bioavailability of soil inorganic P in the rhizosphere as affected by root induced chemical changes: a review. **Plant Soil**, v. 237, p. 173-195, 2001.

HUFNAGEL, B.; SOUSA, S. M.; ASSIS, L.; GUIMARAES, C. T.; LEISER, W.; AZEVEDO, G. C.; NEGRI, B.; LARSON, B. G.; SHAFF, J. E.; PASTINA, M. M.; BARROS, B. A.; WELTZIEN, E.; RATTUNDE, H. F. W.; VIANA, J. H.; CLARK, R. T.; FALCÃO, A.; GAZAFFI, R.; GARCIA, A. A. F.; SCHAFFERT, R. E.; KOCHIAN, L. V.; MAGALHAES, J. V. Duplicate and conquer: multiple homologs of PHOSPHORUS-STARVATION TOLERANCE₁ enhance phosphorus acquisition and sorghum performance on low-phosphorus soils. **Plant Physiology**, v. 166, p. 659-677, 2014.

JANEGITZ, M. C.; INOUE, B. S.; ROSOLEM, C. A. Formas de fósforo no solo após o cultivo de braquiária e tremoço branco. **Ciência Rural**, v. 43, n. 8, p.1381-1386. 2013.

JANEGITZ, M. C.; MARTINS, A. R. H.; ROSOLEM, C. A. Cover Crops and Soil Phosphorus Availability. **Communications in soil science and plant analysis**, v. 48, n. 10, p. 1240-1246, 2017.

KAMH, M.; HORST, W. J.; AMER, F.; MOSTAFA, H.; MAIER, P. Mobilization of soil and fertilizer phosphate by cover crops. **Plant Soil**, v. 211, p. 19-27, p. 1999.

KUO, S.; HUANG, B.; BEMBENEK, R. Effects of long-term phosphorus fertilization and winter cover cropping on soil phosphorus transformations in less weathered soil. **Biology and Fertility of Soils**, v. 41, p. 116-123, 2005.

LEITE, J. N. F.; CRUZ, M C. P.; FERREIRA, M. E.; ANDRIOLI, I.; BRAOS, L. B. Frações orgânicas e inorgânicas do fósforo no solo influenciadas por plantas de cobertura e adubação nitrogenada. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 51, n. 11, p. 1880-1889, 2016.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G. C.; OLIVEIRA, S. A. **Avaliação do estado nutricional de plantas: Princípios e aplicações**. Piracicaba: Potafos, 1997.

MANSCHADI, A. M.; KAUL, H.; VOLLMANN, J.; EITZINGER, J.; WENZEL, W. Developing phosphorus-efficient crop varieties – An interdisciplinary research framework. **Field Crops Research**, v. 162, p. 87-98, 2014.

MARCELO, A. V.; CORÁ, J. E.; FERNANDES, C. Sequências de culturas em sistema de semeadura direta: I - produção de matéria seca e acúmulo de nutrientes. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 36, n. 5, p. 1553-1567, 2012.

MENEZES-BLACKBURN, D.; GILES, C.; DARCH, T. GEORGE, T. S.; BLACKWELL, M.; STUTTER, M.; SHAND, C.; LUMSDON, D.; COOPER, P.; WENDLER, R.; BROWN, L.; ALMEIDA, D. S.; WEARING, C.; ZHANG, H.; HAYGARTH, P. M. Opportunities for mobilizing recalcitrant phosphorus from agricultural soils: a review. **Plant and Soil**, v. 427, p.5–16, 2018.

MONQUERO, P. A.; HIRATA, A. C. S. Manejo de plantas daninhas com adubação verde. *In*: LIMA FILHO, O. F.; AMBROSANO, E. J.; ROSSI, F.; CARLOS, J. A. D. (eds). **Adubação verde e plantas de cobertura no Brasil**. Brasília: Embrapa, 2014. v. 1, cap. 13, p. 481-507.

MURPHY, J.; RILEY, J. P. A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters. **Analytica Chimica Acta**, v. 27, p. 31-36, 1962.

NASCIMENTO, C. C.; PAGLIARI, P.; SCHMITT, D.; HE, Z.; WALDRIP, H. Phosphorus Concentrations in Sequentially Fractionated Soil Samples as Affected by Digestion Methods. **Scientific Reports**. v. 5, n. 17967, p. 1-13, 2015.

NEGASSA, W.; LEINWEBER, P. how does the Hedley sequential phosphorus fractionation reflect impacts of land use and management on soil phosphorus: a review. **Journal of Plant Nutrition and Soil Science**, v. 127, p. 305-325, 2009.

NOVAIS, R. F.; SMYTH, T. J. **Fósforo em solo e planta em condições tropicais**. Viçosa: UFV, DPS, 1999.

OLIBONE, D.; CALONEGO, J. C.; PAVINATO, P. S.; ROSOLEM, C. A. Crescimento inicial de soja sob efeito de resíduos de sorgo. **Planta Daninha**, v. 24, n. 2, p. 255-26, 2006.

OLIVEIRA JÚNIOR, A.; CASTRO, C.; OLIVEIRA, F. A. Soja. In: PROCHNOW, L. I., CASARIN, V., STIPP, S. R. **Boas práticas para uso eficiente de fertilizantes: culturas**. Piracicaba: IPNI, 2010. v. 3, p. 5-35.

OTABBONG, E.; PERSSON, J.; IAKIMENKO, O.; SADOVNIKOVAL, L. The Ultuna long-term soil organic matter experiment. **Plant Soil**, v. 195, p. 17-93, 1997.

PAVINATO, P. S.; ALEXANDRE, M.; ROSOLEM, C. A. Organic compounds from plant extracts and their effect on soil phosphorus availability. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 43, n. 10, p. 1379-1388, 2008.

PAVINATO, P. S.; MERLIN, A.; ROSOLEM, C. A. Phosphorus fraction in Brazilian Cerrado Soils as affected by tillage. **Soil & Tillage Research**, v. 105, n. 1, p.149-155, 2009.

PAVINATO, P. S.; ROSOLEM, C. A. Disponibilidade de nutrientes no solo: decomposição e liberação de compostos orgânicos de resíduos vegetais. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 32, n. 3, p. 911-920, 2008.

PEREIRA, A. P.; SCHOFFEL, A.; KOEFENDER, J.; CAMERA, J. N.; GOLLE, D. P.; HORN, R. C. Ciclagem de nutrientes por plantas de cobertura de verão. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 40, n. 4, p. 120-129, 2017.

QUIQUAMPOIX, H.; MOUSAIN, D. Enzymatic hydrolysis of organic phosphorus. In: TURNER, B. L.; FROSSARD, E.; BALDWIN, D. (eds.). **Organic Phosphorus in the environment**. 1. ed. Wallingford: CABI, 2005. Cap. 5, p. 89-112.

RAIJ, B. Van; ANDRADE, J. C.; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J. A. **Análise química para avaliação da fertilidade de solos tropicais**. Campinas: Instituto Agrônômico, 2001.

RAMOS, S. J.; FAQUIN, V.; RODRIGUES, C. R.; SILVA, C. A. Efeito residual das aplicações de fontes de fósforo em gramíneas forrageiras sobre o cultivo sucessivo da soja em vasos. **Bragantia**, v. 69, n. 1, p. 149-155, 2010.

RHEINHEIMER, D. S.; ANGHINONI, I. Distribuição do fósforo inorgânico em sistemas de manejo de solo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 36, n. 1, p. 151-160, 2001.

RHEINHEIMER, D. S. **Dinâmica do fósforo em sistemas de manejo de solos**. 2000. Tese (Doutorado em Ciência do Solo), Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2000.

RHEINHEIMER, D. S.; FORNARI, M. R.; BASTOS, M. C.; FERNANDES, G.; SANTANNA, M. A.; CALEGARI, A.; CANALLI, L. B. S.; CANER, L.; LABANOWSKI, J.; TIECHER, T. Phosphorus distribution after three decades of different soil management and cover crops in subtropical region. **Soil and Tillage Research**, v. 192, p. 33-41, 2019.

RICHARDSON, A. E.; SIMPSON, R. J. Soil microorganisms mediating phosphorus availability update on microbial phosphorus. **Plant Physiology**, v. 156, p. 989-996, 2011.

RIGON, J. P. G. **Sistemas de produção como fatores determinantes da quantidade e qualidade da matéria orgânica do solo**. 2017. Tese (Doutorado em Agronomia - Agricultura) – Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2017.

RODRIGUES, M.; PAVINATO, P. S.; WITHERS, P. J. A.; TELES, A. P. B.; HERRERA, W. F. B. Legacy phosphorus and no tillage agriculture in tropical oxisols of the Brazilian savana. **Science of The Total Environment**, v. 542, Part B, p. 1050-1061, 2016.

ROSOLEM, C. A.; CALONEGO, J. A. Phosphorus and potassium balance in the soil-plant system in crop rotations under no-till. **Soil & Tillage Research**, v. 126, p. 127-133, 2013.

ROSOLEM, C. A.; CALONEGO, J. A. Soybean root growth and yield in rotation with cover crops under chiseling and no-till. **European Journal of Agronomy**, v. 33, p. 242-249, 2010.

RUDORFF, B.; RISSO, J. **Agrosatélite Geotecnologia Aplicada Análise geoespacial da dinâmica da soja no bioma Cerrado: 2014 a 2017**. Florianópolis: GTC. 2018.

SÁ, J. C. M. Adubação fosfatada no sistema plantio direto. In: YAMADA, T.; ABDALLA, S. R. S. (eds). **Fósforo na agricultura brasileira**. Piracicaba: Potafos, 2004. p.106-114.

SÁ, J. C. M.; SÉGUY, L.; SÁ, M. F. M.; FERREIRA, A. O.; BRIEDIS, C.; SANTOS, J. B.; CANALLI, L. Gestão da matéria orgânica e da fertilidade do solo visando

sistemas sustentáveis de produção. *In*: PROCHNOW, L. I.; CASARIN, V.; STIPP, S. R. **Boas práticas para uso eficiente de fertilizantes**: contexto mundial e práticas de suporte. Piracicaba: IPNI, 2010. v. 1, p. 383-420.

SANTANA, G.; ASCENCIO, J. Capacidad de crecimiento de "Crotalaria juncea" L. en condiciones de deficiencia de fósforo. **Agronomía Tropical**, v. 61, n. 3-4, p. 221-230, 2011.

SANTOS, D. R.; GATIBONI, L. C.; KAMINSKI, J. Fatores que afetam a disponibilidade do fósforo e o manejo da adubação fosfatada em solos sob sistema plantio direto. **Ciência Rural**, v. 38, n. 2, p. 576-586, 2008.

SANTOS, H. P.; TOMM, G. O. Disponibilidade de nutrientes e teor de matéria orgânica em função de sistemas de cultivo e de manejo de solo. **Ciência Rural**, v. 33, n. 3, p. 477-486, 2003.

SCHMITT, D. E.; BRUNETTO, G.; SANTOS, E.; WAGNER, W. L.; SETE, P. B.; SOUZA, M.; AMBROSINI, V. G.; SANTOS, M. A.; TIECHER, T.; COMIN, J. J.; COUTO, R. R.; GATIBONI, L. C.; GIACHINI, A. Phosphorus fractions in apple orchards in southern Brazil. **Bragantia**, v. 76, p. 422-32, 2017.

SCHONINGER, E. L. **Capacidade de absorção de fósforo pela soja e por plantas de cobertura do solo**. 2011. Dissertação (Mestrado em Manejo do Solo) – Universidade do Estado de Santa Catarina – UDESC, Lages, 2011.

SILVA, E. C.; MURAOKA, T.; FRANZINI, V. I.; VILLANUEVA, F. C. A.; BUZETTI, S.; MORETI, D. Phosphorus utilization by corn as affected by green manure, nitrogen and phosphorus fertilizers. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 47, n. 8, p. 1150-1157, 2012.

SILVA, E. C.; MURAOKA, T.; GUIMARÃES, G. L.; BUZETTI, S. Acúmulo de nutrientes em plantas de cobertura e no milho cultivado em sucessão sob diferentes doses de nitrogênio em Plantio direto. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v. 5, n. 2, p. 202-217, 2006.

SILVA, J. A. A.; VITTI, G. C.; STUCHI, E. S. Reciclagem e incorporação de nutrientes ao solo pelo cultivo intercalar de adubos verdes em pomar de laranja pêra. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 24, n. 1, p. 225-230, 2002.

SILVA, M. A.; NÓBREGA, J. C. A.; NILTON, C.; SIQUEIRA, J. O.; MARQUES, J. J. G. M.; MOTTA, P. E. F. Frações de fósforo em Latossolos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 38, p. 1197-1207, 2003.

SILVA, R. R.; FARIA, A. J. G.; AUGUSTA NETO, A.; PEREIRA, T. A.; DIAS, J. S.; SANTOS, A. C. M.; CHAGAS JUNIOR, A. F.; FREITAS, G. A.; NASCIMENTO, V. L. High P Availability in Brazilian Cerrado Soils Reduces Nodulation and Grain Yield of Soybean. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v. 50, n.10, p. 1267-1277, 2019.

SORATTO, R. P.; CRUSCIOL, C. A. C.; COSTA, C. H. M.; FERRARI NETO, J.; CASTRO, G. S. A. Produção, decomposição e ciclagem de nutrientes em resíduos de crotalária e milheto, cultivados solteiros e consorciados. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 47, n. 10, p. 1462-1470, 2012.

SUBBIAH, B. V.; MANNIKAR, N. D. Selection of green manure crops for the uptake of subsoil phosphorus - studies with ^{32}P . **Indian Journal of Agricultural Science**, v. 34, p. 21-27, 1964.

TELES, A. P. B.; RODRIGUES, M.; HERRERA, W. F. B.; SOLTANGHEISI, A.; SARTOR, L. R.; WITHERS, P. J. A.; PAVINATO, P. S. Do cover crops change the lability of phosphorus in a clayey subtropical soil under different phosphate fertilizers. **Soil Use and Management**, v. 33, n. 1, p. 34-44, 2017.

TORRES, J. L. R.; PEREIRA, M. G.; FABIAN, A. J. Produção de fitomassa por plantas de cobertura e mineralização de seus resíduos em plantio direto. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 43, n. 3, p. 421-428, 2008.

VALADARES, R. V.; ÁVILA-SILVA, L.; TEIXEIRA, R. S.; SOUSA, R. N.; VERGÜTZ, L. Green manures and crop residues as source of nutrients in tropical environment. In: LARRAMENDY, M. (ed.). **Organic Fertilizers** – from basic concepts to applied outcomes. Londres: IntechOpen, 2016. v. 1, cap. 3, p. 51-84. DOI: 10.5772/62981. Disponível em: <https://www.intechopen.com/books/organic-fertilizers-from-basic-concepts-to-applied-outcomes/green-manures-and-crop-residues-as-source-of-nutrients-in-tropical-ambiente>. Acesso em: 05/09/2019.

YANG, J.; WANG, Z.; ZHOU, J.; JIANG, H.; ZHANG, J.; PAN, P.; HAN, Z.; LU, C.; LI, L.; GE, C. Inorganic phosphorus fractionation and its translocation dynamics in a low-P soil. **Journal of environmental radioactivity**, v. 112, p. 64-69, 2012.

YANG, K.; ZHU, J.; GU, J.; YU, L.; WANG, Z. Changes in soil phosphorus fractions after 9 years of continuous nitrogen addition in a *Larix gmelinii* plantation. **Annals of Forest Science**, v. 72, n. 4, p. 435–442, 2015.

ZAMUNER, E. C.; PICONE, L. I.; ECHEVERRIA, H. E. Organic and inorganic phosphorus in Mollisol soil under different tillage practices. **Soil and Tillage Research**, v. 99, n. 2, p. 131-138, 2008.

ZIBLIM, I. A.; PAUL, G. S.; TIMOTHY, K. A. Assessing soil amendment potentials of *Mucuna pruriens* and *Crotalaria juncea* when used as fallow crops. **Journal of Soil Science and Environmental Management**, v. 4, p. 28-34, 2013.

CAPÍTULO 2 – Diversidade bacteriana e disponibilidade de fósforo do solo em sistemas de sucessão de culturas

Resumo

A microbiota do solo é de fundamental importância para a ciclagem de P. Aliado a isso tem-se o cultivo de plantas de cobertura em sistemas agrícolas, que promove o aumento e a diversificação da biomassa microbiana. O objetivo deste trabalho foi avaliar a influência dos sistemas de sucessão de culturas de longa duração sobre os atributos químicos e disponibilidade de fósforo do solo, além dos atributos biológicos e diversidade bacteriana do solo. A pesquisa foi realizada nas safras 2016/2017 e 2017/2018, em Nitossolo Vermelho, cujos tratamentos foram instalados e mantidos desde 2003, em Botucatu-SP. O delineamento experimental utilizado foi o de blocos casualizados com quatro repetições, sendo as parcelas constituídas pelos cultivos de primavera: milho, sorgo forrageiro, crotalária, além de uma área de pousio/escarificação. Os atributos químicos do solo, após 14 anos de sucessão de culturas em sistema de semeadura direta, foram modificados pelo cultivo das plantas de cobertura, em que os maiores valores de cálcio ($67 \text{ mmol}_c \text{ dm}^{-3}$), saturação de bases (72%), e nitrogênio ($1,83 \text{ g kg}^{-1}$) foram favorecidos pelo cultivo de crotalária, proporcionando uma condição de menor acidez ao solo, com pH em média de 5,6 nos cultivos sob pousio/escarificação e crotalária. As plantas de cobertura promoveram aumento médio nas concentrações de carbono da biomassa microbiana (C_{mic}) do solo de 150% em relação ao pousio/escarificação. Os sistemas de sucessão de culturas influenciaram na atividade microbiológica do solo, principalmente a crotalária. A maior atividade da enzima desidrogenase ocorreu sob cultivo de plantas de cobertura, chegando a 66% a mais no cultivo do sorgo do que no pousio/escarificação. As alterações nos atributos químicos e biológicos do solo pelos sistemas de sucessão de culturas influenciaram na composição e abundância das bactérias solubilizadoras de P. Com o cultivo de plantas de cobertura, quanto maior os teores de P_i lábil e P_o moderadamente lábil, maior a abundância das bactérias solubilizadoras de P.

Palavras-chave: Plantas de cobertura. Comunidade bacteriana. Solubilização de P.

Bacterial diversity and soil phosphorus availability in crop succession systems

Abstract

Soil microbiota is of fundamental importance for phosphorus cycling. The increase and diversification of microbial biomass in agricultural systems is influenced by use of cover crops. The objective of this work was to evaluate the effect of long-term crop succession systems on chemical attributes and soil phosphorus availability, in addition to biological attributes and soil bacterial diversity. The research was carried out during the cycles of 2016/2017 and 2017/2018, in the Typic Rhodudalf, whose treatments have been installed and maintained since 2003, in Botucatu-SP. The experimental design was a randomized block design with four replications, and the plots consisted of spring crops: pearl millet, forage sorghum, sunn hemp and besides of an area fallow. Soil chemical attributes, after 14 years of succession of crops under no-tillage system, were modified by crop rotation, where the highest calcium values (67 mmolc dm^{-3}), base saturation (72%), and nitrogen (1.83 g kg^{-1}) were favored by crotalaria cultivation, resulting in increased pH and higher phosphorus concentration. The cover crops promoted an average increase in soil microbial biomass carbon (C_{mic}) concentrations of 150% compared to fallow. Crop rotation systems influence soil microbiological activity, especially in crotalaria. The highest activity of the enzyme dehydrogenase occurred in the cover crops, sorghum being 66% higher than fallow. Changes in soil chemical and biological attributes by crop succession systems influenced the composition and abundance of P solubilizing bacteria. With the cultivation of cover crops, the higher the levels of labile P_i and moderately labile P_o , the greater the abundance of P solubilizing bacteria.

Keywords: Cover crops. Bacterial community. Solubilization of P.

2.1 Introdução

Ao longo de milhões de anos, os microrganismos adaptaram-se às transformações ocorridas nos ecossistemas formando comunidades microbianas, chamadas de microbiomas, presentes nos animais, plantas, água e solo (FOO et al., 2017).

No solo, os microbiomas desempenham funções importantes no funcionamento do ecossistema, como ciclagem de nutrientes e carbono. Desta forma, a maior abundância, atividade e composição microbiana determinam a produtividade e a estabilidade do sistema (BÜNEMANN et al., 2006; van der HEIJDEN et al., 2008; BROPHY et al., 2017). Contudo, o manejo do solo geralmente interfere nos processos biológicos, em que as práticas agrícolas, como mecanização, baixo aporte de carbono e menor diversidade de plantas nos sistemas de produção, reduzem a biomassa microbiana composta pelos reinos archaea, bactéria, fungos e protista (McDANIEL et al., 2013). Esses microrganismos são importantes para a fertilidade do solo, contribuindo para a disponibilidade de nutrientes e, conseqüentemente, para a nutrição das plantas por meio da decomposição da matéria orgânica e renovação microbiana do solo (BENDER et al., 2016).

Uma das formas de impedir o declínio da biodiversidade microbiana é o cultivo de plantas de cobertura na entressafra, que são capazes de moldar a microbiota do solo associada à raiz, atraindo os microrganismos por meio dos exsudatos radiculares. Além disso, a maior diversidade de plantas traz benefícios gerais para o sistema de produção agrícola promovendo maior resiliência (SMALLA et al., 2001; VUKICEVICH et al., 2016).

A comunidade microbiana do solo é importante na dinâmica de fósforo (P) do solo (RICHARDSON; SIMPSON, 2011), pois embora a biomassa microbiana contenha apenas 0,4-2,5% do total de P nos solos cultivados, ela pode desempenhar um papel fundamental na solubilização de P no solo (OBERSON; JONER 2005). Entre os microrganismos do solo, as bactérias solubilizadoras de P podem representar até 50% da biomassa microbiana (GYANESHWAR et al., 2002).

A ação das bactérias na solubilização de P é um fator importante em solos agrícolas uma vez que grande parte do P está presente em formas insolúveis, ou seja, não disponível às plantas. Dessa forma, essas bactérias têm a capacidade de aumentar os teores de P que beneficiam a nutrição de plantas, mineralizando as formas orgânicas recalcitrantes e solubilizando as inorgânicas insolúveis ligadas a fosfatos de Ca, Fe e Al (SCHWOPPE et al., 2003; RICHARDSON; SIMPSON, 2011).

De maneira geral, o solo é um ambiente caracterizado pela oligotrofia, baixa disponibilidade de nutrientes (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006). A disponibilidade limitada de P no solo favorece a ocorrência de microrganismos oligotróficos, como as bactérias do filo Acidobacteria (BERGKEMPER et al., 2016). As bactérias copiotróficas são

caracterizados por ter maior ocorrência em ambientes com alto teor de nutrientes, como as bactérias do filo Actinobactérias (LEFF et al. 2015; HO et al., 2017).

Algumas bactérias do filo *Actinobacteria*, como as do gênero *Streptomyces* sp. e *Micromonospora* sp., solubilizam o P por meio da liberação ácidos orgânicos (citrato, formiato, succinato, lactato, malato), mobilizando o Pi das superfícies de óxidos na troca de ligantes ou na sua dissolução de fosfatos (Ca, Fe e Al) liberando o P adsorvido (FILIUS et al., 1997; HOBERG et al., 2005; HAMDALI et al., 2008). O filo das *Proteobacteria* dominam entre as bactérias solubilizadores de fosfato de cálcio por meio da liberação de ácidos orgânicos (YANG et al., 2012), sendo representados pelos gêneros *Azospirillum* sp., *Bradyrhizobium* sp., *Burkholderia* sp., *Enterobacter* sp., *Mesorhizobium* sp., *Pantoea* sp., *Pseudomonas* sp. e *Sphingomonas* sp. (OLIVEIRA et al., 2009; MIDEKSSA et al., 2016; VARGAS et al., 2017). Enquanto, o filo *Firmicutes*, representado pelos gêneros *Bacillus* sp. e *Paenibacillus* sp., tem maior eficiência na solubilização de P por meio da liberação de ácidos orgânicos e fosfatase ácida (AHMAD et al., 2018; LI et al., 2019). A atividade da fosfatase ácida proporciona a mineralização bioquímica do Po de moléculas orgânicas sem a degradação do carbono (NANNIPIERI et al., 2011).

Em geral, o aumento da solubilização de P pelas bactérias pode estar associado à redução do pH, como ocorre nos gêneros *Actinomadura* sp. e *Arthrobacter* sp. do filo *Actinobacteria* e no gênero *Flavobacterium* sp. do filo *Bacteroidetes*. Essa alteração iônica promovida pelas bactérias ocorre devido a liberação de agentes complexantes, polímeros extracelulares, ácidos inorgânicos e H^+ , este último por meio da assimilação do NH_4^+ (RODRÍGUEZ; FRAGA, 1999; CHEN et al., 2006; PUENTE et al. 2004; RODRÍGUEZ et al., 2006; LIDBURY et al., 2019; NAFIS et al., 2019). Além disso, existem bactérias que pela atividade da enzima desidrogenase na solubilização de P, em que produzem o ácido glucônico na oxidação da glicose, que solubiliza fosfatos inorgânicos (SULEMAN et al., 2018).

Os solos brasileiros sob cultivo agrícola contêm grandes reservas de P provenientes da aplicação de adubações além da necessidade das culturas, que são realizadas para reduzir o impacto da imobilização do P inorgânico em óxidos e hidróxidos de Fe e Al em solos altamente intemperizados (RODRÍGUEZ; FRAGA, 1999; WITHERS et al., 2018). Atualmente, um número considerável de pesquisas têm sido desenvolvidas para encontrar soluções de acesso a essa reserva de P, que pode atender à demanda da safra brasileira por muitos anos e, assim, auxiliar na redução

das taxas de adubação fosfatada (OLIVEIRA et al., 2009; YANG et al., 2012; ALMEIDA et al., 2018; WITHERS et al., 2018; ARRUDA et al., 2019; LI et al., 2019; SCRASE et al., 2019).

Diante disso, as análises microbiológicas do solo permitem investigar sobre as funções das comunidades microbianas na nutrição de plantas. As abordagens de sequenciamento profundo (também conhecidas como sequenciamento de nova geração – NGS) são usados para avaliar a diversidade microbiana em ambientes complexos, como o solo (RINCON-FLOREZ et al., 2013). A análise envolve a classificação taxonômica (unidade operacional taxonômica – OTU) dos microrganismos. Estudos baseados em NGS possibilitam observar as alterações da diversidade das comunidades bacterianas do solo em função dos sistemas de manejo agrícola (DE MANDAL et al., 2015).

Dessa forma, a microbiota do solo é de fundamental importância para a ciclagem de P (CARDOSO; ANDREOTE, 2016), aliado ao cultivo de plantas de cobertura em sistemas agrícolas, que promove o aumento e a diversificação da biomassa microbiana, principalmente as da família *Fabaceae* e *Poaceae*, que podem mobilizar o P adsorvido para a cultura subsequente, melhorando, em geral, a ciclagem de nutrientes (ISBELL et al., 2017; HALLAMA et al., 2019; KAFLE et al., 2019). Assim, aventa-se a hipótese que a microbiota do solo pode ser modificada de acordo com o cultivo de plantas de cobertura, levando à alteração dos atributos químicos e biológicos do solo e disponibilidade de P do solo. O objetivo deste trabalho foi avaliar a influência dos sistemas de sucessão de culturas de longa duração sobre os atributos químicos e disponibilidade de fósforo do solo, além dos atributos biológicos e diversidade bacteriana do solo.

2.2 Material e Métodos

No presente estudo foram realizadas avaliações de fertilidade e microbiológicas do solo e avaliações moleculares das comunidades bacterianas presentes no solo dos sistemas de sucessão de cultura. Dessa forma, foi utilizada a mesma área experimental, histórico e rotações de cultura, época de condução, delineamento experimental e tratamentos do estudo do capítulo 1. Os dados das diferentes frações de fósforo do capítulo anterior foram correlacionados com os dados moleculares do presente capítulo.

O delineamento experimental utilizado em ambos os capítulos foi o de blocos casualizados com quatro repetições. Dessa forma, são consideradas parcelas os cultivos de primavera (milheto, crotalária, sorgo forrageiro e pousio/escarificação).

Cada parcela experimental foi demarcada com uma área útil de 40 m² (5 x 8 m). No cultivo do triticale instalado em toda a área experimental, foram semeadas 29 linhas com um espaçamento entrelinhas de 0,17 m em cada parcela. No cultivo das culturas de primavera foram semeadas 29 linhas de milheto, sorgo e crotalária com um espaçamento entrelinhas de 0,17 m. A soja foi semeada em todas as parcelas com um espaçamento entrelinhas de 0,45 m, resultando em 11 linhas de semeadura. Os corredores entre os blocos e entre as parcelas foram dimensionados com 4 m de largura. O experimento utilizou uma área total de 736 m² (46 x 16 m).

2.2.1 Coletas e análises de solo

Antes da semeadura da soja na safra 2017/2018, no mês de novembro, foi realizada a coleta do solo nas linhas e entrelinhas de cultivo na camada de 0-10 cm. Foram coletadas 4 subamostras de solo por parcela com estrutura deformada por meio de trados tipo sonda, e acondicionadas em sacos plásticos no interior de caixas térmicas. As amostras foram levadas ao laboratório, reunidas e divididas em duas frações: uma parte das amostras para análises de amônio que foram mantidas a 2 °C em câmara fria e a outra foi peneirada em malha de 2 mm, secas ao ar e conservadas em temperatura ambiente para as determinações de fertilidade do solo: pH (CaCl₂), fósforo (P), potássio (K), cálcio (Ca), magnésio (Mg), enxofre (S), acidez potencial (H+Al³⁺) e saturação por bases (V%) (RAIJ et al., 2001), C e N totais e para a análise de fracionamento do fósforo do solo (descrito no capítulo 1). Também foi separada uma parte de solo antes da secagem ao ar para as análises microbiológicas (carbono microbiano, atividade das enzimas desidrogenase e fosfatase ácida).

Para as análises moleculares foram coletadas amostras de solo na camada de 0-10 cm no mesmo dia da coleta supracitada. A coleta foi realizada com uso de luvas esterilizadas, com o auxílio de espátulas, as quais foram esterilizadas em hipoclorito de sódio a 1% por imersão a cada coleta na parcela. Foram retiradas 6 subamostras em cada parcela, as quais foram homogeneizadas para compor a amostra de cada parcela. Em seguida, os materiais com o solo foram armazenados em tubos plásticos de 15 mL, armazenados em refrigeração a -20 °C para posterior processamento.

2.2.2 Avaliações

2.2.2.1 Determinação de Amônio

O procedimento iniciou-se pesando 5 g de solo úmido em frasco para extração. Foi adicionado 50 mL da solução KCl 1 mol L⁻¹ no frasco para extração contendo o solo úmido, que foi submetido a agitação por 60 minutos, e em seguida colocado para decantar, sendo o sobrenadante filtrado em papel filtro (RAIJ et al., 2001).

Os reagentes para determinação do amônio foram preparados da seguinte forma: primeiro foi usado 1 g de ácido salicílico, 1 g de citrato de sódio tribásico dihidrato e 0,42 g de hidróxido de sódio em 19 mL de água deionizada, deixando repousar por 2 h até completa dissolução do ácido salicílico. O segundo foi adicionado 0,02 g de nitroprussiato de sódio em 20 mL de água deionizada. E o terceiro foi adicionado 0,62 mL de hipoclorito de sódio comercial (concentração de 4-6%) em 20 mL de água deionizada. Os reagentes foram adicionados na ordem descrita, aguardando 30 minutos para iniciar a leitura na absorvância de 690 nm (MULVANEY, 1996). Essas determinações foram realizadas no Laboratório de Relações Solo-Planta da FCA/UNESP, Botucatu-SP.

2.2.2.2 Carbono orgânico e Nitrogênio total

O solo coletado, conforme descrito no item 2.2.1, foi moído em moinho de bolas e, em seguida, submetido à análise dos teores de C orgânico total (COT) e N total (NT) do solo, realizada por meio de analisador elementar automático (Modelo TruSpec™ CHNS, da LECO®) (SWIFT, 1996), realizadas no Laboratório de Relações Solo-Planta da FCA/UNESP, Botucatu-SP.

2.2.2.3 Análises microbianas

As análises microbiológicas realizadas foram: carbono da biomassa microbiana do solo, atividade da enzima desidrogenase e fosfatase ácida, respiração basal e quociente metabólico do solo. Essas análises foram realizadas no Laboratório de Biologia do Solo da Universidade do Oeste Paulista - Faculdade de Ciências Agrárias (UNOESTE).

O carbono da biomassa microbiana (C_{mic}) foi determinado pelo método da fumigação-extração (VANCE et al., 1987), com modificações. O solo coletado foi posto em estufa a 30 °C por 24 horas e após esse tempo foi peneirado em malha de 2 mm.

Em Erlenmeyer com capacidade de 125 mL foram pesadas e dispostas 50 g de cada amostra, em duplicata. Em ambas foram colocados 3 mL de água destilada e uma das duas amostras foi irradiada em micro-ondas por 70 segundos. Após o processo de irradiação, todas as amostras, até mesmo as não-irradiadas receberam 50 mL de sulfato de potássio (0,5 mol) e foram agitadas por 30 minutos em uma mesa agitadora orbital. Deixou-se decantar e filtrou-se em papel filtro. Posteriormente retirou-se uma alíquota de 10 mL da amostra filtrada e acrescentou 2 mL de $K_2Cr_2O_7$ ($0,066 \text{ mol L}^{-1}$); 10 mL de H_2SO_4 ; 5 mL de H_3PO_3 e esperou-se esfriar. Em seguida, foram acrescentadas 3 gotas de solução fenil-alanina e realizou-se a titulação com sulfato ferroso amoniacal (0,04). Para a realização da leitura foram feitas amostras de branco com todos os reagentes, exceto com a amostra extraída do solo.

O carbono foi calculado a partir da equação 1:

$$C \text{ (mg Kg}^{-1}\text{)} = \frac{(Vb - Va) \times N \times 1000 \times V_{extrator}}{(V_{extrato} \times \text{massa seca do solo})} \quad (1)$$

Onde:

C = carbono extraído;

Vb = valor gasto do sulfato ferroso amoniacal (mL), titulado no branco da amostra;

Va = valor gasto do sulfato ferroso amoniacal (mL) na titulação da amostra;

N = 0,677 (normalidade exata do sulfato ferroso amoniacal);

Vextrator = 50mL (volume de K_5SO_4 utilizado na extração);

Vextrato = 10mL (volume de K_5SO_4 utilizado para à análise);

Massa seca do solo = 50 g (peso de solo seco utilizado para extração com sulfato de potássio).

O carbono foi calculado tanto para a amostra não irradiada como para a amostra irradiada e calculou-se posteriormente o C_{mic} a partir da equação 2:

$$C_{mic} \text{ (mg C Kg}^{-1}\text{)} = \frac{CI - CNI}{Kec} \quad (2)$$

Onde:

C_I = Carbono da amostra irradiada;

C_{NI} = Carbono da amostra não irradiada;

K_{ec} = coeficiente de carbono extraído após irradiação, onde se adotou 0,21 (FRIGHETTO, 2000).

Os valores de quociente metabólico (qCO_2) foram definidos a partir da relação entre a respiração e o C_{mic} , conforme proposto por Anderson e Domsch (1993), sendo expresso em $mg\ C-CO_2\ g\ C_{mic}^{-1}\ h^{-1}$, conforme as equações 3 e 4:

$$qCO_2 = \frac{TRM}{C_{mic}} \quad (3)$$

$$TRM = \frac{RM}{d} \quad (4)$$

Onde:

TRM = taxa de respiração microbiana ($mg\ C-CO_2\ kg^{-1}\ dia^{-1}$);

C_{mic} = carbono da biomassa microbiana ($mg\ C\ kg^{-1}$);

RM = respiração microbiana ($mg\ C-CO_2\ kg^{-1}$);

d = dias de incubação para a determinação da respiração microbiana.

O $qMIC$ foi calculado de acordo com Sparling (1992), a partir da equação 5:

$$qMIC = \frac{C_{mic}}{\frac{COT}{10}} \quad (5)$$

Onde:

O $qMIC$ é apresentado em porcentagem (%); C_{mic} em $\mu g\ g^{-1}$; e COT em $g\ kg^{-1}$.

A respiração do solo foi avaliada segundo Alef e Nanipieri (1995), com modificações. Para essa análise foram pesados 50 g de solo de cada amostra, as quais foram mantidas dentro de frascos herméticos. Sobre a superfície do solo dentro de cada frasco foi colocado um becker de 50 mL contendo 40 mL de solução de NaOH $0,025\ mol\ L^{-1}$. Os frascos ficaram incubados pelo período de 96 horas. Para avaliar a retenção de CO_2 na solução foi utilizado o método condutimétrico (RODELLA; SABOYA, 1999), com leituras de condutividade na solução de NaOH a cada 24 horas,

empregando-se um condutivímetro de mesa Modelo O795A7 (Quimis® Aparelhos Científicos Ltda). A quantidade de CO₂ produzida pela respiração foi calculada utilizando-se a equação definida por Rodella e Saboya (1999) e os resultados foram expressos em mg de C-CO₂ g⁻¹ h⁻¹.

Para a realização da atividade da enzima desidrogenase, seguiu-se o método descrito por Casida et al. (1964), com modificações. Para essa análise foram adicionados 2 mL da solução de TTC (cloreto de 2,3,5 – trifeniltetrazólio) a 1% e 1 mL de glicose a 0,1% em 5 g de solo de cada amostra em tubos de vidro. O solo foi seco por 24 horas em estufa a 30 °C e peneirados em peneira de malha 2 mm. Realizou-se uma homogeneização e seguiu para incubação por 18 horas em estufa a 37 °C no escuro. Após o tempo estipulado, foram adicionados 9 mL de metanol em cada amostra para ocorrer a extração do TTC reduzido a trifenil formazan (TTF). Realizou-se uma filtragem com papel filtro e o líquido coletado foi lido em espectrofotômetro a 530 nm. Os resultados foram expressos em ug TTF g⁻¹ de solo 24 h⁻¹.

Para a análise enzimática da fosfatase ácida pesou-se 3x 1g de solo de cada amostra em tubo de ensaio (um foi o branco e os outros dois as amostras). Adicionou-se 0,2 mL de Tolueno, em seguida 4 mL de MUB (modified universal buffer) a pH 6,5. Acrescentou-se 1 mL de PNG (p-Nitrofenil fosfato dissódico exahidratado) diluído em MUB a pH 6,5 somente nas amostras. Agitou-se, os tubos foram fechados com filme stretch e foram colocados em banho-maria a 37 °C por uma hora. Após a incubação, adicionou-se 1 mL de CaCl₂ 0,5 mol L⁻¹ e 4 mL de NaOH 0,5 mol L⁻¹. Agitou-se e as amostras foram filtradas em papel filtro. Em seguida, procedeu-se com a leitura no espectrofotômetro a 400nm. Para os brancos, foi adicionado 1mL da solução de p-PNP (p-Nitrofenol) após a adição da solução de CaCl₂ 0,5 mol L⁻¹ e 4 mL de NaOH 0,5 mol L⁻¹, imediatamente antes de filtrar a suspensão de solo.

Adicionou-se à solução de CaCl₂ para interromper a reação e para evitar a coloração marrom causada pela matéria orgânica. A solução de NaOH é para extrair o p-nitrofenol liberado (TABATABAI; BREMNER, 1969), calculado pela equação 6.

$$p \text{ nitrofenol (mg g}^{-1} \text{ solo h}^{-1}) = \frac{C \times V}{PSS \times SW \times t} \quad (6)$$

Onde:

C = concentração de p-nitrofenol medido (mg mL⁻¹ de filtrado);

V = volume da suspensão do solo em mililitros;

PSS = peso seco de 1 g de solo;

SW = peso do solo usado;

T = tempo de incubação das amostras em hora.

2.2.2.4 Avaliação das comunidades bacterianas do solo

A extração de DNA a partir das amostras de solo coletadas foram realizadas utilizando o kit *DNeasy® Power Soil®* (Qiagen, USA), seguindo as recomendações do fabricante utilizando como ponto de partida 250 mg de solo.

O DNA extraído foi utilizado como fonte para a preparação da biblioteca e sequenciamento utilizando o protocolo *16S Metagenomic Sequencing Library Preparation* (Illumina, USA), segundo especificações do fabricante.

A preparação da biblioteca consiste na amplificação por PCR das regiões variáveis 3 e 4 (V3 e V4) do 16S rDNA, seguido de uma segunda reação de PCR para a indexação dos adaptadores. Para a quantificação da biblioteca foi utilizado o kit *Qubit dsDNA BR Assay* cuja leitura foi realizada no fluorímetro Qubit® 2.0, segundo recomendações do fabricante.

O sequenciamento de nova geração (NGS) foi conduzido utilizando o *MiSeq Reagent* kit v2 500 (Illumina, USA) no equipamento MiSeq (Illumina, USA) no Laboratório de Biologia Molecular do Hemocentro de Botucatu, Faculdade de Medicina, UNESP.

Os dados gerados no sequenciamento foram transferidos para o *BaseSpace* e pré-processados pelo software *MiSeq Report*, gerando arquivos no formato fastq e demultiplexados. No software *CLC Microbial Genomics Module* (Qiagen) do Laboratório Central Multiusuários (LACEM) da FCA, foi realizado clusterização das unidades taxonômicas operacionais (OTUs) com base no banco de dados SILVA 132 com similaridade de 97% entre as sequências. *Reads* com menos de 0,1% do total de *reads* clusterizados com o banco de dados, em cada amostra, não foram consideradas para a análise.

2.2.3 Análise estatística

Por meio da análise estatística univariada os dados de fertilidade e biológicos do solo foram submetidos à normalidade usando o teste de Kolmogorov – Smirnov. Em

sequência foram submetidos à análise de variância pelo teste F ($p \leq 0,05$) e ao teste LSD de comparação de médias, no nível de 5% de probabilidade.

As análises estatísticas multivariadas e de bioinformática foram realizadas no software CLC Microbial Genomics Module (Qiagen), para os parâmetros de alfa e beta-diversidade. O primeiro é utilizado nas análises do microbioma do solo para identificar se cada amostra do estudo é representativa para serem posteriormente comparadas. Enquanto a segunda estima as diferenças de OTUs entre as amostras do estudo. Os valores de alfa-diversidade foram calculados pela medida de Shannon. A análise de Beta-diversidade foi utilizada para comparar como as amostras sequenciadas se distanciam umas das outras em relação à composição da microbiota bacteriana do solo, diferenciando as OTUs entre as amostras do solo. Foi realizada a análise de componentes principais (PCoA) utilizando a medida de UniFrac (0,5) para estimar estas diferenças das OTUs. Para completar os dados de beta-diversidade foi realizada a análise PERMANOVA (Permutational multivariate analysis of variance) para comprovação significativa entre os tratamentos, corrigidos pelo teste de Boferroni.

Foi realizada a análise do diagrama de Venn para a comparação da sobreposição de genes diferencialmente, por meio do software CLC Microbial Genomics Module (Qiagen). Somente genes com valor de $p \leq 0,05$ foram considerados para fins de diferenciação.

Em seguida os dados foram submetidos à análise de redundância (RDA) para determinar a correlação entre a estrutura da comunidade microbiana e as propriedades químicas, microbiológicas e frações de P do solo. Foi realizada uma seleção dos gêneros solubilizadores de P mais representativos da comunidade bacteriana do solo, conforme dispõe a literatura (RODRÍGUEZ; FRAGA, 1999; OLIVEIRA et al., 2009; RICHARDSON et al., 2009; SHARMA et al. 2013; BEHERA et al., 2017; ALORI et al., 2017; ARIF et al., 2017; HALLAMA et al., 2019). As bactérias solubilizadoras de P, por meio do sequenciamento do gene 16S rDNA, foram agrupadas conforme o número de *reads* (número de vezes em que elas aparecem no sequenciamento) para cada sistema de sucessão.

O teste de permutação de Monte Carlo foi aplicado com 1000 permutações aleatórias para verificar a significância das propriedades químicas, microbiológicas e frações de P do solo em uma comunidade microbiana. As parcelas de RDA foram geradas usando Canoco 4.5 (Biometrics, Wageningen, Holanda). Foi utilizada a

PERMANOVA para testar se os sistemas de sucessão de culturas apresentavam os gêneros bacterianos significativamente diferentes (ANDERSON, 2001).

2.3 Resultados e discussão

2.3.1 Fertilidade do solo

Os sistemas de sucessão de culturas após 14 anos de cultivo modificaram a fertilidade química do solo da área em estudo. Apenas os valores de H+Al, K e Mg não foram afetados pelos cultivos de plantas de cobertura (Tabela 5).

Tabela 5 – pH, teores de P, K, Ca, Mg e H+Al, V%, teor de N, Amônio e carbono orgânico total (COT) do solo nas parcelas milheto, sorgo, crotalária e pousio/escarificação, na camada de 0-10 cm no ano de 2017.

Variáveis	MI ⁽¹⁾	SO	CR	PO	ANOVA ($P>F$)
pH (CaCl ₂)	5,4b	5,4b	5,5a	5,6a	0,0121
P (mg dm ⁻³)	22,9b	23,7b	25,7ab	28,3a	0,0500
K (mmol _c dm ⁻³)	2,2	2,0	2,1	1,9	NS
Ca (mmol _c dm ⁻³)	55b	55b	67a	58b	0,0202
Mg (mmol _c dm ⁻³)	16a	18a	23a	19a	NS
H+Al (mmol _c dm ⁻³)	45	45	36	42	NS
V%	62b	63b	72a	65ab	0,0500
N (g kg ⁻¹)	1,66ab	1,63b	1,83a	1,55b	0,0074
Amônio (mg kg ⁻¹ N)	5,50a	4,90ab	4,23bc	3,63b	0,0192
COT (g kg ⁻¹)	20,1	20,1	22,2	20,1	NS

Os valores seguidos por letras diferentes nas linhas diferem entre si pelo teste LSD ($p\leq 0,05$). NS: não significativo. ⁽¹⁾ MI = milheto; SO = sorgo; CR = crotalária e PO = pousio/escarificação.

Os sistemas sob cultivo de milheto e sorgo na primavera apresentaram os menores valores de pH do solo em comparação aos demais tratamentos ($p\leq 0,05$) (Tabela 5). Os valores de pH para os solos sob cultivo do milheto e sorgo estão dentro da faixa considerada como de média acidez, enquanto para a crotalária e o pousio/escarificação de baixa acidez (RAIJ et al., 1997).

Os teores de Ca e os valores de V% diferiram entre as sucessões de culturas ($p\leq 0,05$), em que o cultivo da crotalária apresentou os maiores valores entre os sistemas analisados (Tabela 5). Os cultivos do milheto e sorgo reduziram os teores de Ca do solo e conseqüentemente reduziram o V%, resultando em valores de pH

inferiores à crotalária. Os resíduos vegetais de diferentes culturas apresentam efeito contrastante em relação à redução da acidez do solo (LOPES et al., 2004).

As *Fabaceae*, de modo geral, por liberarem ácidos orgânicos em maior velocidade do que as gramíneas no processo de decomposição dos resíduos, têm maior poder de adsorção de H^+ a esses compostos orgânicos de baixo peso molecular, resultando no aumento do pH do solo (FRANCHINI et al., 1999; MIYAZAWA et al., 1993; MIYAZAWA et al., 2002). Outro fator que contribui é que as *Fabaceae* tropicais não acidificam suas rizosferas, devido a assimilação de ureídeos na fixação de N_2 , que apresenta pKa alto e assim não se dissociam na sua metabolização, consequentemente não liberam H^+ no citoplasma das células do xilema. Desta forma, não ocorre uma grande retirada de cátions do solo para compensação iônica (BOLAN et al., 1991). Vale salientar que os sistemas de sucessão de culturas que reduzem o pH e a concentração de Ca e Mg^{2+} afetam a atividade microbiana do solo e, consequentemente, a disponibilidade do P (ALVEY et al. 2001; NZIGUHEBA et al., 2002).

A concentração de P extraído por resina no sistema de sucessão com pousio/escarificação foi significativamente maior do que no milho e no sorgo, porém, semelhante à crotalária (Tabela 5). Em solos argilosos com concentrações consideradas média a alta de P, o aumento do pH eleva a disponibilidade desse elemento (VIVIANI et al., 2010). O que pode ser explicado pelo fato de maiores valores de pH reduzirem as quantidades de cargas positivas do solo, diminuindo a capacidade adsorção do fosfato nos óxidos e hidróxidos de Fe e Al do solo. Outro efeito é a redução da forma $H_2PO_4^-$ (forma preferencialmente adsorvida) em relação ao HPO_4^{2-} (SCHWERTMANN; CORNELL, 2000; NOVAIS et al., 2007). Vale ressaltar que os teores de P, K, Ca e Mg e os valores de V% encontrados no presente estudo estão dentro da faixa considerada média, não sendo limitantes para o desenvolvimento das plantas (RAIJ et al., 1997).

O cultivo da crotalária apresentou o maior teor de nitrogênio total (N) do solo em relação ao sorgo e pousio/escarificação (Tabela 5). O maior aporte de N pela crotalária deve-se pela capacidade dessa cultura em realizar a fixação biológica do N atmosférico (N_2) no solo e pela relação C/N inferior em comparação às *Poaceae* cultivadas na primavera, contribuindo para a decomposição mais rápida dos resíduos culturais (TRINSOUTROT et al., 2000; SHEKINAH; STUTE, 2018).

Rigon (2017), estudando a qualidade da matéria orgânica na mesma área de estudo que o presente trabalho, verificou que o teor e o acúmulo de N nos resíduos culturais da crotalária chegaram a ser 30% superior em relação ao milho e o sorgo. O aporte sequencial dos resíduos culturais de crotalária ao longo dos 14 anos de condução do experimento contribuiu para aumentar a concentração de N no cultivo da crotalária. O maior teor de N no solo aumenta a taxa de mineralização das formas de Po, pelo fato do N permitir o aumento da atividade de microrganismos responsáveis por essa mineralização, já que o N será fundamental na síntese de enzimas como fosfatase e desidrogenase que atuam nessa conversão das formas de Po (GUIGNARD et al., 2017; SHAH et al., 2017).

Porém, na área cultivada com crotalária, mesmo apresentando maiores valores de N, não se observou o mesmo comportamento em relação à concentração de amônio, sendo significativamente inferior ao cultivo do milho, contudo semelhante ao sorgo e pousio/escarificação. A maior concentração de NH_4^+ sob cultivo do milho e sorgo deve-se à redução da atividade nitrificante do solo (SUBBARAO et al., 2006), ou seja, uma forma de conservar o N do solo já que o sorgo e o milho não fixam N no solo como a crotalária. Estudos demonstram que as raízes do sorgo e milho apresentam substâncias inibidoras da nitrificação, porém esse mecanismo não limita a disponibilidade de N para o desenvolvimento de plantas e atividade microbiana (SUBBARAO et al., 2007). A inibição biológica da nitrificação favorece o aumento da disponibilidade de P para as plantas, pois quando o NH_4^+ é absorvido, o H^+ é liberado pelas raízes das plantas ocasionando a acidificação da rizosfera resultando na dissolução de fosfatos aumentando o suprimento de P para as plantas (MARSCHNER, 1995). Nas leguminosas fixadoras de N, em geral, não são encontradas substâncias inibidoras da nitrificação como ocorre no sorgo e milho (SUBBARAO et al., 2007).

Os sistemas de sucessão de culturas não diferiram significativamente nos teores de carbono orgânico total (COT) do solo (Tabela 5). O mesmo comportamento foi verificado por Rigon (2017), na mesma área em estudo, em que os cultivos de primavera obtiveram teores de 20,4 a 22,6 g kg^{-1} de COT, semelhantes a este trabalho. A manutenção dos teores de COT é importante na dinâmica do P, visto que o aumento da sua concentração é correlacionado positivamente com as formas de P orgânico lábil e moderadamente lábil, assim como o P inorgânico lábil devido que em parte é derivado da decomposição da matéria orgânica (WANG et al., 2006; HOU et

al., 2014). Dessa forma, o acúmulo de COT no solo possibilita o aumento da biomassa microbiana e consequentemente a produção de enzimas como desidrogenase e fosfatase ácida envolvidas na solubilização de P (ALLISON; VITOUSEK, 2005).

2.3.2 Biomassa microbiana e atividade enzimática do solo

A biomassa microbiana e a atividade enzimática do solo foram influenciadas pelos sistemas de sucessão de cultura, exceto para a variável respiração do solo, que não diferiu significativamente (Tabela 6).

O cultivo de plantas de cobertura na primavera promoveu as maiores concentrações de Cmic do solo em relação ao pousio/escarificação, chegando a um aumento médio de 150% (Tabela 6). Manejos do solo que proporcionam maiores teores de Cmic possuem maior capacidade para estocar e ciclar nutrientes provenientes dos resíduos culturais dos cultivos em sucessão (STENBERG, 1999).

Tabela 6 – Carbono microbiano (Cmic), quociente metabólico (qCO₂), quociente microbiano (qMIC), Nitrogênio microbiano (Nmic), Respiração basal do solo (RBS), desidrogenase e fosfatase ácida do solo nas parcelas milheto, sorgo, crotalária e pousio/escarificação, na camada de 0-10 cm no ano de 2017.

Variáveis	MI ⁽¹⁾	SO	CR	PO	ANOVA (P>F)
Cmic (mg C kg ⁻¹)	305,53a	338,42a	347,43a	132,36b	<0,0001
qCO ₂ (mg C-CO ₂ g Cmic ⁻¹ h ⁻¹)	0,36b	0,34b	0,30b	0,70a	0,0021
qMIC (%)	1,54a	1,69a	1,38a	0,65b	0,0018
RBS (mg C-CO ₂ g ⁻¹ h ⁻¹)	0,11	0,11	0,09	0,09	NS
Desidrogenase (ug TTF g ⁻¹ 24 h ⁻¹)	2,92ab	2,88b	3,76a	1,73c	0,0033
Fosfatase ácida (mg pNP g ⁻¹ h ⁻¹)	183,73ab	186,30a	162,93b	188,78a	0,0500

Os valores seguidos por letras diferentes nas linhas diferem entre si pelo teste LSD ($p \leq 0,05$). NS: não significativo. ⁽¹⁾ MI = milheto; SO = sorgo; CR = crotalária e PO = pousio/escarificação.

O sistema de sucessão com pousio/escarificação, pela ausência de produção de fitomassa durante a primavera, resulta na menor proteção do solo, ocasionando menor umidade e temperaturas mais altas em relação aos tratamentos sob cultivos de plantas de cobertura, e consequentemente a redução do Cmic do solo e a ciclagem de nutrientes (CARNEIRO et al., 2008; ZHAO et al., 2019). Como o COT não obteve diferença significativa entre os sistemas de sucessão (Tabela 5), a maior cobertura vegetal nos sistemas de sucessão sob cultivo de plantas de cobertura aumenta a biomassa microbiana (GUIMARÃES et al., 2017). Isso ocorre por meio da liberação de exsudatos radiculares orgânicos solúveis, como aminoácidos, ácidos orgânicos,

carboidratos e enzimas que estimulam o desenvolvimento da microbiota do solo (PEREZ et al., 2004; MOREIRA; SIQUEIRA, 2006). Levando em consideração que a área de pousio/escarificação a cada três anos passa por uma escarificação, esse efeito pode contribuir para a redução da biomassa microbiana. Esse mesmo comportamento foi observado por Bettio e Araújo (2016), em que o manejo com escarificador resultou em desequilíbrio microbiano no solo.

A ausência de plantas de cobertura no pousio/escarificação influenciou no maior qCO_2 e menor $qMIC$ ($p \leq 0,05$) em comparação aos sistemas de sucessão com plantas de cobertura (Tabela 6). O maior qCO_2 no pousio/escarificação é um indicador de maior desequilíbrio da microbiota do solo e reflete o nível do distúrbio ocasionado pelo manejo do solo (SANTOS et al., 2006). Além disso, a escarificação realizada no pousio/escarificação pode reduzir a estabilidade de agregados do solo, onde os microrganismos ficam protegidos em condições adversas, o que também ocorre na ausência de plantas de cobertura na primavera pela exposição da radiação solar e consequentemente aumento da temperatura do solo, tornando a comunidade microbiana instável (BALOTA et al., 1998). Com as menores concentrações de qCO_2 sob os cultivos de plantas de cobertura, menos carbono dos resíduos culturais foi utilizado para o metabolismo energético (respiração da microbiota) e mais foi incorporado aos tecidos microbianos (TÓTOLA; CHAER, 2002; CUNHA et al., 2011).

O menor $qMIC$ no pousio/escarificação (abaixo de 1%) indica menor capacidade de assimilação do carbono pela biomassa microbiana (Tabela 6) (WARDLE, 1994). Sparling (1992) sugere que o intervalo de $qMIC$ de 1 a 5% em solos não limita a utilização do carbono. Dessa forma, ocorre menor incorporação do COT na biomassa microbiana no sistema do pousio/escarificação (DADALTO et al., 2015). Assim, os manejos com cultivo de plantas de cobertura indicam uma condição mais favorável ao aumento do C_{mic} , que reflete em maior capacidade de imobilização temporária de nutrientes, entre eles o P. Com a lise das células da microbiota após a renovação da biomassa microbiana, decorrente de variações climáticas, ciclo de vida e manejo do solo, o P retorna ao solo representando um dos processos importantes na dinâmica do nutriente do solo (BUCHANAN; KING, 1992; OBERSON; JONER 2005).

A atividade potencial dos microrganismos do solo analisadas por meio das enzimas fosfatase ácida e desidrogenase do solo apresentaram comportamento diferente para os sistemas de sucessão (Tabela 6). A atividade da enzima desidrogenase no solo sob os cultivos de plantas de cobertura diferiram

significativamente em relação ao pousio/escarificação. A diferença da atividade chega a 66% em relação ao cultivo do sorgo e 117% ao cultivo da crotalária. A superioridade da atividade da enzima desidrogenase nos cultivos de plantas de cobertura de primavera denota maior capacidade do solo em manter a atividade biológica necessária para a fertilidade e sustentabilidade do sistema (BALOTA et al., 2013), o que leva a uma maior quantidade de matéria orgânica a ser decomposta (CERRI et al., 1992). A degradação da lignina é o principal processo oxidativo catalisado pela enzima desidrogenase, importante para a decomposição de resíduos vegetais que apresentam alto teor de lignina e, consequentemente, maior liberação de nutrientes (BURNS et al., 2013).

Rigon et al. (2018) verificaram que a crotalária mostrou maior concentração de lignina em relação ao milho e sorgo na mesma área do presente estudo, o que pode explicar a maior atividade da enzima sob esse cultivo em comparação ao sorgo e pousio/escarificação. Aliado à capacidade degradação da lignina, a maior liberação dessa enzima por meio das bactérias potencializa a oxidação da glicose a ácido glucônico, ocasionando redução no pH no ambiente extracelular e, consequentemente, a solubilização do fósforo (GYANESHWAR et al., 1999; SONG et al., 2008).

A atividade da fosfatase ácida no cultivo da crotalária foi diferente ($p \leq 0,05$) nos sistemas de sucessão com sorgo e pousio/escarificação (Tabela 6). A redução da atividade da fosfatase ácida no solo sob o cultivo da crotalária resulta em menor mineralização bioquímica do P orgânico (sem consumo do carbono da matéria orgânica) por meio dessa enzima (NANNIPIERI et al., 2011). Essa menor atividade da fosfatase ácida no solo sob cultivo da crotalária, em relação aos demais sistemas de sucessão de culturas, pode estar relacionado com a composição diferente das comunidades microbianas do solo (WALDROP et al., 2000). Marklein e Houlton (2012) verificaram redução da atividade da fosfatase ácida no solo em diferentes ecossistemas quando ocorre maior entrada de N e P no sistema, comportamento semelhante quando ocorre apenas a adição de P.

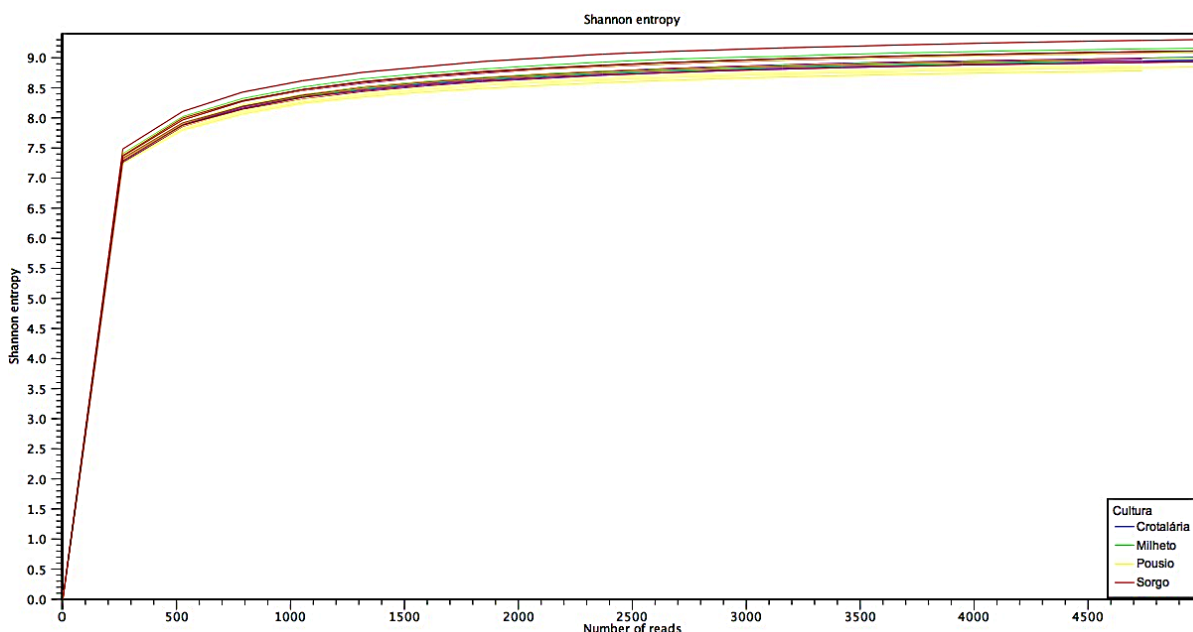
Como o cultivo da crotalária apresentou maior teor de N e P em relação ao sorgo, pode-se elencar como outro fator de redução da fosfatase ácida no solo, além da diferente composição da comunidade microbiana na menor concentração da enzima fosfatase ácida. Nahas (2002) analisou a influência de diferentes manejos na comunidade de microrganismos produtores de fosfatase ácida, em que esperava que

o cultivo da mucuna que fixa N_2 atmosférico (semelhante à crotalária) apresentasse maior diversidade de microrganismos, mas o que observou foi uma redução das populações de bactérias produtoras de fosfatase ácida quando comparado com *Urochloa* e pousio/escarificação. Dessa forma, pode-se inferir que a microbiota do solo sob cultivo da crotalária possui maior atividade de solubilização de P por meio da enzima desidrogenase, enquanto nos cultivos sob *Poaceae* observa-se maior atividade da enzima fosfatase ácida.

2.3.3 Diversidade microbiana do solo sob cultivo de plantas de cobertura por inferência do gene 16S rDNA

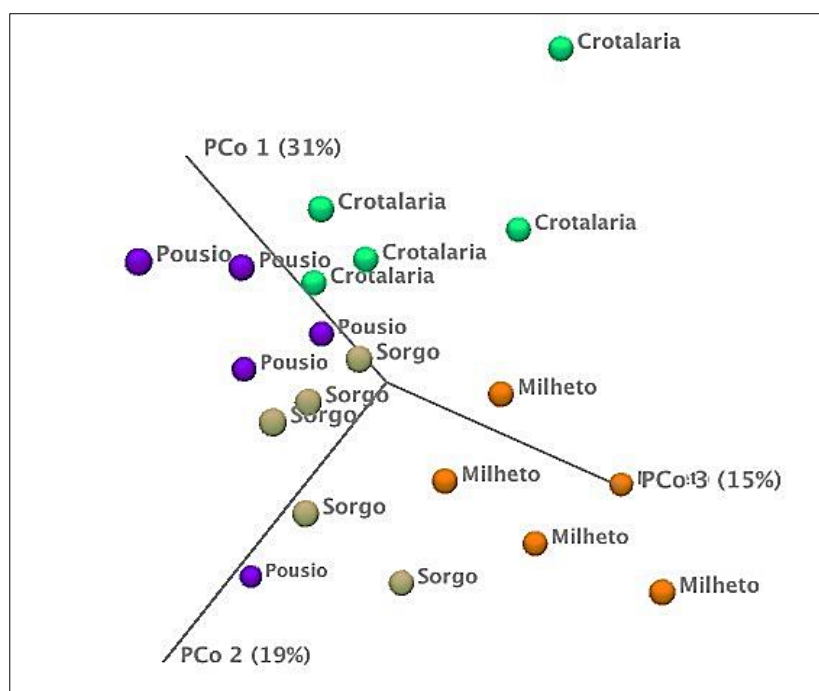
A alfa-diversidade, que permite quantificar a riqueza da microbiota do solo, ou seja, a diversidade de microrganismos sequenciados (KUCZYNSKI et al., 2010), analisa o número de unidades taxonômicas operacionais (OTUs) em função do número de vezes que elas aparecem (nº de *reads*) em uma amostra (MORGAN; HUTTENHOWER, 2012). Desta forma, foi verificado no presente estudo que a riqueza bacteriana entre os tratamentos foi semelhante, ou seja, o cultivo de plantas de cobertura não alterou a alfa-diversidade bacteriana do solo (Figura 7). Esse resultado pode ser explicado pelo fato dos tratamentos terem sido implantados sob as mesmas características edafoclimáticas.

Figura 7 – Alteração da alfa-diversidade da comunidade bacteriana do solo nas parcelas milho, sorgo, crotalária e pousio/escarificação. A diversidade foi quantificada pelo índice de Shannon (H') com base nas OTUs encontradas a 97% de similaridade.



Enquanto a alfa-diversidade indica similaridade na riqueza bacteriana do solo entre os sistemas de manejos, a beta-diversidade, por meio de componentes principais (PCoA) e pela distância métrica de UniFrac, possibilitou agrupar as amostras que compartilham da mesma comunidade bacteriana (LOZUPONE et al., 2011). A análise de PCoA explicou 65% da variação total da comunidade bacteriana, permitindo observar agrupamentos distintos das OTUs da crotalaria em relação aos demais tratamentos (Figura 8). Contudo, as OTUs do cultivo do sorgo e pousio/escarificação possuem semelhança, ou seja, compartilham em partes as mesmas bactérias. Porém, o milho e o pousio/escarificação se distanciam em relação a essa característica. O resultado indica a clusterização das amostras que, no geral, não distanciaram em grandes proporções.

Figura 8 – Análise de coordenadas principais (PCoA) revelando diferenciações entre as comunidades bacterianas do solo nas parcelas milho, sorgo, crotalaria e pousio/escarificação. Dados baseados na distância métrica de UniFrac.



A análise de variância multivariada permutacional (PERMANOVA) mede o tamanho e a significância da beta-diversidade bacteriana do solo, revelando diferença nos perfis de 100% de abundância das OTUs entre os sistemas de cultivos, com base na maior quantidade de *reads* das amostras (JARUSEVICIUS, 2018). Por meio dessa análise foram comparados dois sistemas de cultivo por vez. A distância métrica de

UniFrac é usada para verificar se as linhagens filogenéticas entre os tratamentos são significativamente diferentes (HAMADY et al., 2010; LOZUPONE et al., 2011). De acordo com essa análise, houve diferença significativa entre os sistemas de cultivo, confirmando a hipótese de que as plantas de cobertura diferem em diversidade bacteriana do solo (Tabela 7). Porém, não houve diferença significativa da composição bacteriana do solo entre os sistemas de cultivo com sorgo e pousio/escarificação. Essas diferenciações das OTUs são decorrentes das modificações das propriedades químicas e microbiológicas do solo promovidas pelas plantas de cobertura, conforme discutido anteriormente (Tabelas 5 e 6).

Tabela 7 – Beta-diversidade da comunidade bacteriana do solo pela análise PERMANOVA nas parcelas milho (MI), sorgo (SO), crotalária (CR) e pousio/escarificação (PO).

Grupo 1	Grupo 2	UniFrac ($p \leq 0,05$) p-value*
Milho	Pousio/escarificação	0,04762
Milho	Sorgo	0,04762
Crotalária	Milho	0,04762
Crotalária	Pousio/escarificação	0,04762
Crotalária	Sorgo	0,04762
Pousio/escarificação	Sorgo	0,2381

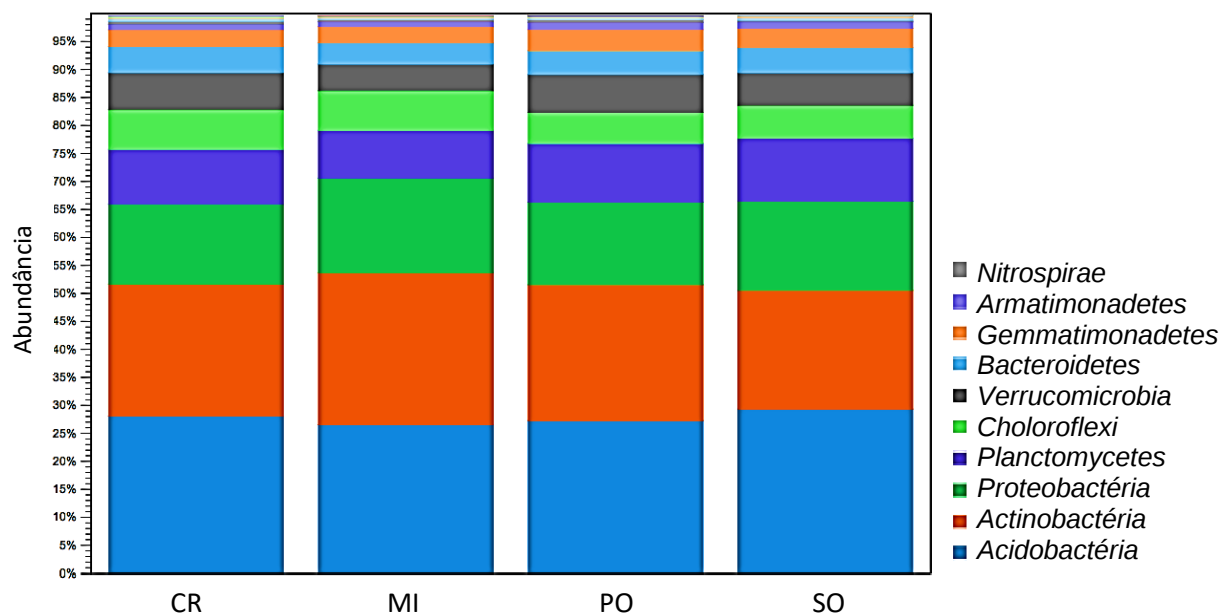
*Dados corrigidos pelo teste de Boferroni.

A estrutura da comunidade bacteriana do solo pela abundância combinada, ou seja, a soma de todas as *reads* de OTUs classificadas com abundância relativa maior que 1% foram divididas no nível de filo entre os sistemas sucessão de plantas de cobertura em 11 filos, a saber: *Acidobactéria*, *Actinobactéria*, *Armatimonadetes*, *Bacteroidetes*, *Chloroflexi*, *Gemmatimonadetes*, *Nitrospirae*, *Planctomycetes*, *Proteobactéria* e *Verrucomicrobia* (Figura 9). Os filos mais abundantes entre os sistemas de sucessão foram *Acidobactéria*, *Actinobactéria* e *Proteobactéria*. Schmidt et al. (2018), estudando a influência do cultivo de 15 anos de plantas de cobertura (triticale, centeio e ervilhaca, fava e rabanete) e sistemas de preparo do solo (sistema de semeadura direta e convencional), verificaram que os filos bacterianos dominantes no solo foram as *Actinobactérias* (27%), *Acidobactérias* (12%) e *Proteobactérias* (18%), semelhante ao tempo de condução e os dados encontrados neste trabalho.

O cultivo do sorgo apresentou a maior abundância relativa do filo *Acidobactéria* (30%), enquanto o milho apresentou maior abundância para os filos *Actinobactéria*

(27%) e *Proteobactéria* (17%) (Figura 9). As bactérias pertencentes aos filos *Acidobactéria* e *Proteobactéria* são adaptadas para sobreviver com uma taxa de crescimento mais lenta quando os recursos são limitados ou consistem em matéria orgânica mais complexa e recalcitrante (BERNARD et al., 2007; BASTIAN et al., 2009). As bactérias têm preferências diferenciadas no seu desenvolvimento no solo, como, por exemplo, as *Actinobactérias* são predominantes no interior dos microagregados do solo e são importantes no processo de decomposição dos resíduos culturais; enquanto as *Acidobactérias* são associadas às partículas de silte e argila do solo e associadas a solos com baixa taxa de mineralização do COT; já as *Proteobactérias* predominam em partículas maiores, como areia, e nesse filo inclui-se a maioria das bactérias responsáveis pela fixação de N₂ no solo. Dessa forma, a diferenciação da predominância bacteriana no solo pode definir funções ecológicas inerentes para cada filo (LAMBAIS et al., 2005; FIERER et al., 2007; KOPECKY et al. 2011; WANG et al., 2015).

Figura 9 – Abundância total de filos bacterianos do solo nas parcelas milheto (MI), sorgo (SO), crotalária (CR) e pousio/escarificação (PO).



Os cultivos do sorgo e milheto tiveram menor abundância do filo *Nitrospirae* em relação à crotalária e pousio/escarificação. A maior abundância do filo *Nitrospirae* ocorreu no solo da crotalária onde se obteve maior concentração de N (Tabela 5), denotando que esta comunidade é mais adaptada a essas condições (CARBONETTO

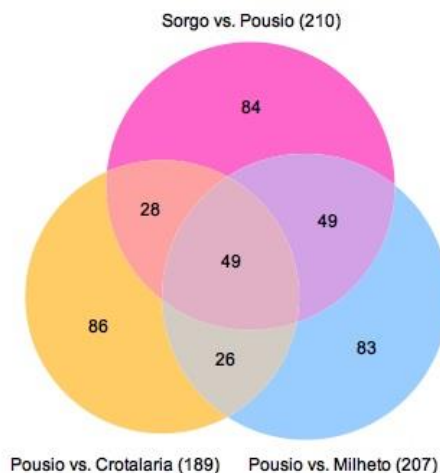
et al., 2014), tendo em vista que o filo *Nitrospirae* é representante acidofílico capaz de fixar N gasoso (TYSON et al., 2005). Em relação ao pousio/escarificação, a alta abundância do filo *Nitrospirae* deve-se ao pH do solo mais elevado nesse sistema de manejo em relação aos cultivos de milho e sorgo, o que de acordo com a literatura (ORR et al., 2011) favorece a sobrevivência desses microrganismos.

O filo *Gemmatimonadetes* teve maior ocorrência no tratamento do pousio/escarificação em relação aos demais tratamentos (Figura 9). As bactérias pertencentes a esse filo apresentam características oligotróficas, ou seja, têm preferência por ambientes com baixa disponibilidade de nutrientes. Estudos comprovam que ocorre aumento dessa comunidade quando ocorre redução do N do solo (CEDERLUND et al., 2014). Na época da primavera, o tratamento do pousio/escarificação permanece com ausência de plantas de cobertura, ficando exposto à radiação solar e aumentando a evaporação da água, podendo apresentar, desta forma, menor umidade do solo em relação aos demais tratamentos. Esse fator pode ter contribuído para o predomínio desta comunidade no pousio/escarificação, tendo em vista que é influenciada por solos mais secos (YAO et al., 2017).

O filo *Firmicutes* que é representado pelas bactérias do gênero *Bacillus* sp. apresentou frequência relativa menor que 1% no solo, não sendo apresentado no presente estudo. Pois, normalmente, solos bem fertilizados com P e alto teor de matéria orgânica reduzem a presença deste filo e aumenta a predominância do filo *Proteobactéria* representado pelas bactérias do gênero *Pseudomonas* sp., *Burkholderia* sp. e *Sphingomonas* sp. (SPOHN et al., 2015).

Por meio do diagrama de Venn é possível observar as OTUs compartilhadas entre os sistemas de sucessão de cultura (Figura 10). Apesar dos sistemas de cultivo apresentarem a mesma riqueza bacteriana, as estruturas destas comunidades mudam para cada sistema. Das 210 OTUs compartilhadas entre os sistemas de sucessão do sorgo e pousio/escarificação, 84 delas ocorrem somente entre esses dois sistemas e 49 são compartilhadas entre os demais tratamentos. Os cultivos do milho, sorgo e pousio/escarificação apresentam comportamento semelhante em relação ao compartilhamento de OTUs, enquanto o cultivo da crotalaria apresenta menor compartilhamento de OTUs, com 26 e 28 OTUs compartilhadas com sorgo e milho, respectivamente. Dessa forma, o cultivo da crotalaria apresenta uma estrutura de comunidade bacteriana com menor similaridade em relação aos demais tratamentos.

Figura 10 – Diagrama de Venn representando o número de OTUs da comunidade bacteriana do solo nas parcelas milheto, sorgo, crotalária e pousio/escarificação.

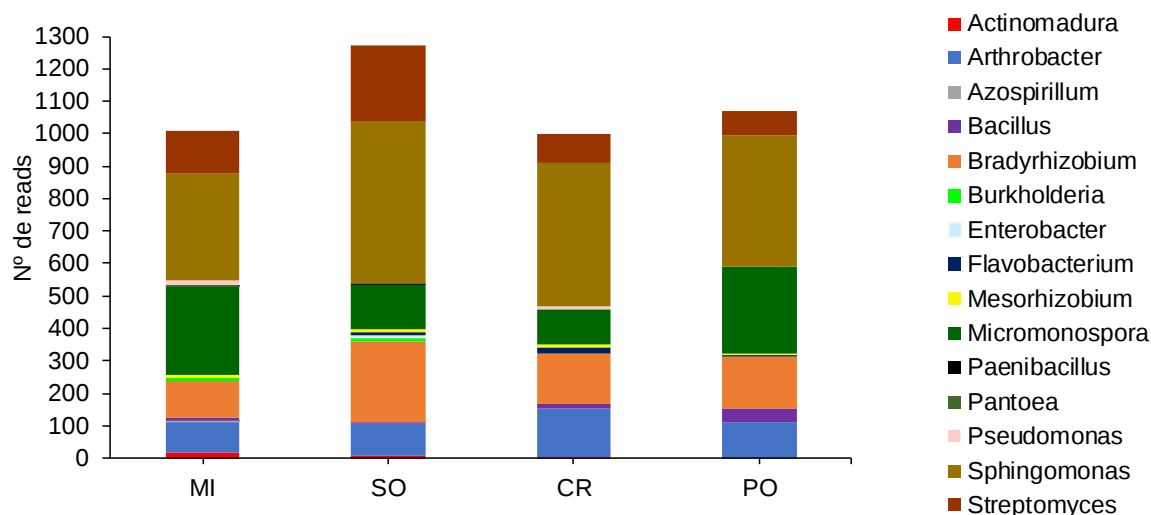


Os gêneros solubilizadores de P que obtiveram maior quantidade de *reads* designadas em ordem decrescente foram *Sphingomonas* sp., *Micromonospora* sp., *Bradyrhizobium* sp., *Streptomyces* sp. e *Arthrobacter* sp. (Figura 11).

De modo geral, o cultivo do sorgo apresentou maior quantidade de *reads* de bactérias solubilizadoras de P, em que se destacaram nesse tratamento os gêneros *Sphingomonas* sp., *Bradyrhizobium* sp. e *Streptomyces* sp., apresentando 500, 249 e 235 números de *reads*, respectivamente (Figura 11). Asaf et al. (2018) identificaram por meio do sequenciamento do gênero *Sphingomonas* sp. o gene responsável pela produção da enzima desidrogenase, apresentando, dessa forma, capacidade de solubilizar P no solo. Outro mecanismo que as *Sphingomonas* sp. podem auxiliar no aumento da disponibilidade de P é com a liberação de exopolissacarídeos que resultam no aumento do pH e consequentemente na precipitação do Al, auxiliando na redução da adsorção de P, e pela maior produção de fosfatase alcalina do que ácida, tendo em vista que a fosfatase alcalina tem maior atividade com o aumento do pH (PANHWAR et al., 2014; SUKWEENADHI et al., 2015). Os *Streptomyces* sp. produzem a enzima fitase que mineraliza o fitato do solo, que é a forma de P orgânico de alta reatividade mais predominante no solo, motivo pelo qual são adsorvidas aos coloides do solo (JOG et al., 2014). O Pi é o metabólito mais abundante nas células de *Bradyrhizobium* sp., essa imobilização de P na biomassa dos microrganismos é uma forma de proteger o P da adsorção no solo (LIU et al., 2018). Vale salientar que na renovação microbiana (lise bacteriana) o P poderá ser disponibilizado às plantas

(BUTTERLY et al., 2009). As bactérias desse gênero são utilizadas como inoculantes em culturas como soja e feijão, e ainda possuem capacidade de solubilizar fosfatos de cálcio e alumínio (MARRA et al., 2011).

Figura 11 – Abundância a nível de gênero da comunidade bacteriana do solo nas parcelas milheto (MI), sorgo (SO), crotalária (CR) e pousio/escarificação (PO). Dados baseados nos gêneros relatados na literatura como solubilizadores de P.



O gênero *Micromonospora* sp. obteve maior ocorrência no tratamento do milheto (Figura 11). Os mecanismos utilizados para a solubilização de P diferem para cada microrganismo, contudo o gênero *Micromonospora* sp. é capaz de solubilizar P de forma eficiente por meio de ácidos orgânicos (ácidos cítrico, oxálico, glucônico, málico, acético e lático), produzindo enzimas fosfatases ácidas e alcalinas e na alteração do pH (EL-TARABILY et al., 2008).

O gênero *Arthrobacter* sp. obteve maior número de *reads* no solo sob cultivo da crotalária (Figura 11). O gênero *Arthrobacter* sp. tem grande potencial de solubilização de P, atuando por meio da alteração do pH e na produção de ácidos orgânicos como cítrico e lático, solubilizando 93% e 23% a mais de P do que os gêneros *Bacillus* sp. e *Serratia* sp., respectivamente (CHEN et al., 2006). Os ácidos orgânicos com maior poder de disponibilização de P são o cítrico, oxálico, glucônico, lático e málico. Por apresentarem alta reatividade, competem com o P pelos sítios de adsorção e pela troca aniônica o P é liberado para a solução ou na quelatização de oxihidróxidos de Fe e Al, reduzindo a capacidade de adsorção do P no solo (GYANESHWAR et al., 2002; PAVINATO; ROSOLEM, 2008), justificando a importância da presença desse gênero no solo para a solubilização do P.

É importante salientar que no sistema de sucessão com o pousio/escarificação, 5 dos 15 gêneros apresentados como solubilizadores de P não foram encontrados, os quais são: *Burkholderia* sp., *Enterobacter* sp., *Flavobacterium* sp., *Paenibacillus* sp. e *Pantoea* sp. A ausência de plantas de cobertura no cultivo da primavera, associado ao menor teor de Cmic e qMIC (Tabela 6), que é a capacidade de assimilação da matéria orgânica, pode ter contribuído com a menor diversidade de gêneros nesse sistema.

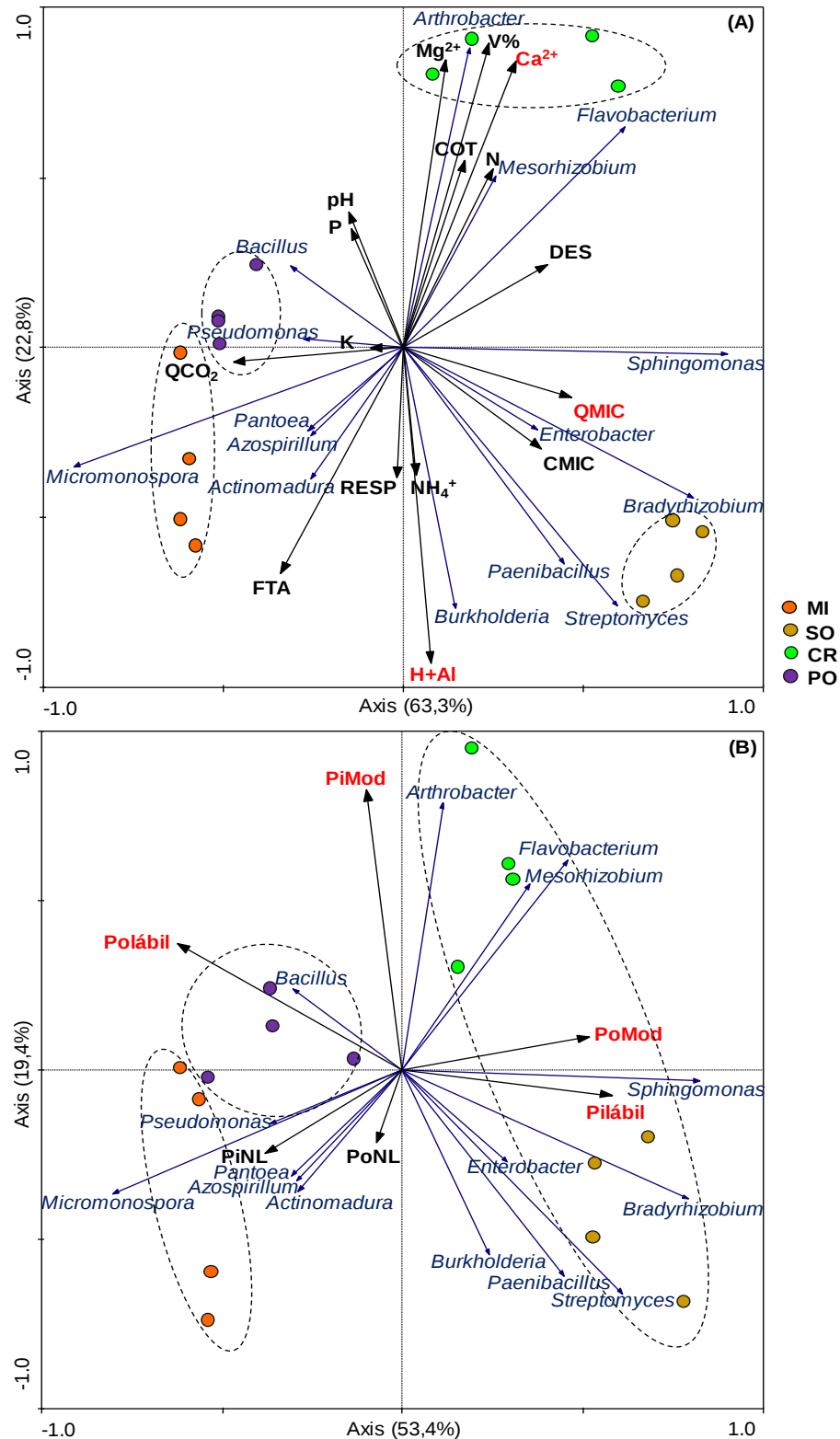
2.3.4 Correlação dos gêneros bacterianos com a fertilidade e biomassa microbiana do solo

A avaliação da estrutura taxonômica das comunidades bacterianas influenciadas pelos atributos químicos, microbiológicos e de fracionamento de P no solo foi realizado por meio da análise de redundância (RDA). A análise de RDA faz correlações entre dados genéticos e ambientais fornecendo informações para o entendimento da adaptação da base genética ao local, o que auxilia no planejamento do manejo do solo nos sistemas de produção agrícola (FORESTER et al., 2018). Desse modo, é possível determinar quais propriedades ambientais são significativas na variação da estrutura da comunidade bacteriana (RAMETTE, 2007).

Por meio da análise de RDA foram correlacionados os dados dos gêneros solubilizadores de P com os atributos químicos e microbiológicos do solo, que agrupou os sistemas de sucessão de forma distinta de acordo com análise PERMANOVA ($F=23,97$; $P=0,0001$). O primeiro e o segundo eixos juntos representam 86,1% da variação total dos gêneros bacterianos estudados (Figura 12A).

No cultivo do milho, a maior atividade da enzima fosfatase ácida (FTA) determinou a predominância das bactérias *Azospirillum* sp., *Actinomadura* sp., *Micromonospora* sp. e *Pantoea* sp. Enquanto no manejo do sorgo, as variáveis ambientais qMIC, Cmic, H+Al e NH_4^+ determinaram a maior abundância das bactérias *Bradyrhizobium* sp., *Burkholderia* sp., *Enterobacter* sp., *Paenibacillus* sp. e *Streptomyces* sp. (Tabela 6 e Figura 12A). Os cultivos do milho e do sorgo, de forma geral, elevaram a acidez do solo, sendo um fator importante no estabelecimento dessas bactérias nessas áreas.

Figura 12 – Análise de redundância (RDA) da comunidade bacteriana e propriedades químicas e microbiológicas do solo (A) e entre as frações orgânicas e inorgânicas de P (B) nas parcelas milho (MI), sorgo (SO), crotalária (CR) e pousio/escarificação (PO). Os gêneros foram selecionados como solubilizadores de P baseada no gene 16S rDNA. As setas azuis indicam os gêneros. As setas pretas indicam as propriedades químicas e microbiológicas do solo. A significância dessas correlações foi avaliada pelo teste de permutação de Monte Carlo e é indicado pela cor vermelha ($p \leq 0,05$). As linhas tracejadas indicam agrupamento significativo pela PERMANOVA ($p \leq 0,01$).



A enzima fosfatase ácida tem maior atividade em solos ácidos na faixa de pH 5,0, valor próximo ao encontrado nesses tratamentos (BEHERA et al., 2017). Além disso, a qualidade da matéria orgânica utilizada como fonte de energia pelos microrganismos interfere na produção da enzima fosfatase ácida (BEHERA et al., 2017)

O maior qMIC no cultivo do sorgo em relação ao pousio/escarificação indica maior capacidade de assimilação da matéria orgânica pelos microrganismos, indicando que as bactérias *Bradyrhizobium* sp., *Burkholderia* sp., *Enterobacter* sp., *Paenibacillus* sp. e *Streptomyces* sp. são sensíveis ao tipo de carbono presente no solo. Além da qualidade da matéria orgânica e da acidez do solo, o teor de amônio no solo influencia na atividade da enzima fosfatase ácida e aumento da biomassa microbiana (ABD-ALLA, 1994; ZHANG et al., 2017), determinando a abundância dos gêneros bacterianos dispostos pela análise de RDA nos cultivos do milho e sorgo (Figura 12A).

A presença das bactérias *Arthrobacter* sp., *Flavobacterium* sp. e *Mesorhizobium* sp. no solo sob o cultivo da crotalária está relacionada com o aumento do Ca, Mg, V%, desidrogenase (DES), COT e N nessa área de cultivo (Tabela 5 e Figura 12A). O cultivo de longa duração da crotalária na área de estudo possibilitou um ambiente de menor acidez correlacionado com a maior atividade da enzima desidrogenase. Ao mesmo tempo pode-se observar que essa condição reduziu a atividade da enzima fosfatase ácida (FTA). Ascher et al. (2009) relataram que à medida em que ocorre o aumento do pH do solo observa-se uma diminuição da atividade da enzima da fosfatase ácida.

A maior concentração de Ca no solo promove maior atividade da enzima desidrogenase e melhoria das propriedades biológicas do solo (LEÓN et al., 2017). Em solos agrícolas, os teores de Ca e Al são as propriedades químicas do solo mais importantes na formação e na estruturação da comunidade microbiana, em que o aumento das bases do solo proporciona maior diversidade de microrganismos (MERLOTI et al., 2019). Zheng et al. (2019), analisando o comportamento dos gêneros solubilizadores de P em relação ao pH, observaram maior abundância do gênero *Arthrobacter* em condições do solo próximo à neutralidade; enquanto, as *Streptomyces* apresentaram maior predomínio em solos mais ácidos. Alterações nos valores de pH promovidas pelas plantas de cobertura podem alterar a estrutura microbiana do solo (RODRIGUES et al., 2013). Dessa forma, fica evidente que as

bactérias possuem estratégias diferentes para o seu estabelecimento em cada faixa de pH.

Os filos das *Proteobactéria* e *Bacteroidetes*, onde estão inseridas as bactérias *Mesorhizobium* sp. e *Flavobacterium* sp. respectivamente, têm sua abundância correlacionada com a alta concentração de N do solo (LI et al., 2016; ZENG et al., 2016). Dessa forma, a fixação do N₂ atmosférico pelo cultivo da crotalária deve ter favorecido o estabelecimento dessas bactérias nesse sistema de produção.

No pousio/escarificação, o aumento do P e do pH com a redução do Cmic e do Qmic determinaram a predominância das bactérias *Bacillus* sp. e *Pseudomonas* sp. (Tabelas 5 e 6 e Figura 12A). A composição da comunidade bacteriana é influenciada pelas propriedades químicas do solo, obtendo maior diversidade em solos com pH próximo da neutralidade (FIERER; JACKSON, 2006). Porém, as *Pseudomonas* sp. e *Bacillus* sp. conseguem sobreviver em condições ambientais desfavoráveis, como seca e alta amplitude da temperatura do solo, condições que provavelmente ocorreram na área do pousio/escarificação na época da primavera sem cobertura vegetal (RODRIGUES et al., 2013; RADHAKRISHNAN et al., 2017).

Os valores gerados pela RDA foram submetidos à análise de Monte Carlo indicando as variáveis que têm maior contribuição com a variabilidade total dos dados. As variáveis Ca (F=4,04; P=0,031), H+Al (F=6,29; P=0,011) e qMIC (F=2,95; P=0,065) foram os fatores abióticos de maior significância que se correlacionaram com as bactérias analisadas (Figura 12A).

A análise de RDA, correlacionando os dados dos gêneros bacterianos com as frações de P no solo, agrupou os sistemas de sucessão de culturas em 3 grupos distintos, de acordo com a análise de PERMANOVA (F=11,01; P=0,0001). O primeiro e o segundo eixos juntos representam 72,8% da variação total dos gêneros bacterianos estudados (Figura 12B).

O cultivo do sorgo e da crotalária foram semelhantes e diferiram significativamente dos demais tratamentos, apresentando correlação positiva com o P inorgânico lábil (Pilábil) e o P orgânico moderadamente lábil (PoMod) (Figura 12B). O aumento dessas frações de P determina o predomínio das bactérias *Arthrobacter* sp., *Flavobacterium* sp. e *Mesorhizobium* sp. para o grupo do PoMod; e *Bradyrhizobium* sp., *Burkholderia* sp., *Enterobacter* sp., *Paenibacillus* sp., *Streptomyces* sp. e *Sphingomonas* sp. para o Pilábil. Dessa forma, o maior desenvolvimento dessas bactérias ocorre com o aumento das concentrações de Pilábil e PoMod no solo. Com isso, sugere-se que as

bactérias juntamente com o sorgo e a crotalária estão influenciando na dessorção de P das formas de menor labilidade para formas mais lábeis pela exsudação de enzimas que solubilizam P e ácidos orgânicos a partir de raízes e/ou das bactérias e com a liberação de P_i dos resíduos de plantas e da mineralização da matéria orgânica pela biomassa microbiana (FROSSARD et al., 2011).

Para o sistema de sucessão com pousio/escarificação, observa-se maior correlação com o P orgânico lábil (Polábil), em que a maior concentração dessa forma de P beneficia o desenvolvimento das bactérias do gênero *Bacillus* sp.; enquanto, a correlação negativa com o Pilábil reduz a predominância dessa bactéria (Figura 12B). A área de pousio/escarificação apresentou instabilidade da microbiota do solo (Tabela 6), que pode resultar em maior consumo de matéria orgânica para a manutenção da biomassa microbiana do que nos demais manejos.

Além disso, a prática da escarificação do solo aliada com menor aporte de exsudatos radiculares nesse tratamento pode estar contribuindo com o aumento da oxidação da matéria orgânica e, conseqüentemente, estar ocorrendo alta taxa de mineralização do Polábil beneficiados pelas bactérias *Bacillus*. Contudo, a consequência da alta taxa de mineralização, que reflete em maior teor de P no solo no pousio/escarificação em relação aos manejos do sorgo e milho (Tabela 5), pode gerar impactos indesejáveis no ciclo do carbono, como o aumento da perda de matéria orgânica e de emissão CO_2 para a atmosfera (GUPPY et al., 2005; TROUILLEFOU et al., 2015).

As formas de P inorgânico não lábil (P_{iNL}) e P orgânico não lábil (P_{oNL}) se correlacionaram positivamente com as bactérias *Azospirillum* sp., *Actinomadura* sp., *Micromonospora* sp., *Pantoea* sp. e *Pseudomonas* sp. no tratamento milho. Vale salientar que o aumento da forma de P_{oMod} pode suprimir o desenvolvimento dessas bactérias. De modo geral, o cultivo do milho associado a essas bactérias não está sendo eficiente para impedir adsorção de P no solo ou não está sendo capaz de solubilizar formas inorgânicas de P de menor labilidade para maior ciclagem de P.

Almeida et al. (2019) observaram que o cultivo a longo prazo de *Urochloa ruziziensis* reduziu a disponibilidade de P para a soja em comparação a uma área em pousio/escarificação, ou seja, houve maior retenção de P na fase sólida do solo, devido ao aumento dos locais de adsorção pelas interações dos óxidos de Fe e Al.

A análise de RDA seguida pela análise de Monte Carlo revelou que o Pi lábil ($F=7,68$; $P=0,004$), o Po lábil ($F=5,02$; $P=0,012$), o PiMod ($F=7,59$; $P=0,006$) e o PoMod ($F=3,16$; $P=0,042$) foram as formas de P que se correlacionaram significativamente com as bactérias analisadas, ou seja, essas formas de P são responsáveis pela maior variação microbiana no solo.

2.4 Conclusões

Os atributos químicos do solo, após 14 anos de sucessão de culturas em sistema de semeadura direta, foram modificados pelo cultivo de plantas de cobertura. De forma geral, os maiores valores de cálcio, saturação por bases, nitrogênio e pH resultaram do cultivo de crotalária, proporcionando uma condição de menor acidez do solo.

A microbiota do solo sob cultivo da crotalária possui maior atividade de solubilização de P por meio da enzima desidrogenase. O pousio/escarificação promoveu aumento do quociente metabólico, que pode estar resultando em maior taxa de oxidação da matéria orgânica, refletindo no aumento do teor de P_{resina} no solo.

As plantas de cobertura não alteraram a riqueza da comunidade bacteriana do solo, porém modificaram as proporções na sua composição.

Os teores Ca, H+Al e o qMIC influenciaram principalmente na composição e abundância das bactérias solubilizadoras de P.

O cultivo de plantas de cobertura estimulou a maior diversidade de bactérias citadas na literatura como capazes de solubilizar P, sendo que quanto maior os teores de Pi lábil e Po moderadamente lábil maior foi a abundância dessas bactérias.

Referências

ABD-ALLA, M. H. Solubilization of rock phosphates by *Rhizobium* and *Bradyrhizobium*. **Folia Microbiologica**, v. 39, p. 53–56, 1994.

AHMAD, M.; AHMAD, I.; HILGER, T. H.; NADEEM, S. M.; AKHTAR, M. F.; JAMIL, M.; HUSSAIN, A.; ZAHIR, Z. A. Preliminary study on phosphate solubilizing *Bacillus subtilis* strain Q3 and *Paenibacillus* sp. strain Q6 for improving cotton growth under alkaline conditions. **Journal of Life and Environmental Sciences**, v. 6, e5122, 2018.

ALEF, K.; NANNIPIERI, P. (eds.). **Methods in applied soil microbiology and biochemistry**. London: Academic, 1995.

ALLISON, S. D.; VITOUSEK, P. M. Responses of extracellular enzymes to simple and complex nutrient inputs. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 37, p. 937-944, 2005.

ALMEIDA, D. S.; MENEZES-BLACKBURN, D.; ZHANG, H.; HAYGARTH, P. M.; ROSOLEM, C. A. Phosphorus availability and dynamics in soil affected by long-term ruzigrass cover crop. **Geoderma**, v. 337, p.434-443, 2019.

ALMEIDA, D. S.; ROCHA, K. F.; SOUZA, M.; DELAI, L. B.; ROSOLEM, C. A. Soil phosphorus bioavailability and soybean grain yield impaired by ruzigrass. **Agronomy Journal**, v. 2, p. 1-10, 2018.

ALORI, E. T.; GLICK, B. R.; BABALOLA, O. O. Microbial phosphorus solubilization and its potential for use in sustainable agriculture. **Frontiers in microbiology**, v. 8, p. 1-8. 2017.

ALVEY, S.; BAGAYOKO, M.; NEUMANN, G.; BUERKERT, A. Cereal/legume rotations affect chemical properties and biological activities in two West African soils. **Plant and Soil**, v. 231, p.45-54, 2001.

ANDERSON, J. P. E.; DOMSCH, K. H. The metabolic quotient of CO₂ (qCO₂) as a specific activity parameter to assess the effects of environmental condition, such as pH, on the microbial of forest soil. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 25, n. 3, p. 393-395, 1993.

ANDERSON, M. J. A new method for non-parametric multivariate analysis of variance. **Austral Ecology**, v. 26, p. 32-46, 2001.

ARIF, M. S.; SHAHZAD, S. M.; YASMEEN, T.; RIAZ, M.; ASHRAF, M.; ASHRAF, M. A.; KAUSAR, R. Improving plant phosphorus (P) acquisition by phosphate-solubilizing bacteria. In: NADEEM, M.; ANSARI, A. A.; GILL, S. S. (eds.). **Essential plant nutrients** - Captação, eficiência de uso e gerenciamento. Berlim: Springer, 2017. p. 513-556.

ARRUDA, B.; RODRIGUES, M.; GUMIERE, T.; RICHARDSON, A. E.; ANDREOTE, F. D.; SOLTANGHEISI, A.; GATIBONI, L. C.; PAVINATO, P. S. The impact of

sugarcane filter cake on the availability of P in the rhizosphere and associated microbial community structure. **Soil Use and Management**, v. 35, p. 1-10, 2019.

ASAF, S.; KHAN, A. L.; KHAN, M. A.; AL-HARRASI, A.; LEE, I. J. Complete genome sequencing and analysis of endophytic *Sphingomonas* sp. LK11 and its potential in plant growth. **3 Biotech**, v. 8, 389, p. 1-14, 2018.

ASCHER, J.; CECCHERINI, M. T.; LANDI, L.; MENCH, M.; PIETRAMELLARA, G.; NANNIPIERI, P.; RENELLA, G. Composition, biomass and activity of microflora, and leaf yield and foliar elemental concentrations of lettuce, after in situ stabilization of an arsenic-contaminated soil. **Applied Soil Ecology**, v. 41, n. 3, p. 351-359, 2009.

BALOTA, E. L.; COLOZZI-FILHO, A.; ANDRADE, D. S.; HUNGRIA, M. Biomassa microbiana e sua atividade em solos sob diferentes sistemas de preparo e sucessão de culturas. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 22, n. 4, p. 641-649, 1998.

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. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2013. p. 222-271.

BASTIAN, F.; BOUZIRI, L.; NICOLARDOT, B.; RANJARD, L. Impact of wheat straw decomposition on successional patterns of soil microbial community structure. **Soil Soil Biology and Biochemistry**, v. 41, n. 2, p. 262-275, 2009.

BEHERA, B. C.; YADAV, H.; SINGH, S. K.; MISHRA, R. R.; SETHI, B. K.; DUTTA S. K.; THATOI, H. N. Phosphate solubilization and acid phosphatase activity of *Serratia* sp. isolated from mangrove soil of Mahanadi river delta, Odisha, India. **Journal of genetic engineering & biotechnology**, v. 15, p. 169-178, 2017.

BENDER, S. F.; WAGG, C.; van der HEIJDEN, M. G. A. An Underground Revolution: Biodiversity and Soil Ecological Engineering for Agricultural Sustainability. **Trends in Ecology & Evolution**, v. 31, n. 6, p. 440-452, 2016.

BERGKEMPER, F.; SCHÖLER, A.; ENGEL, M.; LANG, F.; KRÜGER, J.; SCHLOTER, M.; SCHULZ, S. Phosphorus depletion in forest soils shapes bacterial communities towards phosphorus recycling systems. **Environmental Microbiology**, v. 18, n. 6, p. 1988-2000, 2016.

BERNARD, L.; MOUGEL, C.; MARON, P.A.; NOWAK, V.; LÉVÊQUE, J.; HENAULT, C.; HAICHAR, F. Z.; BERGE, O.; MAROL, C.; BALESSENT, J.; GIBIAT, F.; LEMANCEAU, P.; RANJARD, L. Dynamics and identification of soil microbial populations actively assimilating carbon from ¹³C-labelled wheat residue as estimated by DNA- and RNA-SIP techniques. **Environmental Microbiology**, v. 9, p. 752-764, 2007.

BETTIO, D.; ARAUJO, F. Alterações microbiológicas do solo após três anos de sistema integração lavoura – pecuária sob diferentes adubações e escarificação do solo. **Colloquium Agrariae**, v. 12, n. especial, p. 1-7, 2016.

BOLAN, N.; HEDLEY, M.; WHITE, R. Processes of soil acidification during nitrogen cycling with emphasis on legume based pastures. **Plant and Soil**, v. 134, p. 53-63, 1991.

BROPHY, C.; DOOLEY, A.; KIRWAN, L.; FINN, J.; MCDONNELL, J.; BELL, T.; CADOTTE, M.; CONNOLLY, J. Biodiversity and ecosystem function: Making sense of numerous species interactions in multi-species communities. **Ecology**, v. 98, n. 7, p. 1771-1778, 2017.

BUCHANAN, M.; KING, L. D. Seasonal fluctuations in soil microbial biomass carbon, phosphorus and activity in no-till and reduced-chemical-input maize agroecosystems. **Biology and Fertility of Soils**, v. 13, p. 211-217, 1992.

BÜNEMANN, E. K.; SCHWENKE, G. D.; VAN ZWIETEN, L. Impact of agricultural inputs on soil organisms - a review. **Australian Journal of Soil Research**, v. 44, n. 4, p. 379-406, 2006.

BURNS, R.; DEFOREST, J.; MARXSEN, J.; SINSABAUGH, R.; STROMBERGER, M.; WALLENSTEIN, M.; WEINTRAUB, M.; ZOPPINI, A. Soil enzymes in a changing environment: Current knowledge and future directions. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 58, p. 216-234, 2013.

BUTTERLY, C. R.; BUUNEMANN, E. K.; MCNEILL, A. M.; BALDOCK, J. A.; MARSCHNER, P. Carbon pulses but not phosphorus pulses are related to decrease in microbial biomass during repeated drying and rewetting of soils. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 41, n. 7, p.1406-1416, 2009.

CARBONETTO, B.; RASCOVAN, N.; ALVAREZ, R.; MENTABERRY, A.; VAZQUEZ, M. P. Structure, composition and metagenomic profile of soil microbiomes associated to agricultural land use and tillage systems in Argentine Pampas. **PloS One**, v. 9, e99949, 2014.

CARDOSO, E. J. B. N.; ANDREOTE, F. D. **Microbiologia do solo**. 2. ed. Piracicaba, São Paulo. 2016.

CARNEIRO, M. A. C.; CORDEIRO, M. A. S.; ASSIS, P. C. R.; MORAES, E. S.; PEREIRA, H. S.; PAULINO, H. B.; SOUZA, E. Produção de fitomassa de diferentes espécies de cobertura e suas alterações na atividade microbiana de solo de cerrado. **Bragantia**, v. 67, n. 2, p. 455-462, 2008.

CASIDA, L. E.; KLEIN, D. A.; SANTORO, T. Soil dehydrogenase activity. **Soil Science**, v. 98, p. 371-376, 1964.

CEDERLUND, H.; WESSEN, E.; ENWALL, K.; JONES, C. M.; JUHANSON, J.; PELL, M.; LAURENT, P.; SARA, H. Soil carbon quality and nitrogen fertilization structure bacterial communities with predictable responses of major bacterial phyla. **Applied Soil Ecology**, v. 84, p. 62-68, 2014.

CERRI, C. C.; ANDREAU, F.; EDUARDO, B. P. O. Ciclo do carbono no solo. *In*: CARDOSO, E. J. B. N., TSAI, S. M., NEVES, M. C. P. **Microbiologia do solo**. Campinas: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 1992.

CHEN, Y. P.; REKHA, P. D.; ARUN, A. B.; SHEN, F. T.; LAI, W. A.; YOUNG, C. C. Phosphate solubilizing bacteria from subtropical soil and their tricalcium phosphate solubilizing abilities. **Applied Soil Ecology**, v. 34, p. 33-41, 2006.

CUNHA, E. Q.; STONE, L. F.; FERREIRA, E. P. B.; DIDONET, A. D.; MOREIRA, J. A. A.; LEANDRO, W. M. Sistemas de preparo do solo e culturas de cobertura na produção orgânica de feijão e milho: II - atributos biológicos do solo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 35, n. 2, p. 603-611., 2011.

DADALTO, J. P.; FERNANDES, H. C.; TEIXEIRA, M. M.; PAULO R. CECON, P. R.; MATOS, A. T. Sistema de preparo do solo e sua influência na atividade microbiana. **Engenharia Agrícola**, v. 35, n. 3, p. 506-513, 2015.

DE MANDAL, S.; PANDA, A. K.; BISHT, S.S.; KUMAR, N. S. Microbial ecology in the era of next generation sequencing. **Next Generation: Sequencing & Applications**, v. 1, p. 1-6, 2015.

EL-TARABILY, K. A.; NASSAR, A. H.; SIVASITHAMPARAM, K. Promotion of growth of bean (*Phaseolus vulgaris* L.) in a calcareous soil by a phosphate-solubilizing, rhizosphere-competent isolate of *Micromonospora endolithica*. **Applied Soil Ecology**, v. 39, n. 2, p. 161-171, 2008.

FIERER, N., JACKSON, R. B. The diversity and biogeography of soil bacterial communities. **Proceedings of the National Academy of Sciences - PNAS**, v. 103, p. 626-631, 2006.

FIERER, N.; BRADFORD, M.; JACKSON, R. Toward an Ecological Classification of Soil Bacteria. **Ecology**, v. 88, p. 1354-64, 2007.

FILIUS, J. D., HIEMSTRA, T.; VAN RIEMSDIJK, W. H. Adsorption of small weak organic acids on goethite: modeling of mechanisms. **Journal of colloid and interface science**, v. 195, p.368-380, 1997.

FOO, J. L.; LING, H.; LEE, Y. S.; CHANG, M. W. Microbiome engineering: Current applications and its future. **Biotechnology Journal**, v. 12, n. 3, 1600099, p. 1-9, 2017.

FORESTER, B. R.; LASKY, J. R.; WAGNER, H. H.; URBAN, D. L. Comparing methods for detecting multilocus adaptation with multivariate genotype-environment associations. **Molecular Ecology**, v. 27, n. 9, p. 2215-2233, 2018.

FRANCHINI, J. C.; MIYAZAWA, M.; PAVAN, M. A.; MALAVOLTA, E. Dinâmica de íons em solo ácido lixiviado com extratos de resíduos de adubos verdes e soluções puras de ácidos orgânicos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 34, n. 12, p. 2267-2276, 1999.

FRIGHETTO, R. T. S. Análise da massa microbiana em carbono: método de fumigação-extração. *In*: FRIGHETTO, R. T. S.; VALARINI, P. J. (coord.). **Indicadores biológicos e bioquímicos da qualidade do solo**. Manual técnico. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2000. p.157-166.

FROSSARD, E.; ACHAT, D. L.; BERNASCONI, S. M.; BÜNEMANN, E. K.; FARDEAU, J. C.; JANSO, J.; MOREL, C.; RABEHARISOA, L.; RANDRIAMANANTSOA, L.; SINAJ, S.; TAMBURINI, F.; OBERSON, A. The use of tracers to investigate phosphate cycling in soil-plant systems. *In*: BÜNEMANN, E.; OBERSON, A.; FROSSARD, E. (eds.) **Phosphorus in action: biological processes in soil phosphorus cycling**. Berlin: Springer, 2011. p. 59-91.

GUIGNARD, M. S.; LEITCH, A. R.; ACQUISTI, C.; EIZAGUIRRE, C.; ELSE, J. J.; HESSEN, D. O.; JEYASINGH, P. D.; NEIMAN, M.; RICHARDSON, A. E.; SOLTIS, P. S.; SOLTIS, D. E.; STEVENS, C. J.; TRIMMER, M.; WEIDER, L. J.; WOODWARD, G.; LEITCH, I. J. Impacts of Nitrogen and Phosphorus: From Genomes to Natural Ecosystems and Agriculture. **Frontiers in Ecology and Evolution**, v. 5, n. 70, p. 1-9, 2017.

GUIMARÃES, N. F.; GALLO, A. S.; FONTANETTI, A.; MENEGHIN, S. P.; SOUZA, M. D. B.; MORINIGO, K. P. G.; SILVA, R. F. Biomassa e atividade microbiana do solo em diferentes sistemas de cultivo do cafeeiro. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 40, p. 34-44, 2017.

GUPPY, C.; MENZIES, N.; MOODY, P.; BLAMEY, F. Competitive sorption reactions between phosphorus and organic matter in soil: a review. **Australian Journal of Soil Research**, v. 43, n. 2, p. 189-202, 2005.

GYANESHWAR, P.; KUMAR, G. N.; PAREKH, L. J.; POOLE, P. S. Role of soil microorganisms in improving P nutrition of plants. **Plant and Soil**, v. 245, n. 83., p. 133-143, 2002.

GYANESHWAR, P.; PAREKH, L. J.; ARCHANA, G.; POOLE, P. S.; COLLINS, M. D.; HUSTON, R. A.; KUMAR, G. N. Involvement of a phosphate starvation inducible glucose dehydrogenase in soil phosphate solubilization by *Enterobacter asburiae*. **FEMS Microbiol Lett**, v. 171, p. 223-229, 1999.

HALLAMA, M.; C. PEKRUN, H. L.; KANDELER, E. Hidden miners: The roles of cover crops and soil microorganisms in phosphorus cycling through agroecosystems. **Plant and Soil**, v. 434, p. 7-45, 2019.

HAMADY, M., LOZUPONE, C., KNIGHT, R. Fast UniFrac: facilitating highthroughput phylogenetic analyses of microbial communities including analysis of pyrosequencing and PhyloChip data. **The ISME Journal**, v. 4, p. 17-27, 2010.

HAMDALI, H.; BOUIZGARNE, B.; HAFIDI, M.; LEBRIHI, A.; VIROLLE, M. J.; OUHDOUCH, Y. Screening for rock phosphate solubilizing *Actinomycetes* from Moroccan phosphate mines. **Applied Soil Ecology**, v. 38, n. 1, p.12-19, 2008.

HO, A.; DI LONARDO, D. P.; BODELIER, P. L. Revisiting life strategy concepts in environmental microbial ecology. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 93, n. 3, p. 1-14, 2017.

HOBERG, E.; MARSCHNER, P.; LIEBEREI, R. Organic acid exudation and pH changes by *Gordonia* sp. and *Pseudomonas fluorescens* grown with P adsorbed to goethite. **Microbiological research**, v. 160, p. 177-187, 2005.

HOU, E.; CHEN, C.; WEN, D.; LIU, X. Relationships of phosphorus fractions to organic carbon content in surface soils in mature subtropical forests, Dinghushan, China. **Soil research**, v. 52, p. 55-63, 2014.

ISELL, F.; ADLER, P. R.; EISENHAUER, N.; FORNARA, D.; KIMMEL, K.; KREMEN, C.; LETOURNEAU, D. K.; LIEBMAN, M.; POLLEY, H. W.; QUIJAS, S.; SCHERER-LORENZEN, M. Benefits of increasing plant diversity in sustainable agroecosystems. **Journal of Ecology**, v. 105, n. 4, p. 871-879, 2017.

JARUSEVICIUS, J. **Avaliação da diversidade microbiana intestinal de populações naturais do mosquito *Aedes Aegypti***. 2018. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas – Genética), Instituto de Biociências – Universidade Estadual Paulista, Botucatu. 2018.

JOG, R.; PANDYA, M.; NARESHKUMAR, G.; RAJKUMAR, S. Mechanism of phosphate solubilization and antifungal activity of *Streptomyces* spp. isolated from wheat roots and rhizosphere and their application in improving plant growth. **Microbiology**, v. 160, p. 778-788, 2014.

KAFLE, A.; COPE, K. R.; RATHS, R.; YAKHA, J. K.; SUBRAMANIAN, S.; BÜCKING, H.; GARCIA, K. Harnessing Soil Microbes to Improve Plant Phosphate Efficiency in Cropping Systems. **Agronomy**, v. 9, n. 127, p. 1-15, 2019.

KOPECKY, J.; KYSELKOVA, M.; OMELKA, M.; CERMAK, L.; NOVOTNA, J.; GRUNDMANN, G. L.; MOËNNE-LOCCOZ, Y.; SAGOVA-MARECKOVA, M. Actinobacterial community dominated by a distinct clade in acidic soil of a waterlogged deciduous forest. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 78, n. 2, p. 386-394, 2011.

KUCZYNSKI, J.; LIU, Z.; LOZUPONE, C.; McDONALD, D.; FIERER, N.; KNIGHT, R. Microbial community resemblance methods differ in their ability to detect biologically relevant patterns. **Nature methods**, v. 7, p. 813-819, 2010.

LAMBAIS, M. R.; CURY, J. C.; MALUCHE-BARETTA, C. R.; BÜLL, R. C. Diversidade microbiana nos solos: definindo novos paradigmas. In: VIDAL-TORRADO, P.; ALLEONI, L. R. F.; COOPER, M.; SILVA, A. P.; CARDOSO, E. J. (orgs). **Tópicos em ciência do solo**. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2005. v.4, p.43-84.

LEFF, J.W.; JONES, S. E.; PROBER, S. M.; BARBERÁNA, A.; BORERE, E. T.; FIRNF, J. L.; HARPOLEG, W. S.; HOBBIIE, S. E.; HOFMOCKEL, K. S.; KNOPSK, J. M. H.; MCCULLEY, R. L.; LA PIERREM, K.; RISCHN, A. C.; SEABLOOMO, E. W.; SCHÜTZN, M.; STEENBOCKB, C.; STEVENSP, C. J.; FIERERA, N. Consistent

responses of soil microbial communities to elevated nutrient inputs in grasslands across the globe. **Proceedings of the National Academy of Sciences - PNAS**, n. 112, p. 10967-10972, 2015.

LEÓN, P.; ESPEJO, R.; PACCARD, C. G.; HONTORIA, C.; MARISCAL, I.; RENELLA, G.; BENITO, M. No tillage and sugar beet foam amendment enhanced microbial activity of degraded acidic soils in South West Spain. **Applied Soil Ecology**, v. 109, p. 69-74, 2017.

LI, J.; SHEN, M. C.; HOU, J. F.; LI, L.; WU, J. X.; DONG, Y. H. Effect of different levels of nitrogen on rhizosphere bacterial community structure in intensive monoculture of greenhouse lettuce. **Scientific Reports.**, v. 6, 25305, 2016.

LI, Y.; ZHANG, J.; ZHANG, J.; XU, W.; MOU, Z. Characteristics of Inorganic Phosphate-Solubilizing Bacteria from the Sediments of a Eutrophic Lake. **International journal of environmental research and public health**, v. 16, n. 12, 2141, p.1-15, 2019.

LIDBURY, I. D. E. A.; SCANLAN, D. J.; MURPHY, A. R. J.; BOTTRILL, A.; JONES, A.; TIBBETT, M.; BENDING, G.; HAMMOND, J. P.; WELLINGTON, E. M. H. Mecanismos novos para aquisição de fosfato em abundante-moradia rizosfera *Bacteroides*. **BioRxiv preprint first posted online**. 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1101/719427>. Acesso em: 05 out. 2019.

LIU, A.; CONTADOR, C. A.; FAN, K.; LAM, H. M. Interaction and Regulation of Carbon, Nitrogen, and Phosphorus Metabolisms in Root Nodules of Legumes. **Frontiers in Plant Science**, v. 9, 1860, p. 1-18, 2018.

LOPES, A.; WIETHÖLTER, S.; GUILHERME, L.; SILVA, C. **Sistema plantio direto**: bases para o manejo da fertilidade do solo. São Paulo: ANDA, 2004.

LOZUPONE, C.; LLADSER, M. E.; KNIGHTS, D.; STOMBAUGH, J.; KNIGHT, R. UniFrac: an effective distance metric for microbial community comparison. **The ISME Journal**, v. 5, n. 2, p. 169-172, 2011.

MARKLEIN, A. R.; HOULTON, B. Z. Nitrogen inputs accelerate phosphorus cycling rates across a wide variety of terrestrial ecosystems. **New Phytologist**, v. 193, n. 3, p. 696-704, 2012.

MARRA, L. M.; OLIVEIRA, S. M.; SOARES, C. R. F. S.; MOREIRA, F. M. S. Solubilization of inorganic phosphates by inoculant strains from tropical legumes. **Scientia Agricola**, v. 68, n. 5, p. 603-609, 2011.

MARSCHNER, H. **Mineral Nutrition of Higher Plants**, 2. ed., London: Academic Press, 1995.

MCDANIEL, M.; TIEMANN, L.; GRANDY, S. Does agricultural crop diversity enhance soil microbial biomass and organic matter dynamics? A meta-analysis. **Ecological Applications**, v. 24, n. 3, p. 560-570, 2013.

MERLOTI, L. F.; MENDES, L. W.; PEDRINHO, A.; SOUZA, L. F.; FERRARI, B. M.; TSAI, S. M. Forest-to-agriculture conversion in Amazon drives soil microbial communities and N-cycle. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 137, 107567, 2019.

MIDEKSSA, M.; LÖSCHER, C.; SCHMITZ, R.; ASSEFA, F. Phosphate solubilization and multiple plant growth promoting properties of rhizobacteria isolated from chickpea (*Cicer aeritimum* L.) producing areas of Ethiopia. **African Journal of Biotechnology**, v. 15, n. 35, p. 1899-1912, 2016.

MIYAZAWA, M.; PAVAN, M. A.; CALEGARI, A. Efeito do material vegetal na acidez do solo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v. 17, n. 3, p. 411-416, 1993.

MIYAZAWA, M.; PAVAN, M. A.; FRANCHINI, J. C. Evaluation of Plant Residues on the Mobility of Surface Applied Lime. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 45, n. 3, p. 251-256, 2002.

MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e bioquímica do solo**. 2.ed. Lavras: Universidade Federal de Lavras, 2006.

MORGAN, X. C.; HUTTENHOWER, C. Chapter 12: Human Microbiome Analysis. **PLOS Computational Biology**, v. 8, n. 12, p. 1-14, 2012.

MULVANEY, R. L. Nitrogen Inorganic Forms. In: SPARKS, D. L., et al. (eds.). **Methods of Soil Analysis**. Part 3. Chemical Methods, ASA and SSSA, Madison, 1996. p. 1123-1184.

NAFIS, A.; ANAS, R.; BECHTAOUI, N.; OUAQOUDI, F.; ALAOUI, A.; GLICK, B.; HAFIDI, M.; KOUISNI, L.; OUHDOUCH, Y.; HASSANI, L. *Actinobacteria* from Extreme Niches in Morocco and Their Plant Growth-Promoting Potentials. **Diversity**, v. 11, p. 1-15, 2019.

NAHAS, E. Microrganismos do solo produtores de fosfatos em diferentes sistemas agrícolas. **Bragantia**, v. 61, n. 3, 267-275, 2002.

NANNIPIERI, P.; GIAGNONI, L.; LANDI, L.; RENELLA, G. Role of phosphatase enzymes in soil. In: BUNEMANN, E.; OBERSON, A.; FROSSARD, E. (eds). **Phosphorus in action: biological processes in soil phosphorus cycling**. Soil biology, vol 26. Heidelberg: Springer. 2011. p. 244-251.

NOVAIS, R. F.; SMYTH, T. J.; NUNES, F. N. Fósforo. In: NOVAIS, R. F.; ALVAREZ, V. H.; BARROS, N. F.; FONTES, R. L. F.; CANTARUTTI, R. B.; NEVES, J. C. L. **Fertilidade do solo**. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2007. p.471-537.

NZIGUHEBA, G.; MERCKX, R.; PALM, C. A.; MUTUO, P. Combining Tithonia diversifolia and fertilizers for maize production in a phosphorus deficient soil in Kenya. **Agroforestry Systems**, v. 55, p. 165-174, 2002.

OBERSON, A. JONER, E. J. Microbial turnover of phosphorus in soil. *In*: TURNER, B. L.; FROSSARD, E.; BALDWIN, D. S. (eds). **Organic phosphorus in the environment**. Wallingford: CABI, 2005. p. 133-164.

OLIVEIRA, C.; ALVES, V. M. C.; MARRIEL, I.; GOMES, E. A.; SCOTTI, M. R.; CARNEIRO, N.; GUIMARÃES, C.; SCHAFFERT, R.; SÁ, N. M. H. Phosphate solubilizing microorganisms isolated from rhizosphere of maize cultivated in an oxisol of the Brazilian Cerrado Biome. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 41, p. 1782-1787, 2009.

ORR, C. H.; JAMES, A.; LEIFERT, C.; COOPER, J. M.; CUMMINGS, S. P. Diversity and activity of free-living nitrogen fixing bacteria and total bacteria in organic and conventionally managed soils. **Applied and environmental microbiology**, v. 77, p. 911-919, 2011.

PANHWAR, Q. A.; NAHER, U. A.; SHAMSHUDDIN, J.; OTHMAN, R.; LATIF, M. A.; ISMAIL, M. R. Biochemical and molecular characterization of potential phosphate-solubilizing bacteria in acid sulfate soils and their beneficial effects on rice growth. **PloS One**, v. 9, n. 10, e97241, 2014.

PAVINATO, P. S.; ROSOLEM, C. A. Disponibilidade de nutrientes no solo: decomposição e liberação de compostos orgânicos de resíduos vegetais. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 32, n. 3, p. 911-920, 2008.

PEREZ, K. S.; RAMOS, M. L. G.; McMANUS, C. Carbono da biomassa microbiana em solo cultivado com soja sob diferentes sistemas de manejo nos Cerrados. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 39, n. 6, p. 567-573, 2004.

PUENTE, M. E.; BASHAN, Y.; LI, C. Y.; LEBSKY, V. K. Microbial populations and activities in the rhizoplane of rock-weathering desert plants. I. Root colonization and weathering of igneous rocks. **Plant Biology**, v. 6, p. 629-642, 2004.

RADHAKRISHNAN, R.; HASHEM, A.; ABD-ALLAH, E. F. *Bacillus*: A Biological Tool for Crop Improvement through Bio-Molecular Changes in Adverse Environments. **Frontiers in physiology**, v. 8, n. 667, p. 1-14, 2017.

RAIJ, B. Van; ANDRADE, J. C.; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J. A. **Análise química para avaliação da fertilidade de solos tropicais**. Campinas: Instituto Agrônomo, 2001.

RAIJ, B. van; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J.A.; FURLANI, A.M.C. (eds.). **Recomendações de adubação e calagem para o Estado de São Paulo**. 2.ed. rev. e atual. Campinas: Instituto Agrônomo/Fundação IAC, 1997. 285p. (Boletim Técnico, 100).

RAMETTE, A. Multivariate analyses in microbial ecology. **FEMS microbiology ecology**, v. 62, p. 142-160, 2007.

RICHARDSON, A. E.; SIMPSON, R. J. Soil microorganisms mediating phosphorus availability update on microbial phosphorus. **Plant Physiology**, v. 156, p. 989-996, 2011.

RICHARDSON, A.; BAREA, J.M.; MCNEILL, A.M.; PRIGENT-COMBARET, C. Acquisition of phosphorus and nitrogen in the rhizosphere and plant growth promotion by microorganisms. **Plant and Soil**, v. 321, p. 305-339, 2009.

RIGON, J. P. G.; CALONEGO, J. C.; ROSOLEM, C. A.; SCALA JR., N. L. Cover crop rotations in no-till system: short-term CO₂ emissions and soybean yield. **Scientia Agricola**, v. 75, n. 1, p. 18-26, 2018.

RIGON, J. P. G. **Sistemas de produção como fatores determinantes da quantidade e qualidade da matéria orgânica do solo**. 2017. Tese (Doutorado em Agronomia - Agricultura) – Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2017.

RINCON-FLOREZ, V.; CARVALHAIS, L.; SCHENK, P. Culture-independent molecular tools for soil and rhizosphere microbiology. **Diversity**, v. 5, p. 581-612, 2013.

RODELLA, A. A.; SABOYA, L. V. Calibration for conductimetric determination of carbon dioxide. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 31, p. 2059-2060, 1999.

RODRIGUES, J. L. M.; PELLIZARI, V. H.; MUELLER, R.; BAEK, K.; JESUS, E. D.; PAULA, F. S.; MIRZA, B.; HAMAOU, G. S.; TSAI, S. M.; FEIGL, B.; TIEDJE, J. M.; BOHANNAN, B. J. M.; NÜSSLEIN, K. Conversion of the Amazon rainforest to agriculture results in biotic homogenization of soil bacterial communities. **Proceedings of the National Academy of Sciences - PNAS**, v. 110, p. 988-993, 2013.

RODRÍGUEZ, H.; FRAGA, R. Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion. **Biotechnology Advances**, v. 17, p. 319-339, 1999.

RODRÍGUEZ, H.; FRAGA, R.; GONZALEZ, T.; BASHAN, Y. Genetics of phosphate solubilization and its potential applications for improving plant growth-promoting bacteria. **Plant Soil**, v. 287, p. 15-21, 2006.

SANTOS, J. B. JAKELAITIS, A.; SILVA, A. A.; COSTA, M. D.; MANABE, A.; SILVA, M. C. S. Action of two herbicides on the microbial activity of soil cultivated with common bean (*Phaseolus vulgaris*) in conventional-till and no-till systems. **Weed Research**, v. 46, p. 284-289, 2006.

SCHMIDT, R.; GRAVUER, K.; BOSSANGE, A. V.; MITCHELL, J.; SCOW, K. Long-term use of cover crops and no-till shift soil microbial community life strategies in agricultural soil. **PLoS One**, v. 13, n. 2, e0192953, p. 1-19, 2018.

SCHWERTMANN, U.; CORNELL, R. M. **Iron oxides in the laboratory. Preparation and characterization**. New York: VCH Publ, 2000.

SCHWOPPE, C.; WINKLER, H. H.; NEUHAUS, H. E. Connection of transport and sensing by UhpC, the sensor for external glucose-6-phosphate in *Escherichia coli*. **European Journal of Biochemistry**, v. 270, p.1450-1457, 2003.

SCRASE, F. M.; SINCLAIR, F. L.; FARRAR, J. F.; PAVINATO, P. S.; JONES, D. Mycorrhizas improve the absorption of non-available phosphorus by the green manure *Tithonia diversifolia* in poor soils. **Rhizosphere**, v. 9, p. 27-33, 2019.

SHAH, J.; BUKHARI, S.; ZENG, J.; QUAN, X.; ALI, E.; MUHAMMAD, N.; ZHANG, G. Nitrogen (N) metabolism related enzyme activities, cell ultrastructure and nutrient contents as affected by N level and barley genotype. **Journal of Integrative Agriculture**, v. 16, p. 190-198, 2017.

SHARMA, S.; SAYYED, R.; TRIVEDI, M.; THIVAKARAN, A. Phosphate solubilizing microbes: Sustainable approach for managing phosphorus deficiency in agricultural soils. **SpringerPlus**, v. 2, n. 587, p. 1-14, 2013.

SHEKINAH, D. E.; STUTE, J. K. Sunn Hemp: A Legume Cover Crop with Potential for the Midwest? **Sustainable Agriculture Research**, v. 7, n. 4, p. 63-69, 2018.

SMALLA, K.; WIELAND, G.; BUCHNER, A.; ZOCK, A.; PARZY, J.; KAISER, S.; ROSKOT, N.; HEUER, H.; BERG, G. Bulk and rhizosphere soil bacterial communities studied by denaturing gradient gel electrophoresis: plant-dependent enrichment and seasonal shifts revealed. **Applied and environmental microbiology**, v. 67, p. 4742-4751, 2001.

SONG, O.; LEE, S.; LEE, Y.; LEE, S.; KIM, K.; CHOI, Y. Solubilization of insoluble inorganic phosphate by *Burkholderia cepacia* DA23 isolated from cultivated soil. **Brazilian journal of microbiology**, v. 39, p. 151-156, 2008.

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

SPOHN, M.; TREICHEL, N. S.; CORMANN, M.; SCHLOTER, M.; FISCHER, D. Distribution of phosphatase activity and various bacterial phyla in the rhizosphere of *Hordeum vulgare* L. depending on P availability. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 89, p. 44-51, 2015.

STENBERG, B. O. Monitoring Soil Quality of Arable Land: Microbiological Indicators. **Acta Agriculturae Scandinavica Section B-Soil and Plant Science**, v. 49, p. 1-24, 1999.

SUBBARAO, G. V.; ITO, O.; SAHRAWAT, K. L.; BERRY, W. L.; NAKAHARA, K.; ISHIKAWA, T.; WATANABE, T.; SUENAGA, K.; RONDON, M.; RAO, I. M. Scope and strategies for regulation of nitrification in agricultural systems – Challenges and opportunities. **Journal Critical Reviews in Plant Sciences**, v. 25, n. 4, p. 1-33, 2006.

SUBBARAO, G. V.; RONDON, M.; ITO, O.; ISHIKAWA, T.; RAO, I. M.; NAKAHARA, K.; LASCANO, C.; BERRY, W. L. Biological nitrification inhibition (BNI) – is it a widespread phenomenon? **Plant and Soil**, v. 294, p. 5-18, 2007.

SUKWEENADHI, J.; KIM, Y. J.; KANG, C. H.; FARH, M. E.; NGUYEN, N. L.; HOANG, V. A.; CHOI, E. S.; YANG, D. C. *Sphingomonas panaciterrae* sp. nov., a plant growth-promoting bacterium isolated from soil of a ginseng field. **Archives of Microbiology**, v. 197, n. 8, p. 973- 981, 2015.

SULEMAN, M.; YASMIN, S.; RASUL, M.; YAHYA, M.; ATTA, B. M.; MIRZA, M. S. Phosphate solubilizing bacteria with glucose dehydrogenase gene for phosphorus uptake and beneficial effects on wheat. **PloS One**, v. 13, n. 9, e0204408, p. 1-28, 2018.

SWIFT, R. S. Organic matter characterization. In: SPARKS, D. (ed.). **Methods of soil analysis: Chemical methods**. Madison, Soil Science Society America, 1996. Part 3. p.1018-1020. (Soil Science Society of America, Series, 5).

TABATABAI, M. A.; BREMNER, J. M. Use of p-nitrophenol phosphate for the assay of soil phosphatase activity. **Soil Biology Biochemistry**, v. 1, p. 301-307, 1969.

TÓTOLA, M. R.; CHAER, G. M. Microrganismos e processos microbiológicos como indicadores de qualidade dos solos. In: ALVAREZ V., V. H.; SCHAEFER, C. E. G. R.; BARROS, N. F.; MELLO, J. W. V.; COSTA, L. M. (eds.). **Tópicos em ciência do solo**. v.2. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2002. p.195-276.

TRINSOUTROT, G. I.; RECOUS, S.; BENTZ, B.; NICOLARDOT, B. Biochemical Quality of Crop Residues and Carbon and Nitrogen Mineralization Kinetics under Nonlimiting Nitrogen Conditions. **Soil Science Society of America Journal**, v. 64, p. 918-926, 2000.

TROUILLEFOU, C. M.; LE CADRE, E.; CACCIAGUERRA, T.; CUNIN, F.; PLASSARD, C.; BELAMIE, E. Protected activity of a phytase immobilized in mesoporous silica with benefits to plant phosphorus nutrition. **Journal of Sol-Gel Science and Technology**, v. 74, n. 1, p. 55-65, 2015.

TYSON, G. W.; LO, I.; BAKER, B. J.; ALLEN, E. E.; HUGENHOLTZ, P.; BANFIELD, J. F. Genome-directed isolation of the key nitrogen fixer *Leptospirillum ferrodiazotrophum* sp. nov. from an acidophilic microbial community. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 71, n. 10, p. 6319-6324, 2005.

van der HEIJDEN, M. G. A.; BARDGETT, R. D.; VAN STRAALLEN, N. M. The unseen majority: soil microbes as drivers of plant diversity and productivity in terrestrial ecosystems. **Ecology Letters**, v. 11, n. 3, p. 296-310, 2008.

VANCE, E. D.; BROOKES, P. C.; JENKINSON, D. S. An extraction method for measuring soil microbial biomass. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 19, n. 6, p. 703-707, 1987.

VARGAS, L.; VOLPIANO, C. G.; LISBOA, B.; GIONGO, A.; BENEDUZI, A.; PASSAGLIA, L. M. P. Potential of Rhizobia as Plant Growth-Promoting *Rhizobacteria*. In: ZAIDI A.; KHAN M.; MUSARRAT J. (eds). **Microbes for Legume Improvement**. Cham: Springer. 2017. p.153-174.

VIVIANI, C. A.; MARCHETTI, M. E.; VITORINO, A. C. T.; NOVELINO, J. O.; GONÇALVES, M. C. Disponibilidade de fósforo em dois Latossolos argilosos e seu acúmulo em plantas de soja, em função do aumento do pH. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 34, n. 1, p. 61-67, 2010.

VUKICEVICH, E., LOWERY, T., BOWEN, P.; ÚRBEZ-TORRES, J. R.; HART, M. Cover crops to increase soil microbial diversity and mitigate decline in perennial agriculture. A review. **Agronomy for Sustainable Development**, v. 36, n. 48, p. 1-14, 2016.

WALDROP, M.; BALSER, T.; FIRESTONE, M. Linking microbial community composition to function in a tropical soil. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 32, p. 1837-1846, 2000.

WANG, G. P.; LIU, J. S.; WANG, J. D.; YU, J. B. Soil phosphorus forms and their variations in depressional and riparian freshwater wetlands (Sanjiang Plain, Northeast China). **Geoderma**, v. 132, p. 59-74, 2006.

WANG, H.; HE, Q.; CHEN, D.; WEI, L.; ZOU, Z.; ZHOU, J.; YANG, K.; ZHANG, H. Microbial community in a hydrogenotrophic denitrification reactor based on pyrosequencing. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 99, n. 24, p. 10829-10837, 2015.

WARDLE, D. A. Metodologia para quantificação da biomassa microbiana do solo. In: HUNGRIA, M.; ARAUJO, R. S. (eds.). **Manual de métodos empregados em estudos de microbiologia agrícola**. Brasília, DF: EMBRAPA-SPI, Goiânia: EMBRAPA-CNPAP, Londrina: EMBRAPA-CNPASO, 1994.

WITHERS, P. J. A.; RODRIGUES, M.; SOLTANGHEISI, A.; CARVALHO, T. S.; GUILHERME, L. R. G.; BENITES, V. M.; GATIBONI, L. C.; SOUSA, D. M. G.; NUNES, R. S.; ROSOLEM, C. A.; ANDREOTE, F. D.; OLIVEIRA, A.; COUTINHO, E. L. M.; PAVINATO, P. S. Transitions to sustainable management of phosphorus in Brazilian agriculture. **Scientific Reports**, v. 8, 2537, p. 1-13, 2018.

YANG, P. X.; MA, Li.; CHEN, M. H.; XI, J. Q.; HE, F.; DUAN, C. Q.; MO, M. H.; FANG, D. H.; DUAN, Y. Q.; YANG, F. X. Phosphate solubilizing ability and phylogenetic diversity of bacteria from P-rich soils around Dianchi Lake drainage area of China. **Pedosphere**, v. 22, p. 707-716, 2012.

YAO, F.; YANG, S.; WANG, Z.; WANG, X.; JI, Y.; WANG X.; DeBRUYN, J. M.; FENG, X.; JIANG, Y.; LI, H. Microbial Taxa Distribution Is Associated with Ecological Trophic Cascades along an Elevation Gradient. **Frontiers in Microbiology**, v. 8, 2017, p. 1-17, 2017.

ZENG, Q.; DONG, Y.; AN, S. Bacterial community responses to soils along a latitudinal and vegetation gradient on the Loess Plateau, China. **PloS One**, v. 11, e0152894, p. 1-17, 2016.

ZHANG, C.; ZHANG, X.; ZOU, H. T.; KOU, L.; YANG, Y.; WEN, X.; LI, S.; WANG, H. M.; SUN, X. Contrasting effects of ammonium and nitrate additions on the biomass of soil microbial communities and enzyme activities in subtropical China. **Biogeosciences**, v. 14, p. 4815-4827, 2017.

ZHAO, C.; LONG, J.; LIAO, H.; ZHENG, C.; LI, J.; LIU, L.; ZHANG, M. Dynamics of soil microbial communities following vegetation succession in a karst mountain ecosystem, Southwest China. **Scientific Reports**, v. 9, 2160, p. 1-10, 2019.

ZHENG, B. X.; ZHANG, D. P.; WANG, W.; HAO, X. L.; WADAAN, M. A. M.; HOZZEIN, N. W.; PEÑUELAS, J.; ZHU, Y. G.; YANG, X. R. Response to soil pH gradients of inorganic phosphate solubilizing bacteria community. **Scientific Reports**, v. 9, 25, p. 1-8, 2019.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os sistemas de sucessão de culturas com sorgo e crotalária foram eficientes na ciclagem de fósforo. O cultivo da crotalária acumulou mais P na matéria seca, contribuindo, dessa forma, na ciclagem de P por meio da decomposição dos seus resíduos vegetais. E o cultivo do sorgo aumentou a disponibilidade de P nas camadas avaliadas pelos mecanismos de solubilização de P. O sistema de sucessão com milho aumentou os teores de P de menor labilidade. De forma geral, o cultivo prévio do sorgo e da crotalária aumenta a disponibilidade de P.

O sistema de sucessão com pousio/escarificação possibilitou, na camada superficial, aumento da labilidade de P orgânico e inorgânico, em que o manejo da escarificação pode estar permitindo maior mineralização dos resíduos culturais do triticale e da soja. Esse efeito a curto prazo é uma estratégia interessante para o aumento da labilidade de P, mas a longo prazo pode resultar em consequências indesejáveis, como a redução da matéria orgânica do solo.

O presente estudo revelou que o cultivo de plantas de cobertura em sistema de semeadura direta exerce uma forte influência sobre a diversidade e estrutura bacteriana do solo. As modificações nos atributos químicos do solo ocasionadas pelos sistemas de sucessão selecionam bactérias nativas do solo, que ao longo do tempo realizam funções ecológicas importantes para aumentar a disponibilidade de P do solo. O P inorgânico lábil e P orgânico moderadamente lábil foram as frações responsáveis pela seleção da maior diversidade de bactérias, ao mesmo tempo que cada cultivo se diferenciou nos atributos químicos do solo e na atividade das enzimas fosfatase e desidrogenase. Isso demonstra que os mecanismos adotados tanto pelas plantas de cobertura como pelas bactérias para o aumento na disponibilidade de P são contrastantes, contudo, produzem o mesmo efeito.

A compreensão da estrutura da comunidade bacteriana nativa do solo influenciada pelos sistemas de sucessão de culturas é importante para melhorar as condições de desenvolvimento vegetal. Os serviços ambientais desempenhados pelas plantas e microbiota do solo não se restringe somente no aumento da disponibilidade de P, mas também nos atributos químicos do solo, manutenção do carbono orgânico do solo e maior biomassa microbiana, como observado neste estudo.

REFERÊNCIAS

- ALKORTA, I.; AMEZAGA, I.; ALBIZU, I.; AIZPURUA, A.; ONAINDIA, M.; BUCHNER, V.; GARBISU C. Molecular microbial biodiversity assessment: a biological indicator of soil health. **Reviews on Environmental Health**, v. 18, n. 2, p. 131-51, 2003.
- ALORI, E. T.; GLICK, B. R.; BABALOLA, O. O. Microbial phosphorus solubilization and its potential for use in sustainable agriculture. **Frontiers in Microbiology**, v. 8, n. 971, p. 1-8, 2017.
- ARIF, M. S.; SHAHZAD, S. M.; YASMEEN, T.; RIAZ, M.; ASHRAF, M.; ASHRAF, M. A.; KAUSAR, R. Improving plant phosphorus (P) acquisition by phosphate-solubilizing bacteria. *In*: NAEEM, M.; ANSARI, A. A.; GILL, S. S. (eds.). **Essential plant nutrients** - Captação, eficiência de uso e gerenciamento. Berlim: Springer, 2017. p. 513-556.
- BEN FARHAT, M.; FARHAT, A.; BEJAR, W.; KAMMOUN, R.; BOUCHAALA, K.; FOURATI, A.; ANTOUN, H.; BEJAR, S.; CHOUAYEKH, H. Characterization of the mineral phosphate solubilizing activity of *Serratia marcescens* CTM 50650 isolated from the phosphate mine of Gafsa. **Archives of Microbiology**, v. 191, p. 815-824, 2009.
- BUCHER, M. Functional biology of plant phosphate uptake at root and mycorrhiza interfaces. **New Phytologist**, v. 173, p. 11-26. 2007.
- BUKIN, Y. S.; GALACHYANTS, Y. P.; MOROZOV, I. V.; BUKIN, S. V.; ZAKHARENKO, A. S.; ZEMSKAYA, T. I. The effect of 16S rRNA region choice on bacterial community metabarcoding results. **Scientific Data**, v. 6, n.190007, p. 1-14, 2019.
- CALONEGO, J. C. **Uso de plantas de cobertura na recuperação de solo Compactado**. 2007. Tese (Doutorado em Agronomia - Agricultura) - Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2007.
- CONDRON, L. M.; GOH, K. M. Effects of long-term phosphatic fertilizer applications on amounts and forms of phosphorus in soils under irrigated pasture in New Zealand. **Journal of Soil Science**, v. 40, p. 383-395, 1989.
- CONDRON, L. M.; TIESSEN, H. Interactions of organics phosphorus in terrestrial ecosystems. *In*: TUNER, B. L.; FROSSARD, E.; BALDWIN, D. S. (eds.). **Organic Phosphorus in the environmet**. Oxford: CABI, 2005. p. 295-307.
- CORRÊA, J. C.; MAUAD, M.; ROSOLEM, C. A. Fósforo no solo e desenvolvimento de soja influenciados pela adubação fosfatada e cobertura vegetal. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 39, n. 12, p. 1231-1237, 2004.
- CROSS, A. F., SCHLESINGER, W. H. A literature review and evaluation of the Hedley fractionation: applications to the biogeochemical cycle of soil phosphorus in natural ecosystems. **Geoderma**, v. 64, p. 197-214, 1995.

DAYTON, E. A.; WHITACRE, S.; HOLLOMAN, C. Comparison of three persulfate digestion methods for total phosphorus analysis and estimation of suspended sediments. **Applied Geochemistry**, v. 78, p. 357-362, 2017.

FIERER, N.; JACKSON, R. B. The diversity and biogeography of soil bacterial communities. **Proceedings of the National Academy of Sciences - PNAS**, v. 103, n. 3, p. 626-631, 2006.

GATIBONI, L. C., BRUNETTO, G., RHEINHEIMER, D. S., KAMINSKI, J. Fracionamento químico das formas de P do solo: usos e limitações. In: ARAÚJO, A. P.; ALVES, B. J. R. (eds.). **Tópicos em Ciência do Solo**. Editora: SBCE, 2013. v. 8, p. 141-187.

GILES, C. D., CADE-MENUN B. J.; HILL, J. E. The inositol phosphates in soils and manures: Abundance, cycling, and measurement. **Canadian Journal of Soil Science**, v. 91, p. 397-416, 2011.

GYANESHWAR, P.; KUMAR, G. N.; PAREKH, L. J.; POOLE, P. S. Role of soil microorganisms in improving P nutrition of plants. **Plant Soil**, v. 245, p. 83-93, 2002.

HALLAMA, M.; C. PEKRUN, H. L.; KANDELER. E. Hidden miners: The roles of cover crops and soil microorganisms in phosphorus cycling through agroecosystems. **Plant Soil**, v. 434, p. 7-45, 2019.

HEDLEY, M. J.; STEWART, J. W. B.; CHAUHAN, B. S. Changes in inorganic and organic soil phosphorus fractions induced by cultivation practices and by laboratory incubations. **Soil Science Society of America Journal**, v. 46, p. 970-976, 1982.

HINSINGER, P. Bioavailability of soil inorganic P in the rhizosphere as affected by root induced chemical changes: a review. **Plant Soil**, v. 237, p. 173-195, 2001.

LEITE, J. N. F.; CRUZ, M C. P.; FERREIRA, M. E.; ANDRIOLI, I.; BRAOS, L. B. Frações orgânicas e inorgânicas do fósforo no solo influenciadas por plantas de cobertura e adubação nitrogenada. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 51, n. 11, p. 1880-1889, 2016.

LEITE, R. C.; CARNEIRO, J. S.; FREITAS, G. A.; CASALI, M. E.; SILVA, R. R. Adubação fosfatada na soja durante três safras consecutivas na nova fronteira agrícola brasileira. **Scientia Agraria**, v.18, n. 4, p. 28-35, 2017.

LYNCH, J. P.; BROWN, K. M. Root strategies for phosphorus acquisition. In: WHITE, P. J.; HAMMOND, J. P. (eds.) **The ecophysiology of plant-phosphorus interactions**. Springer: Dordrecht, 2008. p. 83-111.

MESQUITA FILHO, M. V.; TORRENT, J. Phosphate sorption as related to mineralogy of a hydrosequence of soils from cerrado region (Brazil). **Geoderma**, v. 58, p. 107-123, 1993.

NOVAIS, R. F.; SMYTH, T. J. **Fósforo em solo e planta em condições tropicais**. Viçosa: UFV, DPS, 1999.

NUNES, R. S; SOUSA, D. M. G; GOEDERT, W. J; VIVALDI, L. J. Distribuição de fósforo no solo em razão do sistema de cultivo e manejo da adubação fosfatada. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 35, p. 877-888, 2011.

OBERSON, A., BESSON, J.M., MAIRE N.; STICHER H. Microbiological processes in soil organic phosphorus transformations in conventional and biological cropping systems. **Biology and Fertility of Soils**, v. 21, p. 138-148, 1996.

OLIVEIRA, C.; ALVES, V. M. C.; MARRIEL, I.; GOMES, E. A.; SCOTTI, M. R.; CARNEIRO, N.; GUIMARÃES, C.; SCHAFFERT, R.; SÁ, N. M. H. Phosphate solubilizing microorganisms isolated from rhizosphere of maize cultivated in an oxisol of the Brazilian Cerrado Biome. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 41, p. 1782-1787, 2009.

OLIVEIRA, F. H. T.; NOVAIS, R. F.; ALVAREZ V. V. H.; CANTARUTTI, R. B.; BARROS, N. F. Fertilidade do solo no sistema plantio direto. *In*: ALVAREZ V., V. H.; SCHAEFER, C. E. G. R.; BARROS, N. F.; MELLO, J. W. V.; COSTA, L. M. (eds.) **Tópicos em Ciência do Solo**. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2002. v. 2, p. 393-486.

PARK, K. H.; LEE, C. Y.; SON, H. J. Mechanism of insoluble phosphate solubilization by *Pseudomonas fluorescens* RAF15 isolated from ginseng rhizosphere and its plant growth-promoting activities. **Letters in Applied Microbiology**, v. 49, n. 2, p. 222-228, 2009.

RHEINHEIMER, D. S.; ANGHINONI, I.; CONTE, E. Fósforo da biomassa microbiana em solos sob diferentes sistemas de manejo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 24, n. 3, p. 589-597, 2000.

RICHARDSON, A.; BAREA, J.M.; MCNEILL, A.M.; PRIGENT-COMBARET, C. Acquisition of phosphorus and nitrogen in the rhizosphere and plant growth promotion by microorganisms. **Plant Soil**, v. 321, p. 305-339, 2009.

RIGON, J. P. G. **Emissão de gases de efeito estufa em áreas de sistema de semeadura direta com aportes diferenciados de carbono e nitrogênio**. 2013. Dissertação (Mestrado em Agronomia - Agricultura) – Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2013.

SANTOS, D. R.; GATIBONI, L. C.; KAMINSKI, J. Fatores que afetam a disponibilidade do fósforo e o manejo da adubação fosfatada em solos sob sistema plantio direto. **Ciência Rural**, v. 38, n. 2, p. 576-586, 2008.

SCHACHTMAN, D. P.; REID, R. J.; AYLING S. M. Phosphorus uptake by plants: from soil to cell. **Plant Physiology**, v. 116, p. 447-453, 1998.

SCHLINDWEIN, J. A.; ANGHINONI, I. Variabilidade vertical do fósforo e potássio disponíveis e profundidade de amostragem do solo no sistema plantio direto. **Ciência Rural**, v. 30, p. 611-617, 2000.

SHARMA, S. B.; SAYYED, R. Z.; TRIVEDI, M. H.; GOBI, T. A. Phosphate solubilizing microbes: sustainable approach for managing phosphorus deficiency in agricultural soils. **Springerplus**, v. 2, n. 587, p. 1-14, 2013.

TRINGE, S. G.; HUGENHOLTZ, P. A. renaissance for the pioneering 16S rRNA gene. **Current Opinion in Microbiology**, v. 11, p. 442-446, 2008.

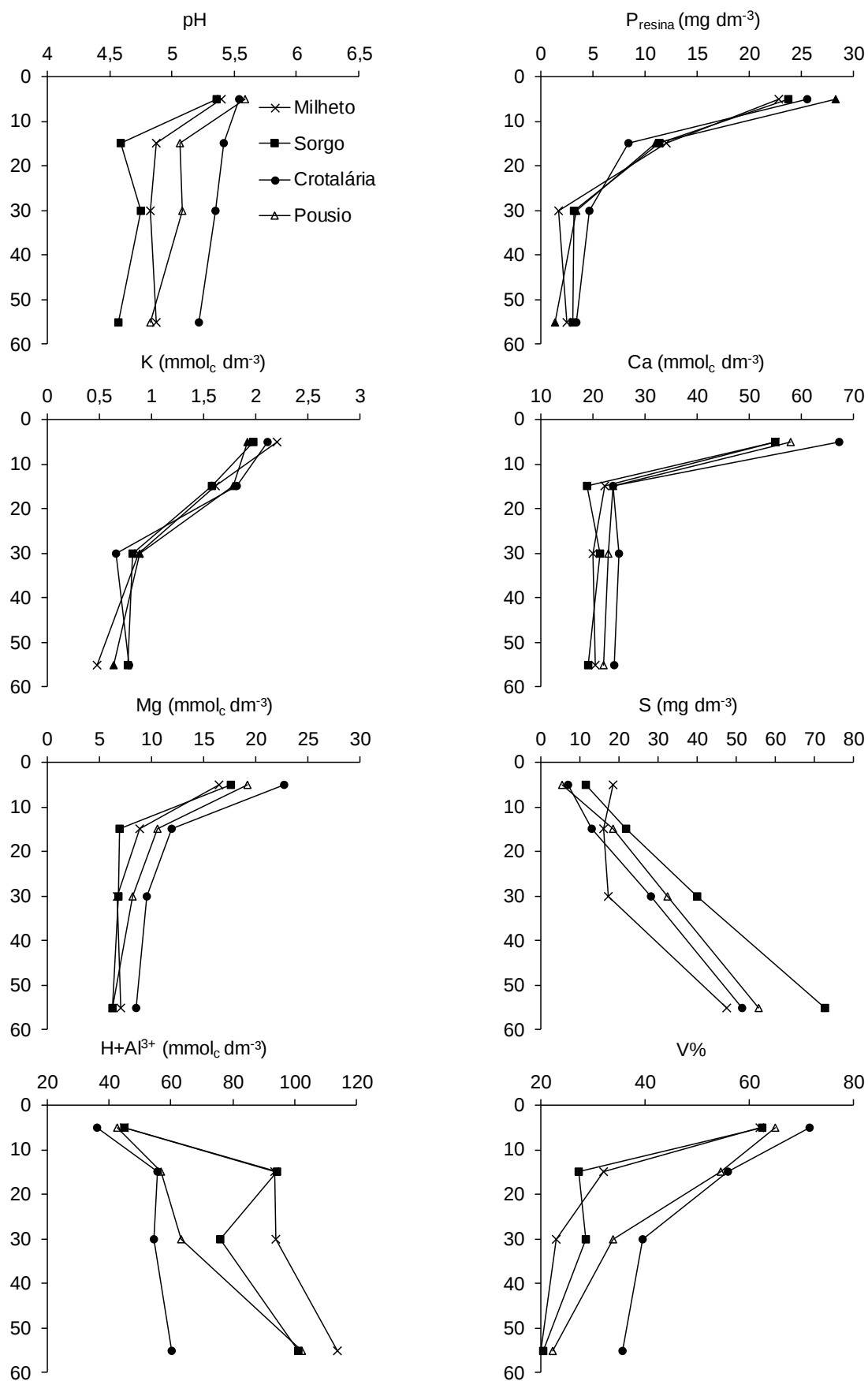
TURNER, B. L.; NEWMAN, S. Phosphorus cycling in wetland soils: the importance of phosphate diesters. **Journal of environmental quality**, v. 34, n. 5, p. 1921-1929, 2005.

VANCE, C. P.; UHDE-STONE, C.; ALLAN, D. L. Phosphorus acquisition and use: critical adaptations by plants for securing a nonrenewable resource. **New Phytologist**, v. 157, p. 423-447, 2003.

WIELBO, J.; SKORUPSKA, A. Influence of phosphate and ammonia on the growth, exopolysaccharide production and symbiosis of *Rhizobium leguminosarum* bv. *Trifolii* TA1 with clover (*Trifolium pratense*). **Acta Biologica Hungarica**, v. 59, p. 115-127, 2008.

YADAV, R. S.; TARAFDAR, J. C. Influence of organic and inorganic phosphorus supply on the maximum secretion of acid phosphatase by plants. **Biology and Fertility of Soils**, v. 34, p. 140-143, 2001.

APÊNDICE A – Caracterização dos atributos químicos da área de estudo em 2017



ANEXO A – Fracionamento de fósforo do solo

O procedimento adotado foi proposto por Hedley et al. (1982), modificado por Condron e Goh (1989), apresentado por Gatiboni et al. (2013).

Soluções extratoras:

- a) Resina:** 1 lâmina de RTA (1,0 x 2,0 cm) carregada conforme **ANEXO B**;
- b) NaHCO_3 0,5 mol L⁻¹:** Pesar 42 g de NaHCO_3 em Becker de 1 L e dissolver em 900 mL de H_2O destilada. Ajustar o pH a 8,5 (NaOH ou HCl) e completar o volume em balão (1 L). Preparar imediatamente antes do uso.
- c) NaOH 0,1 mol L⁻¹:** Pesar 4 g de NaOH em Becker de 1 L e dissolver em 900 mL de H_2O destilada. Completar o volume em balão (1 L).
- d) HCl 1 mol L⁻¹:** Adicionar 84 mL de HCl concentrado em Becker de 1 L contendo 700 mL de H_2O destilada. Completar o volume em balão (1 L).
- e) NaOH 0,5 mol L⁻¹:** Pesar 20 g de NaOH em Becker de 1 L e dissolver em 900 mL de H_2O destilada. Completar o volume em balão (1 L).

Solução para limpeza entre extrações:

- a) NaCl 0,5 mol L⁻¹:** Pesar 29,25 g de NaCl em Becker de 1 L e dissolver em 900 mL de H_2O destilada. Completar o volume em balão (1 L).

Procedimento:

1. Pesar 0,5 g de solo para tubo de centrífuga com tampa rosca;
2. Adicionar 10 mL de H_2O destilada;
3. **Adicionar 1 lâmina de RTA carregada segundo ANEXO B;**
4. Agitar por 16 horas no "end-over-end" (rotação de 33 rpm);
5. Preparar recipiente com tampa, adicionando a ele 10 mL de HCl 0,5 mol L⁻¹;
6. Retirar a RTA do tubo (após as 16 horas de agitação) com auxílio de pinça;
7. Lavar o excesso de solo da RTA com H_2O (pisceta);
8. Colocar a RTA no recipiente preparado (passo 5);
9. Deixar RTA em repouso no HCl por 90 min (com a tampa aberta);
10. Tampar e agitar por 30 min em agitador horizontal (180 rpm, garantindo movimentação constante da RTA);
11. Retirar RTA com auxílio de pinça e separá-la para recuperação (**ANEXO B**);

12. Determinar Pi no extrato de HCl 0,5 mol L⁻¹ (**ANEXO C**);
13. Centrifugar o tubo (solo+água) a 4000-6000 rpm por 30 min e descartar o sobrenadante;
14. **Adicionar 10 mL de NaHCO₃ 0,5 mol L⁻¹**;
15. Agitar manualmente até soltar o solo do fundo do tubo;
16. Agitar por 16 horas no "end-over-end" (rotação de 33 rpm);
17. Centrifugar a 4000-6000 rpm por 20-15 min;
18. Reservar o sobrenadante para análise de Pi (**ANEXO D**) e Pt (**ANEXO E**);
19. Adicionar 5 mL de NaCl 0,5 mol L⁻¹ para lavagem (evitar mexer o solo);
20. Centrifugar a 4000-6000 rpm por 10-15 min e adicionar o sobrenadante ao extrato (passo 18);
21. **Adicionar 10 mL de NaOH 0,1 mol L⁻¹**;
22. Agitar manualmente até soltar o solo do fundo do tubo;
23. Agitar por 16 horas no "end-over-end" (rotação de 33 rpm);
24. Centrifugar a 4000-6000 rpm por 20-15 min;
25. Reservar o sobrenadante para análise de Pi (**ANEXO D**) e Pt (**ANEXO E**);
26. Adicionar 5 mL de NaCl 0,5 mol L⁻¹ para lavagem (evitar mexer o solo);
27. Centrifugar a 4000-6000 rpm por 10-15 min e adicionar o sobrenadante ao extrato (passo 25);
28. **Adicionar 10 mL de HCl 1,0 mol L⁻¹**;
29. Agitar manualmente até soltar o solo do fundo do tubo;
30. Agitar por 16 horas no "end-over-end" (rotação de 33 rpm);
31. Centrifugar a 4000-6000 rpm por 20-15 min;
32. Reservar o sobrenadante para análise de Pi (**ANEXO C**);
33. Adicionar 5 mL de NaCl 0,5 mol L⁻¹ para lavagem (evitar mexer o solo);
34. Centrifugar a 4000-6000 rpm por 10-15 min e adicionar o sobrenadante ao extrato (passo 32);
35. **Adicionar 10 mL de NaOH 0,5 mol L⁻¹**;
36. Agitar manualmente até soltar o solo do fundo do tubo;
37. Agitar por 16 horas no "end-over-end" (rotação de 33 rpm);
38. Centrifugar a 4000-6000 rpm por 20-15 min;
39. Reservar o sobrenadante para análise de Pi (**ANEXO D**) e Pt (**ANEXO E**);
40. Adicionar 5 mL de NaCl 0,5 mol L⁻¹ para lavagem (evitar mexer o solo);

41. Centrifugar a 4000-6000 rpm por 10-15 min e adicionar o sobrenadante ao extrato (passo 39);
42. **Secar o solo em estufa a 50° C (aproximadamente 48 h) e digerir conforme ANEXO F.**

ANEXO B – Saturação e recuperação de resinas trocadoras de ânions

(adaptado de GATIBONI, 2003)

Preparo da RTA (acondicionadas em recipiente próprio, possibilitando isolamento das lâminas em células individuais)

- a) Lavagem com HCl 0,5 mol L⁻¹ (volume suficiente para cobrir recipiente):
- contato com HCl mol L⁻¹ por 10 min (agitação constante a 150 rpm), descartar líquido;
 - contato com HCl mol L⁻¹ por 30 min (agitação constante a 150 rpm), descartar líquido;
 - contato com HCl mol L⁻¹ por 30 min (agitação constante a 150 rpm), descartar líquido.
- b) Lavagem com H₂O destilada (volume suficiente para cobrir recipiente):
- lavar com H₂O destilada em abundância e descartar o líquido;
 - contato com H₂O dest. por 30 min (agitação constante a 150 rpm), descartar líquido;
 - contato com H₂O dest. por 30 min (agitação constante a 150 rpm), descartar líquido;
 - contato com H₂O dest. por 30 min (agitação constante a 150 rpm), descartar líquido.
- c) Saturação com NaHCO₃ 0,5 mol L⁻¹ (volume suficiente para cobrir recipiente):
- contato com NaHCO₃ 0,5 mol L⁻¹ por 10 min (agitação constante a 100 rpm), descartar líquido;
 - contato com NaHCO₃ 0,5 mol L⁻¹ por 30 min (agitação constante a 100 rpm), descartar líquido;
 - contato com NaHCO₃ 0,5 mol L⁻¹ por 120 min (agitação constante a 100 rpm), descartar líquido.
- d) Lavagem do excesso de NaHCO₃ 0,5 mol L⁻¹ com H₂O destilada (volume suficiente para cobrir recipiente):
- lavar com H₂O dest. em abundância, descartar o líquido;
 - contato com H₂O dest. por 30 min (agitação constante a 100 rpm), descartar líquido;
 - contato com H₂O dest. por 30 min (agitação constante a 100 rpm), descartar líquido;

- contato com H₂O dest. por 30 min (agitação constante a 100 rpm), descartar líquido.

Extração do fósforo do solo

- Passos "1" a "42" do fracionamento de P do solo (**ANEXO A**).

Recuperação da RTA

- submeter a RTA aos passos **1a** e **1b** do preparo da RTA;
- estocar a RTA em água destilada;

Obs: a) a RTA pode ser recuperada em dia anterior

b) a saturação da RTA com NaHCO₃ deve ser preparado na hora do uso e o pH regulado a 8,5 (NaOH ou HCl).

ANEXO C – Determinação de fósforo em extratos ácidos do solo

(MURPHY; RILEY, 1962)

1. Soluções:

Solução Ácido Sulfúrico: Colocar 300 mL de H₂O destilada em Becker (condicioná-lo em recipiente com gelo) e adicionar lentamente 70 mL de H₂SO₄ concentrado, e ajustar o volume em balão volumétrico 500 mL.

Solução de Molibdato de amônio: Dissolver 20 g de (NH₄)Mo₇O₂₄.4H₂O com 300 mL de H₂O destilada, e ajustar o volume em balão volumétrico 500 mL.

Solução de Ácido ascórbico: Dissolver 1,32 g C₆H₈O₆ (ácido ascórbico) em 75 mL de de H₂O destilada em Becker.

Solução de Tartarato de antiamônio potássio: Dissolver 0,2743 g de K(SbO)C₄O₆. ½ H₂O com 75 mL de H₂O destilada em Becker de 100 mL.

Solução de trabalho: Misturar 125mL de H₂SO₄ com 37,5 molibdato de amônio (NH₄)Mo₇O₂₄.4H₂O, adicionar 75 mL de ácido ascórbico e em seguida 12,5 mL da solução de Tartarato de antiamônio potássio. Preparar no momento de uso e utilizar a solução em até 24 horas.

NaOH 10 mol L⁻¹: Dissolver 400 g de NaOH em 600 mL de H₂O destilada em Becker plástico de 1 L (acondicionar em gelo). Após esfriar, transferir para balão volumétrico de 1 L e ajustar o volume com H₂O destilada. Armazenar em frasco plástico.

p-nitrofenol 0,25%: Pesar 0,25 g de p-nitrofenol e dissolver em 100 mL de H₂O destilada em balão volumétrico. Armazenar em geladeira em frasco escuro.

2. Procedimento de análise:

- Preparar extrato em copo de café (1ou 2 mL extrato + diluição com H₂O = 3 mL);
- Adicionar uma gota de p-nitrofenol 0,25%;
- Neutralizar a solução com NaOH 10 mol L⁻¹;
- Adicionar 0,5 mL de solução de trabalho;
- Ler a absorbância em 882 nm após 30 minutos.

ANEXO D – Determinação de fósforo inorgânico em extratos alcalinos do solo

(DICK; TABATABAI, 1977, modificado por HE; HONEYCUTT, 2005)

1. Soluções:

Solução A: Dissolver 8,8 g de $C_6H_8O_6$ (ácido ascórbico) e 41 g de ácido tricloroacético (armazenado em geladeira) com 400 mL de H_2O destilada em Becker de 500 mL. Transferir para balão volumétrico de 500 mL e ajustar o volume com H_2O destilada.
Preparar no momento do uso.

Solução B: Dissolver 6,2 g de $(NH_4)Mo_7O_{24} \cdot 4H_2O$ com 400 mL de H_2O destilada em Becker de 500 mL. Transferir para balão volumétrico de 500 mL e ajustar o volume com H_2O destilada.

Solução C: Dissolver 29,4 g de citrato de sódio e 26 g de arsenito de sódio com 800 mL de H_2O destilada em Becker de 1000 mL. Adicionar 50 mL de ácido acético glacial (99%). Transferir para balão volumétrico de 1000 mL e ajustar o volume com H_2O destilada.

2. Procedimento de análise:

- a) Preparar extrato em copo de café (1 ou 2 mL do extrato + diluição com H_2O = 2 mL);
- b) Adicionar 2,5 mL de Solução A;
- c) Adicionar $\pm$ 5 segundos após 0,5 mL de Solução B;
- d) Adicionar $\pm$ 20 segundos após 1,25 mL de Solução C;
- e) Completar o volume até 6,25 mL;
- f) Ler a absorbância no fotocolorímetro em 850 nm após 15 minutos.

Obs: preparar padrões obedecendo mesmo procedimento adotado para as amostras (fundamental obedecer ao tempo e a sequência de adição das soluções).

ANEXO E – Digestão dos extratos alcalinos do solo (extraídos com NaOH e NaHCO₃) para análise do fósforo total

(US EPA, 1978, com modificações de NASCIMENTO et al., 2015 e adaptado de DAYTON et al., 2017)

1. Soluções:

Persulfato de sódio 7,5% (m/v): Dissolver 75 g de persulfato de sódio em 800 mL de H₂O destilada. Transferir para balão volumétrico de 1 L e completar o volume com H₂O destilada.

2. Procedimento de análise:

- a) Pipetar 2 mL do extrato alcalino para solo em tubo de digestão;
- b) Adicionar 10 mL de persulfato de sódio 7,5%;
- c) Adicionar 1 mL de H₂SO₄ concentrado;
- d) Colocar no bloco digestor a 70° por 60 minutos;
- e) Em seguida aumentar a temperatura do bloco para 121° e deixar por 30 minutos;
- f) Deixar esfriar e completar o volume à 10 mL;
- g) Determinar fósforo conforme **ANEXO C**.

ANEXO F – Digestão do resíduo do solo para análise do fósforo residual do fracionamento

(BROOKES; POWLSON, 1982)

1. Soluções:

Solução $MgCl_2$ saturado: adicionar $MgCl_2$ em H_2O destilada até a saturação da solução. H_2SO_4 concentrado.

H_2O_2 concentrado.

2. Procedimento de análise:

- a) Pesar 0,10 g de solo em tubo de digestão;
- b) Adicionar 1 mL de $MgCl_2$ saturado;
- c) Adicionar 1 mL de H_2SO_4 conc.;
- d) Colocar funil de refluxo no tubo de digestão;
- e) Aquecer por 1 hora no bloco digestor a $200^\circ C$;
- f) Deixar esfriar e adicionar 2 mL de H_2O_2 conc.;
- g) Aquecer por 1 hora no bloco digestor a $100^\circ C$ (Repetir passos “f” e “g”, caso a amostra não tenha clarificado);
- h) Deixar esfriar e completar o volume a 25 mL;
- i) Determinar fósforo conforme **ANEXO C**.