



UNIVERSIDADE  
ESTADUAL DE LONDRINA

---

ADRIANA PEREIRA DA SILVA

**ESTRUTURA DO SOLO E SUA RELAÇÃO COM A  
MICROBIOTA EM DIFERENTES SISTEMAS DE USO E  
MANEJO**

---

Londrina  
2013

ADRIANA PEREIRA DA SILVA

**ESTRUTURA DO SOLO E SUA RELAÇÃO COM A  
MICROBIOTA EM DIFERENTES SISTEMAS DE USO E  
MANEJO**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia, da Universidade Estadual de Londrina, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Agronomia.

Orientador(a): Prof. Dra. Maria de Fátima Guimarães

Co-orientador(a): Prof. Dra. Mariangela Hungria

Londrina  
2013

**Catálogo elaborado pela Divisão de Processos Técnicos da Biblioteca Central da  
Universidade Estadual de Londrina**

**Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)**

S586e	<p>Silva, Adriana Pereira da. Estrutura do solo e sua relação com a microbiota em diferentes sistemas de uso e manejo / Adriana Pereira da Silva. – Londrina, 2013. 113 f : il.</p> <p>Orientador: Maria de Fátima Guimarães. Co-orientador: Mariangela Hungria. Tese (Doutorado em Agronomia) – Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Agronomia, 2013. Inclui bibliografia.</p> <p>1. Estrutura do solo – Teses. 2. Ecologia microbiana – Teses. 3. Solos – Manejo – Teses. 4. Plantio direto – Teses. 5. Rotação de cultivos – Teses. I. Guimarães, Maria de Fátima. II. Hungria, Mariangela. III. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Agronomia. IV. Título.</p> <p style="text-align: right;">CDU 631.4</p>
-------	---

ADRIANA PEREIRA DA SILVA

**ESTRUTURA DO SOLO E SUA RELAÇÃO COM A MICROBIOTA EM  
DIFERENTES SISTEMAS DE USO E MANEJO**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia, da Universidade Estadual de Londrina, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Agronomia.

**BANCA EXAMINADORA**

---

Prof. Dra. Maria de Fátima Guimarães  
UEL – Londrina – PR

---

Dr. Fábio Martins Mercante  
Embrapa – Dourados – MS

---

Dra. Graziela Moraes de Cesare Barbosa  
IAPAR – Londrina – PR

---

Dra. Diva de Souza Andrade  
IAPAR – Londrina – PR

---

Prof. Dr. João Tavares Filho  
UEL – Londrina – PR

Londrina, 21 de fevereiro de 2013.

**DEDICO**

À minha mãe.

## **AGRADECIMENTOS**

A DEUS, pelo dom da vida e por ter guiado meus passos até o presente momento.

As minhas orientadoras Dra. Mariangela Hungria e a Dra Maria de Fátima Guimarães, pela orientação, incentivo, confiança, competência e profissionalismo.

Aos professores do Departamento de Agronomia da Universidade Estadual de Londrina, pela contribuição na formação acadêmica.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq, pela concessão da bolsa de doutorado.

À Embrapa Soja, pela concessão do laboratório para realização do trabalho de pesquisa.

À Universidade Estadual de Londrina registro aqui o meu agradecimento.

A todos os meus queridos amigos, pela amizade e companheirismo.

À minha família, pelo carinho, amor, paciência e dedicação.

SILVA, Adriana Pereira. **Estrutura do solo e sua relação com a microbiota em diferentes sistemas de uso e manejo**. 2013. 113 f. Tese de Doutorado em Agronomia – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2013.

## RESUMO

A sustentabilidade dos agroecossistemas é diretamente influenciada pelo efeito de diferentes práticas agrícolas na estrutura do solo, predispondo-o a alterações em suas propriedades químicas, físicas e biológicas. Assim, este trabalho teve por objetivo avaliar o impacto de diferentes práticas agrícolas na qualidade do solo, através da análise morfoestrutural; da quantificação do carbono e do nitrogênio da biomassa microbiana (CBM e NBM); bem como do carbono orgânico total (COT) e nitrogênio total (NT) do solo. Adicionalmente, foram realizadas análises qualitativas para avaliação da diversidade das comunidades bacterianas e fúngicas do solo por PCR-DGGE (Eletroforese em Gel de Gradiente Desnaturante). As avaliações foram realizadas em Londrina/Paraná, em um Latossolo Vermelho distroférrico, com 22 anos sob plantio direto (PD), plantio direto escarificado (PDE) e plantio convencional (PC), com rotação e sucessão, incluindo culturas de grãos [soja (*Glycine max*), milho (*Zea mays*) e trigo (*Triticum aestivum*)] e de cobertura e adubação verde [tremoço (*Lupinus albus*) e aveia preta (*Avena strigosa*)]. Os perfis de solo das áreas de PD e PDE sob rotação e sucessão de culturas apresentaram aspecto contínuo e coeso, sem fissuras, com porosidade variando de alta a média. Os perfis da área de PC apresentaram na camada superficial, solo livre e sem coesão, e abaixo desta camada, solo contínuo e fissurado de baixa porosidade. Teores superiores de CBM e NBM foram encontrados no PD e PDE, sob rotação e sucessão, enquanto teores inferiores foram obtidos no PC. O COT e o NT também foram superiores no PD e PDE independente do manejo de culturas em comparação ao PC. O NBM e o NT se mostraram os parâmetros mais sensíveis ao manejo do solo, demonstrando que o revolvimento do solo diminui o teor de nitrogênio. O índice de Shannon confirmou maior diversidade bacteriana no PD e PDE, nas profundidades de 0-10, 10-20 e 20-30 cm, enquanto, a diversidade fúngica foi maior nas profundidades de 0-10 e 10-20 cm. Não foram observadas diferenças na diversidade entre os sistemas de manejo de culturas. Conseqüentemente, a diversidade das comunidades microbianas foi favorecida em sistemas agrícolas com menor revolvimento do solo, por permitir a melhor conservação dos nichos ecológicos. Ao contrário, práticas de revolvimento intensivo do solo podem extinguir vários grupos de microrganismos, podendo resultar em alterações na funcionalidade do solo.

**Palavras-chave:** Estrutura do solo. Biomassa microbiana. Biodiversidade microbiana. Plantio direto. Rotação de culturas. PCR-DGGE.

SILVA, Adriana Pereira. **Soil structure and its relationship with the microbiota in different systems of use and management.** 2013. 113 p. Thesis (Doctorate in Agronomy) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2013.

## ABSTRACT

The sustainability of the agroecosystems is straight related to the effects of different agricultural management systems affecting soil structure, which in turn affects its chemical, physical and biological properties. The objective of this study was to evaluate the impact of different agricultural managements in soil quality, by means of analyses that included soil morpho-structure, quantification of microbial biomass of carbon and nitrogen (MB-C and MB-N), evaluation of total soil organic carbon and nitrogen (TSOC, TSON), and of the soil total nitrogen (STN). In addition, the diversity of the communities of soil bacteria and fungi was determined by PCR-DGGE. Evaluations were performed in Londrina, State of Paraná, southern Brazil, at the Embrapa Soja experimental station, in an Oxisol, with 22 years under no-till (NT), no-till with field cultivator (FC) and conventional tillage (CT), with crop rotation and succession, including grain crops [soybean (*Glycine max*), maize (*Zea mays*), wheat (*Triticum aestivum*)], and cover crops [lupin (*Lupinus albus*), black oat (*Avena strigosa*)]. Soil profiles in the areas under NT and FC with crop rotation and succession showed continuous aspect, cohesive, without cracks, porosity ranging from high to medium. Soil profiles under CT showed a superficial layer without cohesion, followed by a continuous and cracked soil layer of low porosity. Higher contents of MB-C and MB-N were observed in the NT and FC. Higher TSOC and TSON were also observed in the NT and FC, independent of the crop management. MB-N and TNS were identified as the best parameters to detect changes caused by soil managements, indicating that soil disturbance decreases the soil N content. The Shannon index confirmed greater bacterial diversity in NT and FC, at the depths of 0-10, 10-20 and 20-30 cm, while the fungal diversity was higher at 0-10 and 10-20 cm. There were no differences in microbial diversity attributed to the crop management systems. The diversity of microbial communities in agricultural systems is favored with lower soil disturbance, allowing a better conservation of ecological niches. Instead, practices of intensive soil tillage can extinguish several groups of microorganisms, which may result in changes in soil functionality.

**Key-words:** Soil structure. Microbial biomass. Microbial biodiversity. No-tillage. Crop rotation. PCR\_DGGE.

## LISTA DE FIGURAS

### ARTIGO A

- Figura 3.1<sup>a</sup>** – Perfis culturais de um Latossolo Vermelho distroférico após 22 anos sob plantio direto (PD) em rotação (R) e sucessão (S) de culturas .....35
- Figura 3.1<sup>b</sup>** – Perfis culturais de um Latossolo Vermelho distroférico após 22 anos sob plantio direto escarificado (PDE) em rotação (R) e sucessão (S) de culturas .....36
- Figura 3.1<sup>c</sup>** – Perfis culturais de um Latossolo Vermelho distroférico após 22 anos sob plantio convencional (PC) em rotação (R) e sucessão (S) de culturas .....37
- Figura 3.2** – Porcentagem das áreas das UMHs de um Latossolo Vermelho distroférico após 22 anos sob plantio direto (PD), plantio direto escarificado (PDE) e plantio convencional (PC) em rotação (R) e sucessão (S) de culturas .....38
- Figura 3.3** – Análise de Componentes Principais (ACP) baseada nas UMHs de um Latossolo Vermelho distroférico após 22 anos sob plantio direto (PD), plantio direto escarificado (PDE) e plantio convencional (PC) em rotação (R) e sucessão (S) de culturas .....41
- Figura 3.4** – Carbono da biomassa microbiana (CBM) nas UMHs de um Latossolo Vermelho distroférico após 22 anos sob plantio direto (PD), plantio direto escarificado (PDE) e plantio convencional (PC) em rotação (R) e sucessão (S) de culturas .....42
- Figura 3.5** – Análise de Componente Principal (ACP) baseada na relação das UMHs dos perfis culturais com o conteúdo de CBM .....43
- Figura 3.6** – Nitrogênio da biomassa microbiana (NBM) nas UMHs de um Latossolo Vermelho distroférico após 22 anos sob plantio direto (PD), plantio direto escarificado (PDE) e plantio convencional (PC) em rotação (R) e sucessão (S) de culturas .....44
- Figura 3.7** – Análise de Componente Principal (ACP) baseada na relação das UMHs dos perfis culturais com o conteúdo de NBM .....44

## ARTIGO B

- Figura 4.1** – Perfis de PCR-DGGE das comunidades bacterianas de um Latossolo Vermelho distroférico de Londrina/PR, em diferentes profundidades, após 22 anos sob plantio direto (PD), plantio direto escarificado (PDE) e plantio convencional (PC) com rotação(R) e sucessão (S) de culturas.....71
- Figura 4.2** – Dendrogramas de similaridade das comunidades bacterianas de um Latossolo Vermelho distroférico em diferentes profundidades, após 22 anos sob plantio direto (PD), plantio direto escarificado (PDE) e plantio convencional (PC) com rotação(R) e sucessão (S) de culturas.....73
- Figura 4.3** – Perfil de PCR-DGGE das comunidades fúngicas de um Latossolo Vermelho distroférico de Londrina/PR, em diferentes profundidades, após 22 anos sob plantio direto (PD), plantio direto escarificado (PDE) e plantio convencional (PC) com rotação(R) e sucessão (S) de culturas.....77
- Figura 4.4** – Dendrograma de similaridade das comunidades fúngicas de um Latossolo Vermelho distroférico em diferentes profundidades, após 22 anos sob plantio direto (PD), plantio direto escarificado (PDE) e plantio convencional (PC) com rotação(R) e sucessão (S) de culturas.....79

## LISTA DE TABELAS

### ARTIGO A

- Tabela 3.1** – Carbono e nitrogênio da biomassa microbiana (CBM e NBM) de um Latossolo Vermelho distroférico após 22 anos sob plantio direto (PD), plantio direto escarificado (PDE) e plantio convencional (PC) em rotação (R) e sucessão (S) de culturas .....46
- Tabela 3.2** – Carbono orgânico total (COT) e nitrogênio total (NT) de um Latossolo Vermelho distroférico após 22 anos sob plantio direto (PD), plantio direto escarificado (PDE) e plantio convencional (PC) em rotação (R) e sucessão (S) de culturas .....48

### ARTIGO B

- Tabela 4.1** – Índices de diversidade da comunidade bacteriana de um Latossolo Vermelho distroférico após 22 anos sob plantio direto (PD), plantio direto escarificado (PDE) e plantio convencional (PC) em rotação ( $R^2$ ) e sucessão (S) de culturas .....75
- Tabela 4.2** – Índices de diversidade da comunidade fúngica de um Latossolo Vermelho distroférico após 22 anos sob plantio direto (PD), plantio direto escarificado (PDE) e plantio convencional (PC) em rotação ( $R^2$ ) e sucessão (S) de culturas .....81
- Tabela 4.3** – Índices de diversidade das comunidades microbianas de um Latossolo Vermelho distroférico após 22 anos sob plantio direto (PD), plantio direto escarificado (PDE) e plantio convencional (PC) em rotação ( $R^2$ ) e sucessão (S) de culturas .....83

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	12
<b>2</b>	<b>REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	14
2.1	PRÁTICAS DE MANEJO E AS CONDIÇÕES FÍSICAS DO SOLO .....	14
2.2	PERFIL CULTURAL .....	16
2.3	BIOMASSA MICROBIANA.....	18
2.4	DIVERSIDADE MICROBIANA .....	21
<b>3</b>	<b>ARTIGO A: ALTERAÇÕES NA ESTRUTURA E BIOMASSA MICROBIANA DO SOLO EM FUNÇÃO DE DIFERENTES SISTEMAS DE MANEJO DO SOLO E DAS CULTURAS</b> .....	24
3.1	RESUMO.....	24
3.2	INTRODUÇÃO .....	25
3.3	MATERIAL E MÉTODOS .....	27
3.3.1	Caracterização da Área Experimental .....	27
3.3.2	Amostragem de Solo .....	30
3.3.3	Perfil Cultural .....	30
3.3.4	Análise Química do Solo .....	31
3.3.5	Avaliação da Biomassa Microbiana .....	31
3.3.6	Análise Estatística .....	32
3.4	RESULTADOS.....	33
3.4.1	Descrição dos Perfis de Solo.....	33
3.4.2	Biomassa Microbiana nas UMHs.....	41
3.4.3	Biomassa Microbiana em Profundidade .....	45
3.4.4	pH, Carbono Orgânico Total (COT) e Nitrogênio Total (NT).....	47
3.5	DISCUSSÃO .....	49
3.5.1	Alterações na Estrutura do Solo .....	49
3.5.2	Biomassa Microbiana .....	54
3.5.3	Carbono Orgânico Total (COT) e Nitrogênio Total (NT) .....	57
3.6	CONCLUSÕES .....	60

<b>4</b>	<b>ARTIGO B: EFEITO DE DIFERENTES SISTEMAS DE MANEJO DO SOLO NA DIVERSIDADE DAS COMUNIDADES MICROBIANAS.....</b>	<b>61</b>
4.1	RESUMO.....	61
4.2	INTRODUÇÃO .....	62
4.3	MATERIAL E MÉTODOS .....	64
4.3.1	Caracterização da Área Experimental .....	64
4.3.2	Amostragem de Solo .....	66
4.3.3	Extração do DNA Total do Solo.....	66
4.3.4	Amplificação do Gene 16S rDNA .....	67
4.3.5	Amplificação do Gene 18S rDNA .....	68
4.3.6	DGGE da Comunidade Bacteriana e Fúngica .....	69
4.3.7	Análise Estatística .....	69
4.4	RESULTADOS.....	70
4.5	DISCUSSÃO .....	84
4.6	CONCLUSÕES .....	88
<b>5</b>	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS .....</b>	<b>89</b>
	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>91</b>
	<b>ANEXO .....</b>	<b>107</b>

## 1 INTRODUÇÃO

Os diferentes sistemas de manejo do solo podem provocar impacto ambiental negativo nos agroecossistemas, como por exemplo, perda da biodiversidade, perda da fertilidade, degradação do solo e emissão de dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>), um dos gases responsáveis pelo efeito estufa. O Brasil apresenta 298 milhões de hectares nos mais diferentes ecossistemas explorados por práticas agrícolas; diante desse cenário, a adoção de práticas que minimizem esses impactos é fundamental para o uso sustentável dos sistemas produtivos.

O sistema de preparo de solo é uma das atividades que influi no seu comportamento físico, isto porque atua diretamente sobre a sua estrutura, havendo ou não revolvimento do solo. O manejo do solo é, sem dúvida, um componente fundamental do sistema de produção e uma importante ferramenta para uma atividade agrícola sustentável.

Atualmente, tem havido uma demanda crescente para a identificação de parâmetros que avaliem precocemente a qualidade do solo, identificando os manejos adequados para preservar suas propriedades químicas, físicas e biológicas.

Dentre os indicadores físicos, a estrutura é um dos atributos mais importantes para avaliar a qualidade do solo. A identificação detalhada da estrutura do solo a campo permite conhecer a morfologia dos horizontes antropizados, servindo como meio de diagnóstico da exploração agrícola do solo. Esse tipo de avaliação permite, ainda, a associação com outros métodos físicos, químicos e biológicos.

Nesse contexto, parâmetros microbiológicos têm sido utilizados com sucesso como indicadores de qualidade do solo, por se demonstrarem indicadores rápidos e sensíveis aos impactos provocados pelo manejo. A avaliação de alterações quantitativas, por exemplo, a biomassa microbiana, e alterações qualitativas, como a determinação da biodiversidade microbiana do solo, através do perfil de DNA dos microrganismos, se mostram ferramentas importantes na avaliação da qualidade do solo.

No Brasil os principais resultados de pesquisas são, em sua maioria, obtidos em ensaios de curta duração, faltando dados de longa duração, para a definição e consolidação de parâmetros estáveis relacionados à sustentabilidade

agrícola, bem como para a avaliação criteriosa do efeito de diferentes sistemas agrícolas nas propriedades do solo. O presente trabalho teve como objetivo estudar o efeito de diferentes práticas agrícolas na qualidade do solo, empregando-se a avaliação do estado físico-estrutural do solo a campo, da biomassa microbiana e da diversidade de microrganismos como indicadores de alterações decorrentes do manejo do solo.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 PRÁTICAS DE MANEJO E AS CONDIÇÕES FÍSICAS DO SOLO

A qualidade física do solo é um dos principais fatores que determinam a produtividade das culturas, tendo em vista a influência que exerce diretamente sobre o crescimento e o desenvolvimento das plantas e, indiretamente, sobre os atributos químicos e biológicos do solo.

O preparo intensivo do solo com excessivas arações e gradagens, tem sido apontado como um dos responsáveis pela degradação do solo e decréscimo do rendimento das culturas. Esse tipo de preparo pode levar o solo a modificações na sua estrutura, predispondo-o à formação de camadas compactadas, à redução da estabilidade dos agregados e ao aparecimento, em maior número, de microporos, aumentando a propensão à perda de solo (SOUZA e ALVES, 2003; BERTOL et al., 2004; MORRIS et al., 2010; LÓPEZ-FANDO e PARDO, 2011). O revolvimento rompe os agregados, promovendo imediata aeração da camada de solo mobilizado, o que favorece o crescimento das raízes dentro da camada revolvida. Entretanto, abaixo desta, a condição físico-hídrica, normalmente, é o inverso da superficial (COSTA et al., 2003; BERTOL et al., 2004).

Para minimizar a degradação do solo e tornar viável o cultivo das espécies, os manejos conservacionistas que requerem menor revolvimento do solo passaram a ser adotados. O sistema de semeadura direta, comumente chamado de plantio direto, teve início no Brasil na década de 1970, no Estado do Paraná. Nesse tipo de sistema a mobilização do solo limita-se apenas à linha de semeadura e os resíduos vegetais são mantidos na superfície do solo. Dentre os benefícios proporcionados pelo plantio direto, têm-se melhorias na capacidade de infiltração e retenção de água, na redução das oscilações térmicas do solo, além de proporcionar um ambiente com melhores condições de umidade e temperatura (VEIGA et al., 2007; MORRIS et al., 2010). Adicionalmente, no plantio direto ocorre um aumento no teor de carbono orgânico do solo, o que pode contribuir para o sequestro de carbono atmosférico (MORRIS et al., 2010). Oliveira et al. (2002) constataram que, em solos de igual declividade, o plantio direto reduziu em cerca de 75% as perdas de solo e em 20% as perdas de água, em relação às áreas com revolvimento de solo.

Em conjunto com as vantagens econômicas de redução do uso de maquinários, combustível e trabalho, os benefícios do plantio direto têm levado esse sistema de manejo a uma grande expansão, com estimativa em 2007 de ser praticado em aproximadamente 100 milhões de hectares por todo o mundo (HOBBS, 2007).

O Brasil é um dos países que se destaca no uso do sistema de plantio direto, com mais da metade de sua área cultivada sob esse sistema (MAPA, 2012). Segundo estimativas da Federação Brasileira de Plantio Direto na Palha (FEBRAPDP), aproximadamente 25,5 milhões de hectares foram destinados à produção de grãos no Brasil em plantio direto na safra 2005/2006 (FEBRAPDP, 2012). O Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) instituiu em junho de 2010 o programa Agricultura de Baixo Carbono (ABC), que incentiva processos tecnológicos que neutralizam ou minimizam os efeitos dos gases do efeito estufa no campo e um dos pontos a serem incentivados é a utilização do sistema de plantio direto (MAPA, 2012).

Entretanto, apesar de todos esses pontos positivos, no plantio direto tem sido observada, às vezes, a formação de uma camada de solo com maior grau de compactação a 0,1 - 0,2 m de profundidade, que está associada ao tráfego de máquinas agrícolas e ao não revolvimento do solo (TAVARES FILHO et al., 2001; VEIGA et al., 2007; FRANCHINI et al., 2009). Mesmo com esse fator indesejável, trabalhos tem mostrado que esse tipo de manejo proporciona melhoras nas propriedades químicas, físicas e biológicas do solo (FRANCHINI et al., 2000; FABRIZZI et al., 2005; BABUJIA et al., 2010; SILVA et al., 2010), sobretudo em regiões tropicais e subtropicais.

A melhoria da qualidade física nesse tipo de manejo do solo se deve à atividade da mesofauna e de raízes de culturas, que promovem uma rede de bioporos com maior continuidade e conectividade ao longo da matriz do solo, com reflexos no movimento de água (STRUDLEY et al., 2008) e ar (CARTER, 1992) no solo. Esses bioporos podem atuar como rotas alternativas para o crescimento das raízes (BENGOUGH et al., 2011), apesar de uma matriz mais densa e com maior resistência mecânica.

## 2.2 PERFIL CULTURAL

Os sistemas de produção agrícola, além de alterarem as características originais do solo podem, em alguns casos, levar à perda de grande parte de seu conteúdo de matéria orgânica e da biodiversidade natural, condições básicas para a agricultura sustentável. Mudanças nessas propriedades são, em grande parte, consequência de alterações na estrutura do solo (MORRIS et al., 2010).

Atualmente, a busca por um manejo adequado do solo, além da preservação desse recurso natural, é de fundamental importância para a sustentabilidade dos agroecossistemas, por promover a estabilidade dos agregados, a conservação da estrutura do solo e, por consequência, a disponibilidade de ar, água e nutrientes (MAJUMDER e KUZYSKOV, 2010; MORRIS et al., 2010; OTTO et al., 2011).

O uso de metodologias que quantifiquem e qualifiquem as condições estruturais do solo nos vários sistemas de manejo são importantes na avaliação da qualidade do solo, considerada um indicador da sustentabilidade dos sistemas de uso e manejo (ARSHAD; LOWERY; GROSSMAN, 1996; BALL; BATEY; MUNKHOLM, 2007). Ralish et al. (1991) e Neves et al. (2003) demonstraram a necessidade de conhecer minuciosamente a estrutura do solo no campo, com o propósito de avaliar o efeito das diferentes práticas agrícolas na morfologia do solo. Métodos para avaliar a estrutura do solo com base em medições de campo vêm sendo utilizados com diferentes designações: “perfil cultural” (HENIN et al., 1960; HENIN; GRAS; MONNIER, 1969; TAVARES FILHO et al., 1999); “perfil de cultivo” (SOARES e ESPINDOLA, 2001); “perfil de manejo” (PICCININ, 2005) ou, mais recentemente, “avaliação visual da estrutura do solo”, um novo método para avaliação de solos de clima temperado (BALL; BATEY; MUNKHOLM, 2007).

O “perfil cultural” é uma técnica de origem francesa, desenvolvida para solos de clima temperado, utilizada inicialmente como ferramenta pedagógica de ensino, passando posteriormente a ser utilizada como um método de caracterização do estado dos horizontes antropizados (HENIN et al., 1960; MANICHON, 1982; GAUTRONNEAU; MANICHON, 1987). Essa metodologia é realizada por meio da abertura de trincheiras e da observação da organização e da morfologia das estruturas do solo nas diferentes áreas do perfil. Entretanto, a

observação detalhada da organização estrutural do solo, conforme a proposta de Gautronneau e Manichon (1987), mostrou-se rigorosa demais para solos tropicais, dificultando a sua interpretação.

Tavares Filho et al. (1999) desenvolveram um método de diagnóstico adaptando a metodologia do “perfil cultural” ao estudo da evolução dos solos cultivados e dos diferentes sistemas de manejo em condições tropicais. Os autores buscaram a utilização de critérios mais abrangentes e simplificados, porém, mais descritivos na visualização da organização estrutural do solo, ressaltando mais o modo de organização do que o estado interno dos torrões.

O “perfil cultural” é uma metodologia qualitativa que permite fazer estudos do estado estrutural do solo direto a campo, principalmente com relação ao tipo de agregados (mais ou menos compactos) dentro de um mesmo volume de solo, levando-se em conta a heterogeneidade do meio físico a ser analisado (TAVARES FILHO et al., 1999). Trata-se de uma classificação em duas etapas: na primeira etapa, avalia-se o modo de organização do perfil diferenciando os volumes de solo visualmente alterados pelo manejo agrícola (AM= alterado pelo manejo) do visualmente não alterado pelo manejo agrícola (NAM= não alterado pelo manejo).

Posteriormente, são descritos cada tipo de volumes de solo afetados pelo manejo, com o máximo detalhamento. Na segunda e última etapa, descreve-se o estado interno dos torrões presentes nos diferentes volumes de solo, considerando a estrutura dos agregados, a porosidade, a estabilidade em água, a coesão a seco, as faces de ruptura e o enraizamento (TAVARES FILHO et al., 1999).

Essa metodologia permite uma visão diferenciada dos problemas agronômicos, particularmente na análise dos efeitos da exploração agrícola do solo. O “perfil cultural” é uma ferramenta importante no estudo da variação estrutural do solo podendo, também, auxiliar na escolha da técnica de amostragem, orientar no estudo das interações físicas, químicas e biológicas, que são afetadas pela porosidade e movimentação da água, em função de manejos e no desenvolvimento radicular (TAVARES FILHO et al. 1999; FREGONEZI et al., 2001; TAVARES FILHO et al., 2001; RALISCH et al., 2010).

Essas avaliações de campo ajudam agricultores e profissionais a decidirem sobre a melhor prática de manejo do solo, fornecendo resultados imediatamente interpretáveis sem a necessidade de uma grande quantidade de equipamentos ou metodologias complicadas e de alto custo.

Alguns trabalhos, além do enfoque qualitativo da metodologia têm procurado explorar os dados quantitativamente, oferecendo maiores possibilidades de utilização dos resultados obtidos (ROGER-ESTRADE et al., 2004; PEREIRA NETO e GUIMARÃES, 2005; PEREIRA NETO et al., 2007; RALISCH et al., 2008; RALISCH et al., 2010). A metodologia do “perfil cultural” também permite o estudo de interações químicas, físicas e biológicas, que são afetadas pela porosidade e movimentação da água, em função do manejo (TAVARES FILHO et al., 1999; BALL; BATEY; MUNKHOLM, 2007).

Trabalhos relatam a sensibilidade dos parâmetros microbiológicos às alterações provocadas pelos diferentes manejos do solo (BALOTA et al., 2003; 2004; FRANCHINI, et al., 2007; SILVA et al., 2010; BABUJIA et al., 2010). Dessa forma, conhecer minuciosamente a estrutura do solo a campo, através de sua caracterização morfoestrutural, é importante para avaliar o efeito das diferentes práticas agrícolas na estrutura do solo, bem como para relacionar essas alterações com as modificações sofridas pela microbiota do solo, principal agente de estabilização de agregados (FRANCHINI, et al., 2007; MORRIS et al., 2010; JIANG et al., 2011). A avaliação conjunta desses parâmetros pode fornecer informações precisas e adequadas sobre o efeito do manejo na qualidade do solo.

### 2.3 BIOMASSA MICROBIANA

A busca por práticas agrícolas que proporcionem altas produtividades, mas que também levem em consideração os diversos aspectos relativos à sustentabilidade ambiental não pode negligenciar o componente biológico do solo, pois os fatores que afetam negativamente os microrganismos podem promover perdas de matéria orgânica, causando deterioração do solo (MORRIS et al., 2010; LOPES et al., 2011; PLAZA et al., 2012). Nesse sentido, tem havido uma demanda crescente para a identificação de atributos que avaliem, precocemente e de modo eficaz, as alterações que ocorrem no solo, indicando os manejos adequados para preservar/melhorar sua qualidade e garantir a sustentabilidade dos agroecossistemas (TÓTOLA e CHAER, 2002; MORRIS et al., 2010; LÓPEZ-GUARRIDO et al., 2012).

As alterações no uso da terra têm ocasionado mudanças na dinâmica da matéria orgânica do solo, que pode ser definida como a fração

composta por materiais orgânicos nos mais variados graus de decomposição e por organismos vivos (SILVA e MENDONÇA, 2007). Ainda segundo esses autores, a fração da matéria orgânica sem vida corresponde, em média, a 98% do carbono orgânico total do solo, e é composta por frações orgânicas estabilizadas (húmus) e materiais orgânicos leves ou particulados. A matéria orgânica viva corresponde no máximo a 4% do carbono orgânico total e é representada pelo material orgânico associado às células de organismos vivos, que se encontra temporariamente imobilizado, mas que apresenta potencial de mineralização. Essa fração da matéria orgânica do solo pode ser, ainda, subdividida em três compartimentos: raízes (5 a 10%), fauna do solo (15 a 30%) e microrganismos (60 a 80%).

A fração orgânica do solo representa um sistema complexo, sendo sua dinâmica determinada pela incorporação de material vegetal e animal ao solo e pela transformação destes, por meio da ação de distintos grupos de microrganismos, de enzimas e da fauna do solo (MENDONÇA e LEITE, 2006). Os microrganismos do solo são considerados como um componente crítico de todos os ecossistemas naturais ou manipulados pelo homem, porque representam o agente regulador da taxa de decomposição da matéria orgânica e da ciclagem dos elementos atuando, portanto, como fonte e dreno dos nutrientes necessários ao crescimento das plantas (BARROS; GALLEGOS; FEIJÓO, 2007).

Dentre os indicadores do solo capazes de representar a população microbiana, a biomassa microbiana destaca-se principalmente devido a sua relação estreita com a matéria orgânica do solo (DE NOBILI; CONTIN; BROOKES, 2006; PLAZA et al., 2012). A biomassa microbiana pode ser definida como a parte viva mais ativa da matéria orgânica do solo, composta por todos os organismos menores do que  $5 \times 10^{-3} \mu\text{m}^3$ , como fungos, bactérias (incluindo actinomicetos), leveduras e microfauna, como os protozoários (SIQUEIRA e MOREIRA, 2002). Esta representa, em média, de 2 a 5% do C orgânico (JENKINSON e LADD, 1981) e de 1 à 5% do N total do solo (SMITH e PAUL, 1990).

Desde o primeiro estudo realizado por Jenkinson (1966), dezenas de trabalhos comprovaram que a análise da biomassa microbiana do solo pode fornecer informações relevantes sobre o funcionamento dos ecossistemas e sobre a qualidade do solo. Diversos trabalhos relatam a maior sensibilidade da biomassa microbiana em refletir rapidamente alterações provocadas pelo manejo do solo, que os parâmetros químicos e físicos (JENKINSON; POWLSON, 1976; WARDLE e

HUNGRIA, 1994; WARDLE, 1995; ROSCOE et al., 2006; BALOTA et al., 2003; FRANCHINI et al., 2007; BABUJIA et al., 2010; KASCHUK; ALBERTON; HUNGRIA et al., 2010; SILVA et al., 2010). Neste âmbito, a biomassa microbiana apresenta alto potencial de uso na avaliação e monitoramento da qualidade do solo.

Dentre os fatores limitantes à atividade dos microrganismos do solo, estão a disponibilidade de água, energia e nutrientes, temperatura, radiação e a distribuição dos agregados do solo (DE NOBILI; CONTIN; BROOKES, 2006; MORRIS et al., 2010; PLAZA et al., 2012). Esses fatores, por sua vez, podem ser modificados em função da deposição dos resíduos das culturas prévias e do grau de revolvimento do solo (VARGAS e SCHOLLES, 1998; LÓPEZ-FANDO e PARDO, 2011).

Sistemas de manejo com menor grau de revolvimento, aliados à rotação de culturas, fazem com que sejam biologicamente mais ativos e com maior potencial produtivo. Esse efeito se deve à conjunção de fatores, incluindo a, proteção do solo mediante cobertura viva ou morta, maior retenção de umidade, efeito rizosférico das culturas, maior disponibilidade de matéria orgânica, melhores condições químicas e físicas do solo e redução de ocorrência de temperaturas extremas (FRANCHINI et al., 2007; MORRIS et al., 2010; LÓPEZ-FANDO e PARDO et al., 2011).

A estimativa da biomassa de microrganismos através dos nutrientes contidos nas células (carbono e nitrogênio) fornece dados úteis sobre mudanças nas propriedades biológicas do solo, decorrentes de práticas agrícolas (POWLSON et al., 1987; WANG et al., 2011). Cada vez mais se dá maior importância à microbiota do solo, particularmente pela constatação de existência de relações estreitas entre a biomassa microbiana e parâmetros relevantes, como a produtividade das plantas, a taxa de amonificação, a taxa de decomposição de resíduos vegetais e a biomassa dos níveis tróficos superiores (WARDLE e HUNGRIA, 1994; FRANCHINI et al., 2007; SOUZA et al., 2008a; SOUZA et al., 2008b). A microbiota também desempenha papel importante na formação e manutenção da estrutura do solo, sendo que o carbono da biomassa microbiana apresenta forte correlação com a estabilidade de agregados (ROBERTSON; SARIG; FIRESTONE, 1991; FRANCHINI et al., 2007; WRIGHT; GREEN; CAVIGELLI, 2007). Correlações significativas entre indicadores microbiológicos, como o carbono e nitrogênio da biomassa microbiana e

a produtividade das culturas também têm sido observadas (HUNGRIA et al., 2009; SILVA et al., 2010).

O efeito dos sistemas de manejo sobre a biomassa microbiana, porém, não se restringe a aspectos quantitativos, como as alterações na biomassa. A composição da comunidade microbiana também pode ser alterada, pois os grupos microbianos podem ser afetados diferentemente pelas práticas de manejo do solo e das culturas (CALDERÓN et al., 2001; FRANCHINI et al., 2007; MORRIS et al., 2010; PLAZA et al., 2012). Apesar do crescente interesse em aspectos relacionados com o funcionamento biológico do solo sob sistemas naturais e agrícolas, estudos precisam ser conduzidos, com o objetivo de verificar a dinâmica da população microbiana sob diferentes práticas agrícolas.

#### 2.4 DIVERSIDADE MICROBIANA

Os microrganismos representam a forma de vida mais abundante e diversificada do planeta (WITHMAN; COLEMAN; WIEBE, 1998). A comunidade microbiana dos solos é constituída por representantes dos três domínios: *Bacteria*, *Archaea* e *Eucarya*, sendo que os procariotos (domínios *Bacteria* e *Archaea*) representam a maior parte dessa biota. A biodiversidade de um ecossistema é definida a partir de dois componentes: o número total de espécies presentes e a distribuição dos indivíduos entre as espécies (KENNEDY e SMITH, 1995).

Em virtude da sua longa história evolutiva e da necessidade de adaptação aos mais distintos ambientes, os microrganismos acumularam uma impressionante diversidade genética, que excede, em muito, a diversidade dos organismos superiores (HUNTER-CEVERA, 1998; WARD, 1998). A diversidade é um conceito importante em ecologia, amplamente utilizado no monitoramento e para a preservação de espécies no ambiente. Sendo assim, os microrganismos representam um reservatório de diversidade genética e funcional, responsável por processos ecológicos, como os ciclos biogeoquímicos e a cadeia trófica (HUNTER-CEVERA, 1998). Desta forma, o índice de diversidade pode ser utilizado como parâmetro sensível para avaliar o estresse do ambiente sobre a microbiota.

A densidade dos diferentes grupos de microrganismos varia em função de características edáficas e climáticas específicas de cada ambiente. Em um agroecossistema, as variações da diversidade microbiana estão diretamente

ligadas ao regime hídrico e ao clima da região, à estrutura e ao manejo do solo, e ao teor e à qualidade dos resíduos vegetais (TIEDJE et al., 2001; LOPES et al., 2011). Um solo com teor elevado de matéria orgânica tende a manter a população microbiana mais estável ao longo do ano, provavelmente em decorrência da riqueza de nichos ecológicos, pela heterogeneidade das fontes de carbono (DE FEDE; PANACCIONE; SEXTONE, 2001; GRAYSTON et al., 2001). Os resíduos orgânicos de origem vegetal representam a principal fonte de matéria orgânica para o solo, e a microbiota do solo é a principal responsável por sua decomposição, influenciando tanto na cinética da transformação da matéria orgânica e formação de húmus, quanto na estocagem de carbono (C) e nutrientes (MATSUOKA; MENDES; LOUREIRO, 2003).

Com os avanços obtidos nas técnicas de biologia molecular, novos métodos foram descritos para a avaliação da estrutura das comunidades microbianas. Técnicas moleculares, baseadas na análise do DNA de microrganismos retiradas diretamente dos ambientes naturais, sem a necessidade de multiplicação prévia das células, têm contribuído para o avanço nos estudos de ecologia microbiana. Em geral, esses métodos envolvem a extração dos ácidos nucleicos totais do solo e a análise dos genes 16S rRNA de bactérias e 18S rRNA de fungos (ROSADO et al., 1997).

Dentre as metodologias para a avaliação da diversidade microbiana do solo, a PCR-DGGE (*Polymerase Chain Reaction-Denaturing Gradient Gel Electrophoresis*) tem sido utilizada na avaliação da composição bacteriana e fúngica do solo, sendo capaz de separar fragmentos de DNA de mesmo tamanho, mas com sequências de bases nucleotídicas diferentes, de acordo com o seu teor de CG (MUYZER; DE WAAL; ULTERRLINDEN, 1993). De acordo com o teor de CG presente nos genes ocorre a formação de diferentes padrões de bandas, característicos de cada comunidade. Essa metodologia vem sendo utilizada no estudo da estrutura genética de grupos funcionais, na distribuição espacial da população microbiana no solo, em estudos de impacto ambiental e de diferentes manejos do solo e das culturas na comunidade do solo (DUARTE et al., 2001; HEUER et al., 2002; HUNGRIA; CAMPO; MENDES, 2003; GIL et al., 2011; LOPES et al., 2011; SILVA et al., 2012).

A relação entre diversidade microbiana e qualidade do solo tem sido muito discutida, mas ainda não foi completamente estabelecida. O tempo necessário

para o ecossistema retornar ao seu estado inicial, após um distúrbio qualquer, define a resiliência do sistema, ou seja, quanto maior esse tempo, menor a resiliência. A diversidade das comunidades microbianas do solo pode estar relacionada com sua resiliência, já que a perda de diversidade pode resultar em diminuição de funções bioquímicas e, conseqüentemente, redução da diversidade metabólica (REBER, 1992). Já outros autores relatam que a perda de diversidade genética não necessariamente tem como consequência a inibição de função de processos bioquímicos do solo, uma vez que a perda de uma determinada espécie pode ser compensada pela presença de outra, desempenhando a mesma função no sistema (KENNEDY, 2003; SETALA e McLEAN, 2004).

Zilli et al. (2003) discutem que a biomassa microbiana, por exemplo, fornece apenas uma estimativa quantitativa da diversidade de microrganismos, não considerando aspectos qualitativos como a composição e estrutura das comunidades microbianas. O acesso a informações sobre a diversidade microbiana desses solos poderia ainda esclarecer, por exemplo, se a perda de biomassa microbiana reflete em perda de diversidade genética ou funcional.

Sabendo-se que os microrganismos são parte integrante da qualidade do solo, um melhor entendimento da dinâmica e estrutura das comunidades microbianas é necessário. Metodologias que possibilitem o estudo da diversidade microbiana, como por exemplo, o PCR- DGGE podem indicar diferenças entre solos, tanto com respeito as suas populações, como suas funções. Sendo assim, acredita-se que a diversidade biológica pode ser utilizada para refletir a qualidade de um ecossistema.

### 3 ARTIGO A: ALTERAÇÕES NA ESTRUTURA E BIOMASSA MICROBIANA DO SOLO EM FUNÇÃO DE DIFERENTES SISTEMAS DE MANEJO DO SOLO E DAS CULTURAS

#### 3.1 RESUMO:

Os manejos do solo e das culturas desempenham papel fundamental na manutenção e melhoria da qualidade do solo, por atuarem diretamente sobre a sua estrutura e, como consequência, no hábitat da microbiota. O objetivo deste trabalho foi quantificar e qualificar as unidades morfológicamente homogêneas (UMHs) de um Latossolo Vermelho distroférico, com 22 anos sob plantio direto (PD), plantio direto escarificado (PDE) e plantio convencional (PC), em rotação e sucessão de culturas. O carbono e o nitrogênio da biomassa microbiana (CBM e NBM) foram quantificados nas UMHs a fim de relacionar as alterações da estrutura do solo com modificações no conteúdo da biomassa microbiana. Adicionalmente, o CBM, o NBM, o nitrogênio total (NT), o carbono orgânico total (COT) e o pH foram quantificados em amostras de solo coletadas nas camadas de 0-10, 10-20, 20-30 e 30-40 cm de profundidade. De modo geral, os perfis de PD e PDE apresentaram em superfície (0-10 cm) uma UMH contínua e coesa, com maior porosidade, e abaixo dessa camada uma maior área dessa mesma UMH, porém, com menor porosidade. O PC apresentou na camada superficial UMH livre, composta por pequenos e médios torrões, e abaixo dessa estrutura, UMHs fissuradas e contínuas com aspecto compacto e de menor porosidade. Os manejos de solo com rotação de culturas apresentaram UMHs menos compactas, cujas raízes apresentaram menores deformações morfológicas que na sucessão. Teores superiores de CBM e NBM foram encontrados no PD e PDE, nas UMHs menos compactas, em relação ao PC. Teores superiores de CBM e NBM também foram encontrados em profundidade no PD e PDE, em comparação ao PC, confirmando os resultados obtidos com as UMHs. Em média, o PD e o PDE apresentaram teores superiores de CBM em 22 e 20%, respectivamente, em comparação com o PC. O NBM foi o parâmetro mais afetado pelo manejo, tanto nas UMHs, como nas profundidades avaliadas. Em média, o PD e o PDE apresentaram teores 51% superiores de NBM, em comparação ao PC. Não foram observadas diferenças nos valores de pH entre os tratamentos, o que pode ser atribuído a calagem. O COT foi, em média, 33% superior no PD e PDE, em comparação ao PC. Assim como o NBM, o NT também se mostrou sensível ao manejo do solo, apresentando em média, teores 55% e 54% superiores no PD e PDE, em comparação ao PC, respectivamente, demonstrando que o revolvimento do solo, ao expor a matéria orgânica dos agregados, facilita sua oxidação e a mineralização do nitrogênio, o que pode limitar o desenvolvimento e rendimento das culturas.

**Palavras-chave:** Plantio direto. Perfil cultural. Preparo do solo. Microbiota do solo. Carbono orgânico. Nitrogênio total.

## CHANGES IN STRUCTURE AND MICROBIAL BIOMASS SOIL FOR EACH OF DIFFERENT SYSTEMS MANAGEMENT SOIL AND CROP SYSTEMS

### ABSTRACT

Soil and crop management play a fundamental role in maintaining and improving soil quality by acting directly on its structure and, as a consequence, on the of habitat for the microbiota. The aim of this study was to quantify and qualify the units morphologically homogeneous (UMHs) an Oxisol with 22 years under tillage (NT), no-till with field cultivator (FC) and conventional tillage (CT) in crop rotation and succession. The microbial biomass of carbon and nitrogen (MBC and MBN) were quantified in the UMHs in order to relate changes in soil structure with changes in the content of the microbial biomass. Additionally, MBC, MBN, total nitrogen (TN), total organic carbon (TOC) and pH were evaluated in soil samples collected from 0-10, 10-20, 20-30 and 30-40 cm depth. In general, the profiles of NT and FC showed at surface one UMH continuous and cohesive, with higher porosity, and beneath that layer a larger area of the same UMH, but with lower porosity. The CT presented an UMH free surface layer, composed of small and medium clods, and below this structure, UMHs fissured and continuous with compact appearance and lower porosity. The soil management with crop rotation showed UMHs less compact, whose roots had lower morphological deformations in succession. Higher contents of MBC and MBN were found in NT and FC in UMHs less compact, compared to the CT. Higher levels of MBC and MBN were also found at depth in NT and FC compared to CT, confirming the results obtained with the UMHs. On average, the NT and FC showed higher contents of MBC of 22 and 20%, respectively, compared with CT. The MBN was the parameter most affected by management, both in UMHs and depths evaluated. On average, the NT and FC concentrations of MBN were 51% higher compared to the CT. There were no differences in the pH values between treatments, what could be attributed to liming. The TOC was on average 33% in NT and FC, in comparison to the CT. Like the MBN, the TN was also sensitive to soil management, with an average of 55 and 54% higher in NT and FC, in comparison to the CT, respectively, showing that soil disturbance by exposing organic matter aggregates facilitates its oxidation and nitrogen mineralization, which may limit the development and crop yield.

**Key-words:** No-tillage. Cultural profile. Soil management Soil microbes. Organic carbon. Total nitrogen.

### 3.2 INTRODUÇÃO

O grande desafio da agricultura moderna está na busca por um manejo adequado do solo, que contribua para a sustentabilidade econômica e ambiental dos sistemas de produção. O sistema plantio direto (PD), caracterizado pela ausência de revolvimento do solo, promove menor impacto na sua estrutura e

tem sido apontado como uma alternativa para o manejo sustentável dos solos. Desde a sua implantação no Brasil, na década de 1970, trabalhos demonstram as vantagens da adoção do PD, em comparação a sistemas com maior revolvimento do solo. Dentre os benefícios do PD estão o controle da erosão eólica e hídrica (BARTHÈS e ROOSE, 2002; FRANZLUEBBERS, 2002; BATEY, 2009), melhora as condições de umidade do solo (FRANZLUEBBERS, 2002; BATEY, 2009; JIN et al., 2011) e aumento do conteúdo de carbono orgânico (BABUJIA et al., 2010; JIN et al., 2011; LÓPEZ- FANDO e PARDO, 2011).

Adicionalmente, estudos apontam que o PD tem contribuído para a redução na emissão de dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) (BALL; SCOTT; PARKER, 1999; BAYER et al., 2002; DRURY et al., 2004). Em 2010, o governo brasileiro instituiu o Programa de Agricultura de Baixo Consumo de Carbono (ABC), que visa ampliar os atuais 26 milhões de hectares de PD para 33 milhões de hectares, com o objetivo de reduzir a emissão em cerca de 20 milhões de toneladas de CO<sub>2</sub> até 2020 (MAPA, 2012). Esse conjunto de fatores tem contribuído para a adoção do sistema de PD, praticado globalmente, em aproximadamente 100 milhões de hectares (FEBRAPDP, 2012).

O tipo de preparo do solo é a atividade que mais influi no comportamento físico do solo, por atuar diretamente sobre a sua estrutura (RALISCH et al., 2010). Os sistemas de cultivo com rotação ou sucessão de culturas também alteram as propriedades físicas do solo, com efeitos principalmente sobre a estabilidade de agregados (MUNKHOLM; HECK; DEEN, 2012).

Avaliar quantitativa e qualitativamente a estrutura do solo a campo, visando verificar o efeito do uso e manejo na morfologia do solo é uma atividade desafiadora, e a metodologia francesa denominada de perfil cultural (GAUTRONNEAU e MANICHON, 1987), modificada por Tavares Filho et al. (1999) para as condições tropicais, tem-se mostrado promissora. Essa metodologia identifica os volumes de solo alterados pela intervenção de implementos agrícolas, pelo comportamento das raízes e pela influência dos fatores naturais, permitindo, assim, uma visão diferenciada dos efeitos da exploração agrícola na conservação e qualidade do solo. Segundo Tamia et al. (1999), os diferentes volumes de solo alterados pelo uso e manejo do solo são denominados de Unidades Morfológicamente Homogêneas (UMHs).

Alterações na estrutura do solo afetam diretamente o hábitat dos microrganismos, que são considerados componentes críticos de ecossistemas naturais ou manipulados pelo homem, por regular a taxa de decomposição da matéria orgânica e a ciclagem de nutrientes (BARROS; GALLEGO; FEIJÓO, 2007). Dentre os parâmetros microbiológicos, a biomassa microbiana tem sido utilizada como um indicador sensível de alterações provocadas pelo manejo do solo e das culturas nos trópicos (FRANCHINI et al., 2007; HUNGRIA et al., 2009; BABUJIA, et al., 2010; SILVA et al., 2010). Adicionalmente, correlações positivas entre a biomassa microbiana e a produtividade de culturas têm sido observadas (HUNGRIA et al., 2009; SILVA et al., 2010).

A hipótese levantada neste trabalho é de que as alterações morfológicas observadas na estrutura do solo podem ser relacionadas com as modificações na biomassa microbiana, validando a metodologia do perfil cultural como uma ferramenta capaz de fornecer um indicativo sobre os microrganismos do solo, para as diferentes UMHS encontradas no perfil do solo. Geralmente, as coletas de solo para avaliação da biomassa microbiana são realizadas até 30 cm de profundidade (BAKER et al., 2007), e não consideram possíveis alterações na estrutura do solo ao longo do perfil, o que pode não representar a real condição do solo.

O objetivo deste trabalho foi quantificar o CBM e o NBM nas UMHS de um Latossolo Vermelho distroférico, com 22 anos sob plantio direto (PD), plantio direto escarificado a cada três anos (PDE) e plantio convencional com rotação (R) e sucessão (S) de culturas, a fim de relacionar as alterações da estrutura do solo com as modificações no conteúdo da biomassa microbiana. Adicionalmente, os parâmetros nitrogênio total (NT), carbono orgânico total (COT) e o pH também foram quantificados em amostras coletadas por profundidade.

### 3.3 MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.3.1 Caracterização da Área Experimental

O experimento foi estabelecido no verão de 1988/89, na área experimental do Centro Nacional de Pesquisa de soja - Embrapa, localizado a 620 metros de altitude, em Londrina (23°11' S, 51°11' W), estado do Paraná, Brasil.

De acordo com a classificação de Köeppen o clima é subtropical úmido do tipo Cfa (clima temperado úmido com verão quente), com temperatura média anual de 21°C, temperatura média máxima de 28,5°C em fevereiro e média mínima de 13,3°C em julho. A precipitação média anual é de 1651 mm, sendo o mês mais chuvoso janeiro (217 mm) e o mês mais seco agosto (60 mm). O relevo é classificado como suave ondulado com vertentes longas e ligeiramente convexas de 6% de declive (EMBRAPA, 1988). Segundo a classificação brasileira o solo é um Latossolo Vermelho distroférico, muito argiloso, e de acordo com a classificação americana um Rhodic Eutradox, contendo 710 g de argila, 82 g de silte e 208 g de areia por kg<sup>-1</sup> de solo.

Antes da instalação do experimento a área foi cultivada por cerca de 40 anos com a cultura do café (*Coffea arabica* L.). A área experimental consistiu de parcelas com 7,5 m de largura por 30,0 m de comprimento (225 m<sup>2</sup>), com quatro repetições (quatro parcelas) por tratamento, distribuídas com delineamento experimental em blocos ao acaso em esquema fatorial. A abertura dos perfis e a amostragem do solo foram realizadas em abril de 2010, após a colheita do milho e soja nas parcelas em rotação e sucessão, respectivamente, na safra de verão 2009/2010, quando o experimento estava com 22 anos de implantação.

O estudo comparou o efeito de três sistemas de preparo do solo: plantio direto (PD), onde a semeadura é realizada sobre o resíduo da cultura anterior, sendo a intervenção mecânica restrita à abertura de uma estreita linha de semeadura (~4 cm de profundidade); plantio direto escarificado a cada três anos (PDE), que se diferenciou do PD pelo fato de a cada três anos, antes da instalação da cultura de inverno, o solo ser submetido a uma intervenção mecânica com a passagem de um escarificador equipado com cinco hastes (~25 cm de profundidade), com o objetivo de romper a camada superficial mais compacta, não sendo adotadas operações de nivelamento do solo; e, plantio convencional (PC), onde o solo é preparado anualmente com a passagem de arado de discos (~20 a 25 cm), seguido de grade niveladora (~15 cm) precedendo as culturas de verão e, no inverno, com grade pesada (~15 cm), seguida de grade leve (~15 cm). A última passagem do escarificador na área de PD com intervenção mecânica (PDE) foi realizada três anos antes do período de avaliação, logo após a safra de verão 2006/2007, sendo a sexta operação realizada na área desde a instalação do experimento.

Adicionalmente, cada sistema de preparo do solo foi submetido ao efeito de cultivos em rotação e sucessão de culturas. No total foram avaliados seis sistemas de manejos: PD (rotação e sucessão), PDE (rotação e sucessão) e PC (rotação e sucessão). A rotação nos últimos treze anos de experimento alternou culturas de inverno e verão, respectivamente, cuja sequência consistiu de tremoço (*Lupinus albus*)/ milho (*Zea mays*)/ aveia preta (*Avena strigosa*)/ soja (*Glycine max*)/ trigo (*Triticum aestivum*)/ soja/ trigo/ soja, sendo que ao fim dessa sequência, a cada três anos, a rotação se iniciava novamente com o tremoço. Já a sucessão de culturas consistiu da semeadura de soja no verão e trigo no inverno.

No início do experimento o solo recebeu 2 toneladas de calcário  $\text{ha}^{-1}$  para atingir a saturação de bases de 60% e ajustar o pH para, aproximadamente, 5,5, sendo a manutenção realizada a cada três anos. Quantidades semelhantes de fertilizantes foram aplicadas em todos os tratamentos. Ao longo dos 22 anos do experimento, para a cultura da soja foram adicionados em média ao solo 47 kg de P  $\text{ha}^{-1}$  (superfosfato triplo) e 41,2 kg de K  $\text{ha}^{-1}$  (cloreto de potássio), não sendo realizada adubação nitrogenada. As sementes de soja foram inoculadas com *Bradyrhizobium japonicum* e *B. elkanii* antes de cada semeadura. Após 10 anos de cultivo da soja, começaram a ser adicionados ao solo 20 g de Mo  $\text{ha}^{-1}$  (molibdato de sódio) e 2 g de Co  $\text{ha}^{-1}$  (cloreto de cobalto) por ano. Para a cultura do milho foram adicionados ao solo, em média, 19,2 kg de N  $\text{ha}^{-1}$  (ureia), 51,5 kg de P  $\text{ha}^{-1}$  (superfosfato triplo) e 47,0 kg de K  $\text{ha}^{-1}$  (cloreto de potássio) anualmente. Outros macros e micronutrientes foram aplicados quando verificada a necessidade, pela análise foliar da safra anterior e pela análise de solo antes da semeadura.

Durante os 22 anos do experimento o controle de insetos e doenças foi realizado com a utilização de inseticidas químicos e biológicos, bem como, com o uso de fungicidas, quando verificada a necessidade para todos os tratamentos. Os resíduos de culturas anteriores foram dessecados com o uso de glifosato em todos os tratamentos. Após a semeadura, outros herbicidas foram aplicados no PC quando verificada a necessidade, segundo a análise de infestação e a recomendação de eficácia dos herbicidas para as plantas daninhas predominantes.

### 3.3.2 Amostragem de Solo

As amostras de solo para avaliação da biomassa microbiana e análise química foram coletadas no perfil cultural e, em pequenas trincheiras de 30 cm de comprimento x 40 cm de largura e 50 cm de profundidade abertas nas entrelinhas de cultivo em quatro profundidades 0-10, 10-20, 20-30 e 30-40 cm, com quatro repetições por tratamento. As amostras de solo foram coletadas com o auxílio de uma espátula nos quatro lados da trincheira. As subamostras de cada profundidade foram agrupadas, dando origem a uma amostra composta de cerca de 1,5 kg de solo.

Para a análise da biomassa microbiana no perfil cultural, as amostras foram coletadas em dois pontos médios e opostos dentro dos volumes de solo alterados pelo manejo (unidades morfologicamente homogêneas- UMHs) formando uma amostra com cerca de 1,2 kg de solo. No laboratório, todas as amostras de solo foram homogeneizadas, peneiradas (<4 mm, 5 mesh) e armazenadas em sacos plásticos em refrigerador a 4°C por, no máximo, 10 dias, para a avaliação microbiológica.

### 3.3.3 Perfil Cultural

Em cada tratamento foram abertas duas trincheiras no centro das parcelas, de 1,0 m de comprimento x 1,0 m de largura x 1,0 m de profundidade, perpendicular ao sentido de trabalho do solo pelos implementos, visando à observação de alterações na estrutura do solo. Para essa avaliação foi utilizado o método do perfil cultural, conforme descrito por Tavares Filho et al. (1999). A metodologia do perfil cultural classifica as UMHs em dois níveis: (1) modo de organização dos torrões no perfil do solo (C- contínuo; F- fissurado; L- livre e Z- laminar) e, (2) estado interno dos torrões ( $\mu$ - não compacto;  $\Delta$ - compacto e  $\mu\Delta/\Delta\mu$ -  $\pm$  compacto).

Para uma descrição mais detalhada do estado interno dos torrões adotou-se para o trabalho a seguinte escala de classificação:  $\mu\Delta$ - poroso com indícios de compactação;  $\mu\Delta/\Delta\mu$ - porosidade intermediária;  $\Delta\mu$ - compacto com presença de alguma porosidade;  $\Delta$ - compacto sem porosidade visível a olho nú.

Para cada perfil de solo foram confeccionados mapas em escala 1:10 e, importados para o software ArcView versão 10.0, para serem georreferenciados. Posteriormente, foram confeccionados outros três mapas para cada um dos perfis, o primeiro com o perímetro do perfil, que serviu como molde para que os outros dois mapas tivessem exatamente o mesmo tamanho, o segundo com as UMHs e o terceiro com as profundidades. Um quarto mapa foi obtido, depois de realizada a sobreposição dos três mapas, obtendo-se um mapa com as áreas de cada UMH por profundidade do perfil. As áreas foram calculadas para cada mapa em  $\text{cm}^2$  (PEREIRA NETO et al., 2007).

#### 3.3.4 Análise Química do Solo

As amostras de solo destinadas à análise química foram secas em estufa ventilada a  $60^\circ\text{C}$  por 48 h, desagregadas e peneiradas em malha de 2 mm. O pH do solo foi determinado em  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  0,01 M (8 g de solo em 20 mL de  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) conforme protocolo da EMBRAPA (1979). O carbono orgânico do solo (COS) e o nitrogênio total do solo (NT) foram determinados por combustão no FLASH 200 NC Analyzer (Thermo Scientific).

#### 3.3.5 Avaliação da Biomassa Microbiana

Utilizou-se o método de fumigação-extração modificado de Vance; Brookes; Jenkinson, (1987) para a análise do carbono da biomassa microbiana (CBM), e o método proposto por Brookes et al. (1985) para análise do nitrogênio da biomassa microbiana (NBM), adaptado conforme descrito em Babujia et al. (2010).

As análises foram realizadas em solo úmido com a capacidade de campo previamente ajustada para 40%. Quatro repetições de cada tratamento foram usadas para análise do CBM e NBM. Pesaram-se 20 g de solo para amostras não fumigadas e fumigadas. Para a determinação da umidade foram pesados 10 g de solo e colocados em estufa por um período de 16 h a  $105^\circ\text{C}$ . As amostras fumigadas foram colocadas dentro de uma caixa de vácuo contendo 50 mL de clorofórmio em cada vértice do interior da caixa, onde permaneceram por 16 h. Assim, como as amostras fumigadas, as amostras não fumigadas permaneceram na ausência de luz

por 16 h. Após esse período, as amostras foram submetidas a vácuo por três vezes para eliminação do clorofórmio e suspensas em 50 mL da solução extratora ( $K_2SO_4$  0,5 M).

As concentrações de CBM nos extratos foram determinadas através de oxidação com  $Mn^{3+}$  e, estimada colorimetricamente no comprimento de onda de 495 nm segundo Bartlett e Ross (1988). O teor de CBM nos extratos foi calculado pela diferença entre as amostras fumigadas e não fumigadas, utilizando fator de correção ( $K_{CE}$ ) de 0,41 como recomendado para solos tropicais (FEIGL et al., 1995; OLIVEIRA; MENDES; VIVALDI, 2001).

As concentrações de NBM foram determinadas pela adição de 0,5 g de catalisador  $CuSO_4 : K_2SO_4$  (10:1) e 1,5 mL de  $H_2SO_4$  concentrado em 20 mL de extrato. As amostras permaneceram em estufa a  $105^\circ C$  por 16 h para redução do volume, e foram digeridas por um período de aproximadamente 3 h a  $350^\circ C$ . Após a digestão, o resíduo foi diluído com água destilada e o nitrogênio (N) determinado colorimetricamente no comprimento de onda de 630 nm, usando o método do azul de indofenol (FEIJE e ANGER, 1972). O teor de NBM nos extratos foi calculado pela diferença entre as amostras fumigadas e não fumigadas, utilizando fator de correção ( $K_{NE}$ ) de 0,54 (BROOKES et al., 1985). Os valores de biomassa microbiana obtidos foram expressos em mg de CBM ou mg de NBM por  $kg^{-1}$  de solo seco.

### 3.3.6 Análise Estatística

Os dados químicos e microbiológicos foram analisados pelo programa SAS (Statistical Analysis System) versão 8.2 (SAS Institute, 2001). Os requisitos necessários para a análise de variância (ANOVA) foram verificados. A normalidade do erro foi avaliada de acordo com Shapiro e Wilk (1965), a variância da homogeneidade de acordo com Burr e Foster (1972), e o teste de não aditividade (TUKEY, 1949). Antes de serem submetidos à análise de variância, os dados foram submetidos aos testes de normalidade das variáveis e de homogeneidade de variâncias. Quando confirmado um valor  $P$  estatisticamente significativo, o teste post hoc foi aplicado e, o teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ) foi utilizado na comparação de médias, considerando um delineamento em blocos ao acaso, em esquema fatorial, com três

sistemas de manejo de solo e dois sistemas de manejo de culturas, com quatro repetições.

Para a análise dos perfis culturais, empregou-se a análise de correspondência retificada (DCA, Detrendend Correspondence Analysis) para verificação da linearidade dos dados e, posteriormente, a Análise de Componentes Principais (ACP). A ACP foi realizada com o propósito de observar as relações existentes entre os sistemas de uso e manejo do solo nas características estruturais dos perfis, bem como, no carbono e nitrogênio da biomassa microbiana. A análise multivariada foi feita pelo programa Canoco for Windows 4.5 (BRAAK e SMILAUER, 1998).

### 3.4 RESULTADOS

#### 3.4.1 Descrição dos Perfis de Solo

As Figuras 3.1a, 3.1b e 3.1c mostram a representação gráfica dos perfis culturais, sendo possível observar alterações na estrutura do solo nos diferentes tratamentos avaliados. Essas alterações morfológicas tiveram como fator determinante o grau de intervenção mecânica sofrido pelo solo durante as operações de preparo, isto é, quanto maior o grau de revolvimento provocado no solo maior foi o aparecimento de volumes de solo compactos no perfil do solo.

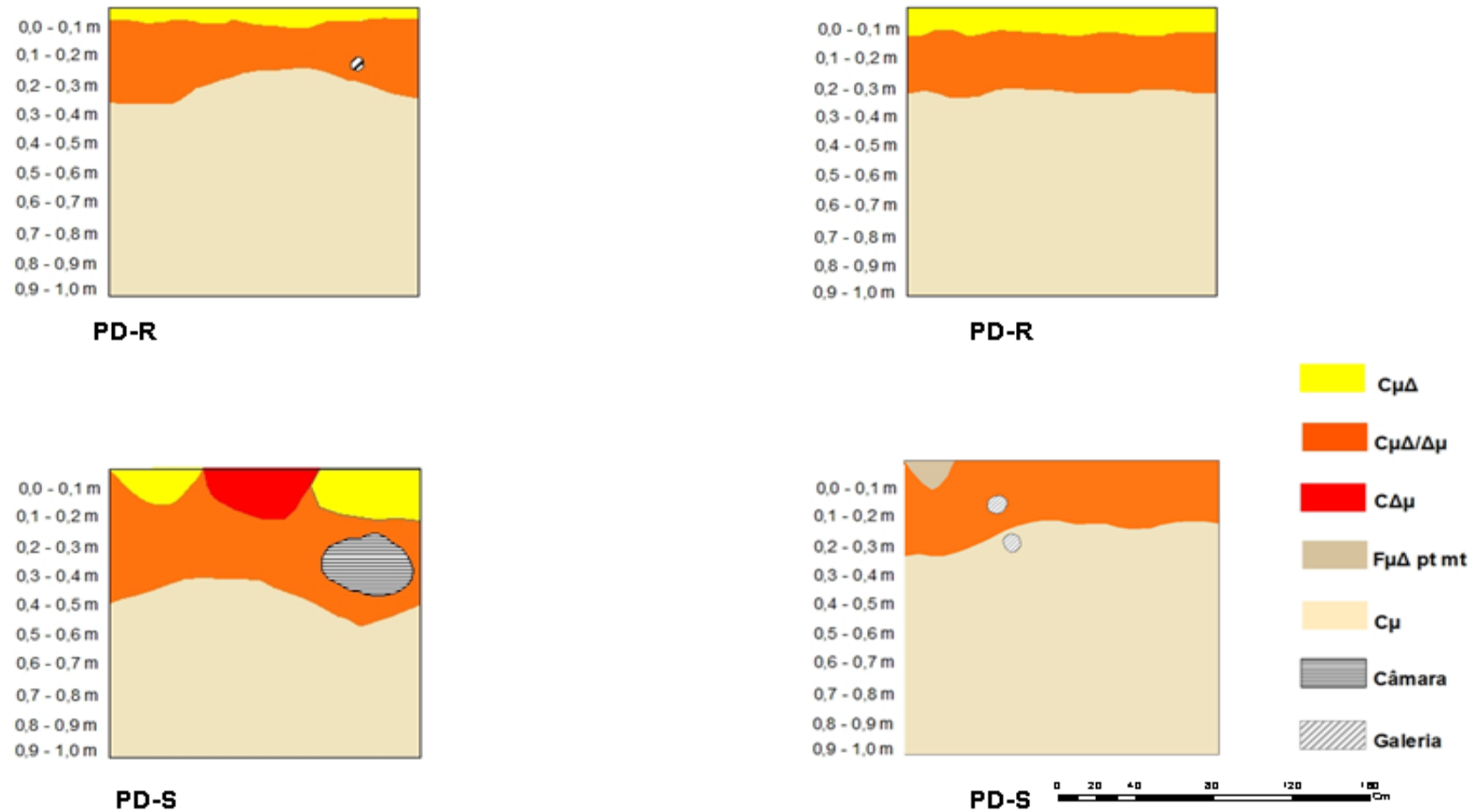
De modo geral, a camada superficial do solo em todas as parcelas se encontrava com resíduos das culturas recém-colhidas, de milho e soja, respectivamente, nos tratamentos em rotação e sucessão. Além dos resíduos culturais, foi observado em todos os tratamentos a presença de plantas daninhas como trapoeraba (*Commelina erecta*), picão-preto (*Bidens pilosa*), erva-de -Santa Luzia (*Chamaesyce hirta*), capim-amargoso (*Digitaria insularis*), capituva (*Echinochloa crusgalli*), capim pé-de-galinha (*Eleusine indica*), capim-brachiaria (*Brachiaria decumbens*), apaga-fogo (*Alternanthera tenella*) e capim-arroz (*Echinochloa colonum*), bem como rebrota de milho e soja, que também contribuíram para a cobertura do solo.

Outro fator relevante observado nos perfis foi a presença abundante de macrofauna constituída principalmente por minhocas, corós, piolhos-de-cobra, cupins e formigas. A atividade biológica foi intensa tanto em superfície, com um

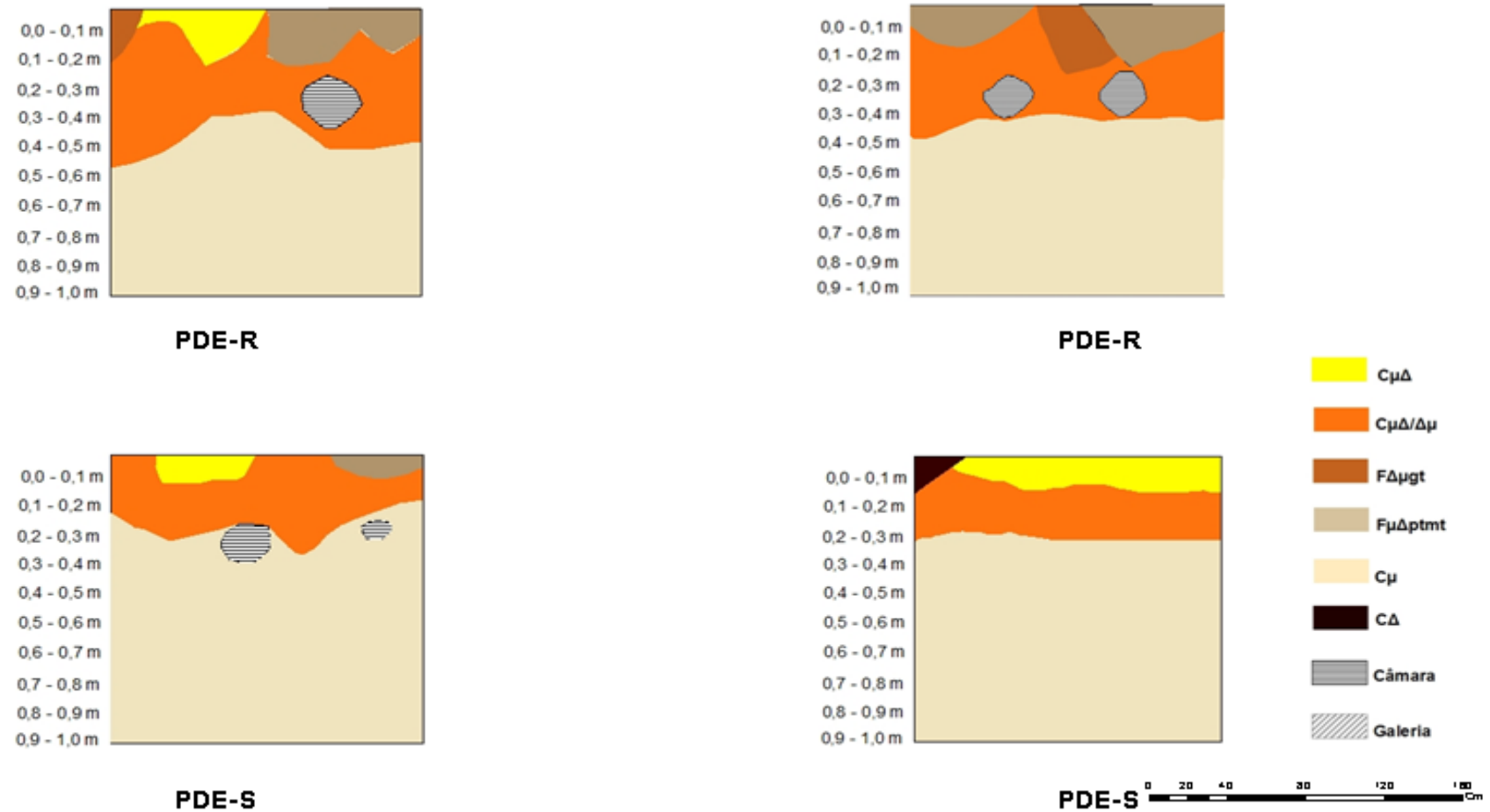
grande número de orifícios (1,0 a 2,0 cm de diâmetro), como no perfil, pela presença de orifícios, galerias (3 a 10 cm Ø) e câmaras (> 10 cm Ø) (Figuras 3.1a, 3.1b e 3.1c).

Os perfis de PD em rotação de culturas apresentaram UMHs contínuas, com aspecto homogêneo e coeso, sem fissuras, de rugosidade média, porosas, com indício de compactação, correspondente à estrutura  $C_{\mu}\Delta$  (Figura 3.1a). As raízes nesse volume de solo se encontravam bem ramificadas, com aspecto retilíneo, sem tortuosidade e orientadas verticalmente no perfil. Abaixo dessa camada ocorreu uma UMH contínua e sem fissuras, de rugosidade e porosidade médias, correspondente à estrutura  $C_{\mu}\Delta/\Delta\mu$  (Figura 3.1a), com raízes bem ramificadas, porém, ligeiramente achatadas e orientadas verticalmente no perfil. Em todos os perfis, as UMHs não alteradas pelo uso e manejo do solo foram representadas pela estrutura  $C_{\mu}$ , correspondente a estrutura microagregada Bw dos latossolos (Figura 3.1a, 3.1b e 3.1c).

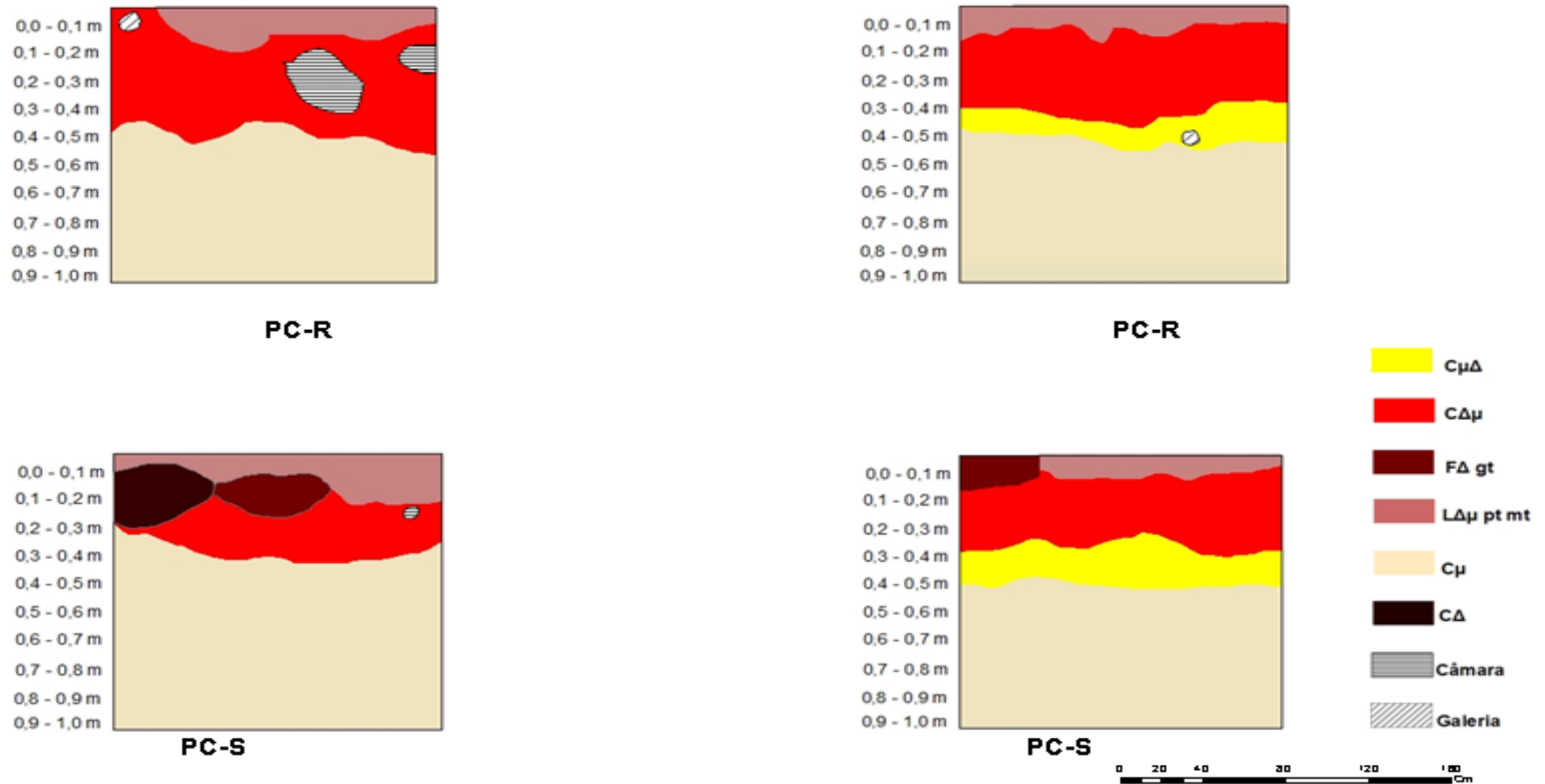
**Figura 3.1ª** – Perfis culturais de um Latossolo Vermelho distroférico após 22 anos sob plantio direto (PD) em rotação (R) e sucessão (S) de culturas. Modo de organização dos torrões: C, volume de solo contínuo; F, volume de solo fissurado; pt, pequenos torrões; mt, médios torrões; Estado interno dos torrões:  $\mu$ , poroso;  $\mu\Delta$ , poroso com indícios de compactação;  $\mu\Delta/\Delta\mu$ , porosidade intermediária;  $\Delta\mu$ , compacto com presença de alguma porosidade;  $\Delta$ , compacto sem porosidade visível a olho nú; Estrutura resultante da atividade da macrofauna: G, galeria (3 a 10 cm  $\emptyset$ ); C, câmara (> 10 cm  $\emptyset$ ); Rotação: trevoço/milho/aveia preta/soja/trigo/soja/trigo/soja; Sucessão: soja /trigo



**Figura 3.1<sup>b</sup>** – Perfis culturais de um Latossolo Vermelho distroférico após 22 anos sob plantio direto escarificado (PDE) em rotação (R) e sucessão (S) de culturas. Modo de organização dos torrões: C, volume de solo contínuo; F, volume de solo fissurado; pt, pequenos torrões; mt, médios torrões; Estado interno dos torrões:  $\mu$ , poroso;  $\mu\Delta$ , poroso com indícios de compactação;  $\mu\Delta/\Delta\mu$ , porosidade intermediária;  $\Delta\mu$ , compacto com presença de alguma porosidade;  $\Delta$ , compacto sem porosidade visível a olho nú; Estrutura resultante da atividade da macrofauna: G, galeria (3 a 10 cm  $\emptyset$ ); C, câmara (> 10 cm  $\emptyset$ ); Rotação: trevoço/milho/aveia preta/soja/trigo/soja/trigo/soja; Sucessão: soja /trigo.



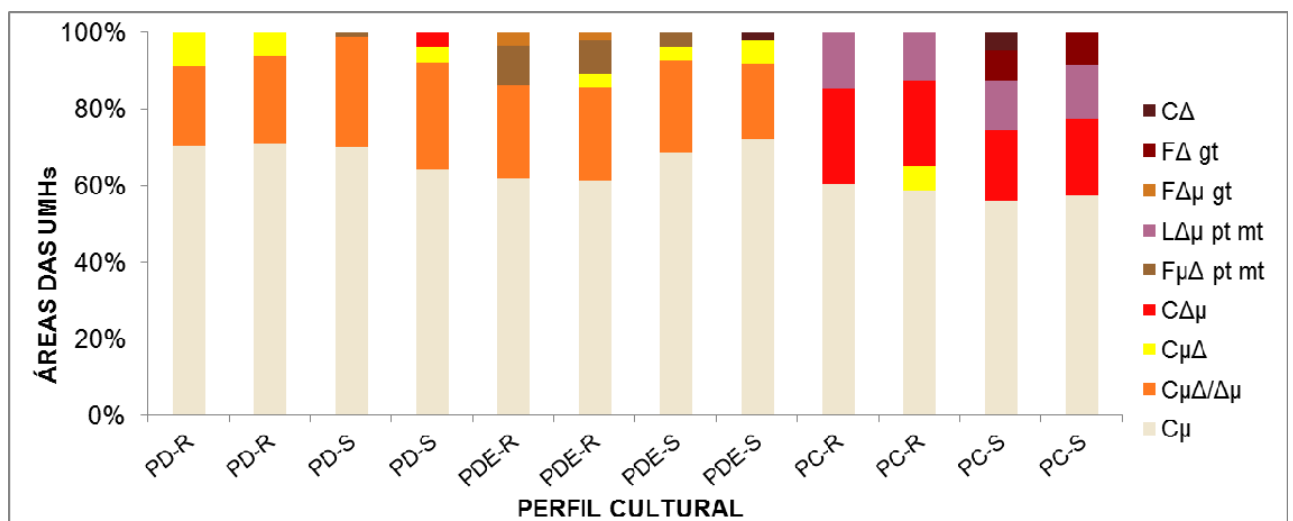
**Figura 3.1<sup>c</sup>** – Perfis culturais de um Latossolo Vermelho distroférico após 22 anos sob plantio convencional (PC) em rotação (R) e sucessão (S) de culturas. Modo de organização dos torrões: C, volume de solo contínuo; F, volume de solo fissurado; L, volume de solo livre; pt, pequenos torrões; mt, médios torrões; Estado interno dos torrões:  $\mu$ , poroso;  $\mu\Delta$ , poroso com indícios de compactação;  $\mu\Delta/\Delta\mu$ , porosidade intermediária;  $\Delta\mu$ , compacto com presença de alguma porosidade;  $\Delta$ , compacto sem porosidade visível a olho nú; Estrutura resultante da atividade da macrofauna: G, galeria (3 a 10 cm  $\varnothing$ ); C, câmara (> 10 cm  $\varnothing$ ); Rotação: trevoço/milho/aveia preta/soja/trigo/soja/trigo/soja; Sucessão: soja /trigo



Os perfis de PD em sucessão de culturas apresentaram UMHs correspondentes à estrutura  $C\mu\Delta$  (Figura 3.1a), com morfologia e padrão de enraizamento semelhante à descrita no PD em rotação. No perfil também foi observado uma pequena UMH compacta e sem fissuras, de baixa porosidade, com raízes achatadas e tortuosas, orientadas em sua maioria na horizontal, correspondente à estrutura  $C\Delta\mu$  (Figura 3.1a). No sulco de plantio observou-se UMH fissurada, com presença de pequenos (3 cm Ø) e médios torrões (7 cm Ø), porosos, com indício de compactação, de média rugosidade correspondente à estrutura  $F\mu\Delta$  pt mt (Figura 3.1), com grande concentração de raízes, retilíneas e sem tortuosidade que se desenvolveram intra e entre agregados. Nesses perfis foi observada maior área com UMH correspondente à estrutura  $C\mu\Delta/\Delta\mu$  (Figura 3.1a), com morfologia semelhante à descrita no PD em rotação, porém, as raízes nesse volume de solo apresentaram aspecto mais achatado e tortuoso, orientadas vertical e horizontalmente no perfil.

Nota-se que os perfis de PD em sucessão apresentaram maior área da estrutura  $C\mu\Delta/\Delta\mu$ , que correspondeu, em média, a 28,30% da área total dos perfis (Figura 3.2).

**Figura 3.2** – Porcentagem das áreas das UMHs de um Latossolo Vermelho distroférico após 22 anos sob plantio direto (PD), plantio direto escarificado (PDE) e plantio convencional (PC) em rotação (R) e sucessão (S) de culturas.



Modo de organização dos torrões: C, volume de solo contínuo; F, volume de solo fissurado; L, volume de solo livre; pt, pequenos torrões; mt, médios torrões; Estado interno dos torrões:  $\mu$ , poroso;  $\mu\Delta$ , poroso com indícios de compactação;  $\mu\Delta/\Delta\mu$ , porosidade intermediária;  $\Delta\mu$ , compacto com presença de alguma porosidade;  $\Delta$ , compacto sem porosidade visível a olho nú; Rotação: trevoço/milho/aveia preta/soja/trigo/soja/trigo/soja; Sucessão: soja /trigo.

O PDE, com intervenção mecânica a cada três anos apresentou UMH fissurada nos perfis em rotação de culturas. Essa UMH foi caracterizada pela presença de pequenos (5 cm de Ø) e médios torrões (9 cm de Ø) porosos, com indício de compactação, com rugosidade média aparente, sendo a individualização dos torrões favorecida pelas fissuras, correspondentes à estrutura  $F\mu\Delta$  pt mt (Figura 3.1b), com raízes bem ramificadas, retilíneas, se desenvolvendo preferencialmente entre as fissuras e verticalmente no interior dos torrões. Verificou-se, ainda, uma UMH, também fissurada, com grandes torrões (12 cm Ø), compactos, com presença de alguma porosidade, de baixa rugosidade, correspondente à estrutura  $F\Delta\mu$  gt (Figura 3.1b), com padrão de enraizamento semelhante ao observado na estrutura anterior. UMHs correspondentes às estruturas  $C\mu\Delta$  e  $C\mu\Delta/\Delta\mu$  também foram observadas, todas com morfologia e padrão de enraizamento semelhantes ao descrito no PD em rotação de culturas.

No PDE em sucessão de culturas ocorreu em superfície uma UMH correspondente à estrutura  $C\mu\Delta$  (Figura 3.1b), com morfologia e padrão de enraizamento semelhante ao descrito no PD em rotação e sucessão de culturas. Notou-se, também, uma pequena UMH compacta, sem porosidade visível a olho nu, com poucas raízes, muito achatadas, com orientação horizontal, correspondente à estrutura  $C\Delta$ . Uma UMH fissurada também foi observada, constituída por pequenos (5 cm Ø) e médios (8 cm Ø) torrões, porosos, com indícios de compactação, de rugosidade média, com raízes retilíneas intra e entre agregados, correspondentes à estrutura  $F\mu\Delta$  pt mt (Figura 3.1b). Finalmente, notou-se uma UMH correspondente à estrutura  $C\mu\Delta/\Delta\mu$ , com morfologia e padrão de enraizamento semelhante ao descrito no PD em sucessão de culturas.

Os perfis de PDE em rotação apresentaram maior área com as estruturas  $F\mu\Delta$  pt mt e  $F\Delta\mu$  gt, que corresponderam, em média, a 9,57 e 2,78%, respectivamente, da área total dos perfis (Figura 3.2). Esses perfis também apresentaram maior área com a estrutura  $C\mu\Delta/\Delta\mu$ , que correspondeu em média a 24,75% da área dos perfis (Figura 3.2).

O PC em rotação e sucessão apresentou na camada superficial uma UMH correspondente a solo livre, composta por pequenos (3 cm Ø) e médios (6 cm Ø) torrões soltos, com aspecto compacto, porém, com alguma porosidade visível, com raízes ligeiramente achatadas, orientadas na vertical, correspondente à estrutura  $L\Delta\mu$  pt mt (Figura 3.1c), representando, em média, 13,63 e 13,47% da área

total dos perfis em rotação e sucessão, respectivamente (Figura 3.2). Abaixo dessa estrutura, ocorreu uma UMH contínua e compacta, com presença de alguma porosidade aparente, com raízes achatadas e tortuosas, ramificadas, orientadas vertical e horizontalmente no perfil, correspondente à estrutura  $C\Delta\mu$  (Figura 3.1c). Um volume de solo correspondente à estrutura  $C\mu\Delta$  também foi observado, com morfologia e padrão de enraizamento similar ao encontrado no PD em rotação e sucessão de culturas.

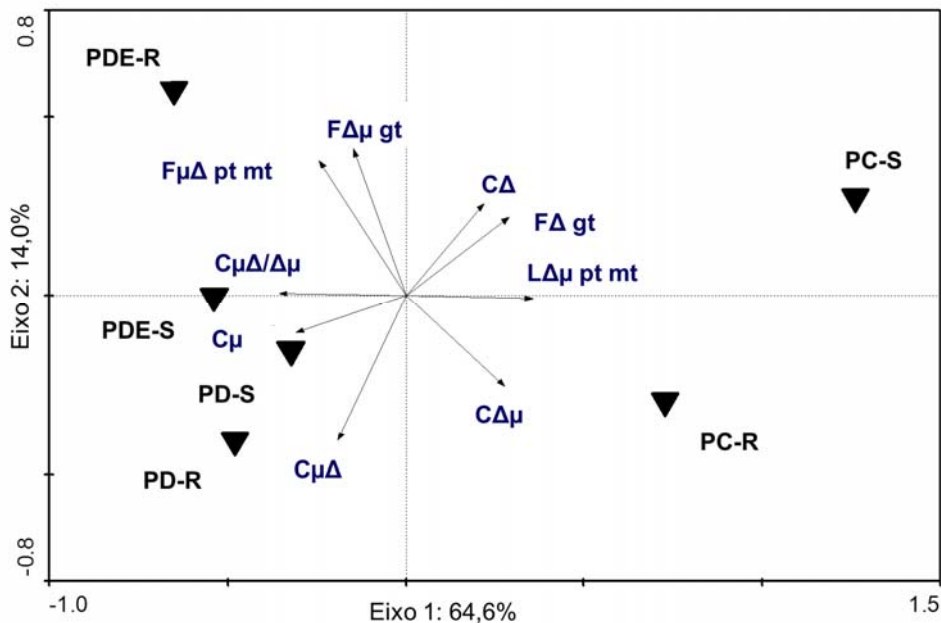
Nos perfis de PC em sucessão, abaixo da estrutura  $L\Delta\mu$  pt mt, ocorreu volume de solo fissurado, com grandes torrões (12 cm  $\emptyset$ ), compactos, pouco porosos, com raízes achatadas e tortuosas, pouco ramificadas, orientadas verticalmente entre as fissuras, correspondente à estrutura  $F\Delta$  gt (Figura 3.1c). Ao lado dessa estrutura apareceu uma UMH compacta, sem porosidade aparente, com poucas raízes, muito achatada, com orientação horizontal, correspondente à estrutura  $C\Delta$  (Figura 3.1c). Finalmente, foi observada uma UMH correspondente à estrutura  $C\Delta\mu$ , com morfologia semelhante à do PC em rotação, porém, com raízes visivelmente mais achatadas e tortuosas, e um volume de solo correspondente à estrutura  $C\mu\Delta$ , com morfologia e padrão de enraizamento semelhante ao PC em rotação de culturas.

O PC em rotação apresentou perfis com maior área da estrutura  $C\Delta\mu$  que correspondeu, em média, a 23,60% da área total do perfil (Figura 3.2), entretanto, o PC em sucessão apresentou as estruturas  $F\Delta$  gt e  $C\Delta$ , cuja soma das áreas correspondeu a 12,96% do perfil, sendo essas estruturas ausentes no PC em rotação.

A ACP foi usada para mostrar a relação dos diferentes sistemas de uso e manejo do solo, com as estruturas observadas no perfil cultural. Sendo assim, o primeiro eixo da componente principal explicou 64,6% da variabilidade, enquanto o eixo 2 explicou 14,0% (Figura 3.3). Nota-se que as áreas de PC, rotação e sucessão, se posicionaram na porção positiva do eixo 1, enquanto as área de PD, rotação e sucessão, e de PDE em sucessão, foram próximas e se posicionaram no outro extremo, na porção negativa do eixo 1. A área de PDE em rotação se destacou na porção superior negativa desse mesmo eixo. Essa distribuição sugere o eixo 1 como representante das formas de uso e manejo e, o eixo 2 como representante das UMHS do solo. Nota-se que as UMHS correspondentes às estruturas  $L\Delta\mu$  pt mt,  $F\Delta$  gt,  $C\Delta$  e  $C\Delta\mu$  se correlacionaram positivamente com o PC, rotação e sucessão, e

negativamente com o PD, rotação e sucessão, e com o PDE em sucessão. Por outro lado, as UMHs correspondentes às estruturas  $C_{\mu\Delta}$  e  $C_{\mu}$  se correlacionaram positivamente com o PD, rotação e sucessão, e com o PDE em sucessão. Já, as UMHs correspondentes às estruturas  $F_{\Delta\mu}$  gt,  $F_{\mu\Delta}$  pt mt e  $C_{\mu\Delta/\Delta\mu}$  se correlacionaram com o PDE em rotação. Observa-se que as estruturas  $C_{\mu\Delta/\Delta\mu}$  e  $L_{\Delta\mu}$  pt mt projetadas sobre o eixo 1 da componente principal são as que mais explicam a variabilidade dos dados (Figura 3.3).

**Figura 3.3** – Análise de Componentes Principais (ACP) baseada nas UMHs de um Latossolo Vermelho distroférrico após 22 anos sob plantio direto (PD), plantio direto escarificado (PDE) e plantio convencional (PC) em rotação (R) e sucessão (S) de culturas.



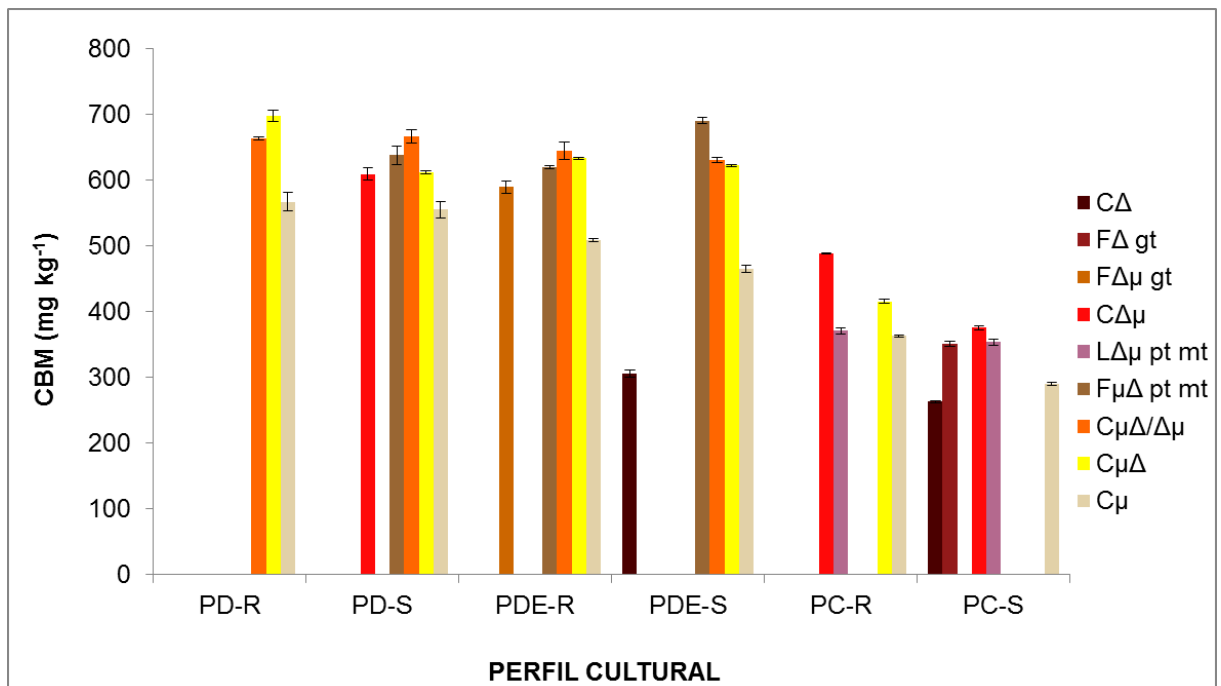
Modo de organização dos torrões: C, volume de solo contínuo; F, volume de solo fissurado; L, volume de solo livre; pt, pequenos torrões; mt, médios torrões; Estado interno dos torrões:  $\mu$ , poroso;  $\mu\Delta$ , poroso com indícios de compactação;  $\mu\Delta/\Delta\mu$ , porosidade intermediária;  $\Delta\mu$ , compacto com presença de alguma porosidade;  $\Delta$ , compacto sem porosidade visível a olho nú; Rotação: tremoço/milho/aveia preta/soja/trigo/soja/trigo/soja; Sucessão: soja /trigo.

### 3.4.2 Biomassa Microbiana nas UMHs

Teores significativamente superiores de CBM e NBM foram encontrados no PD e PDE, onde predominaram UMHs menos compactas, enquanto teores inferiores foram encontrados no PC, onde predominaram UMHs mais compactas (Figuras 3.4 e 3.6).

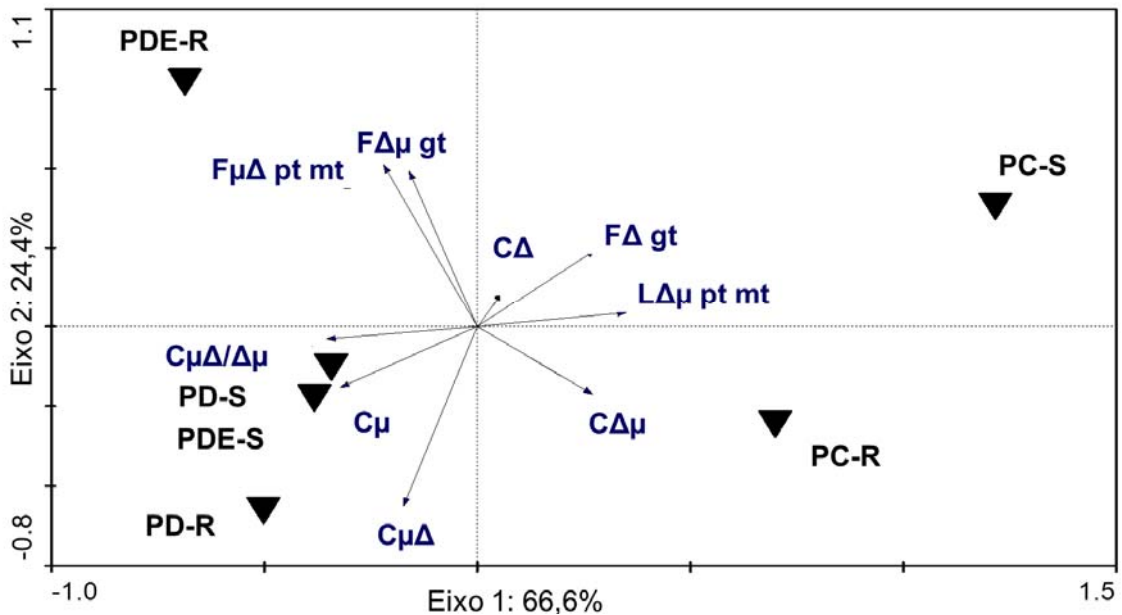
A ACP foi utilizada para mostrar a relação das UMHs com os teores de CBM e NBM. O primeiro eixo da componente principal explicou 66,6% da variabilidade, enquanto que o eixo 2 explicou 24,4%, para o CBM (Figura 3.5). Teores inferiores de CBM nas UMHs correspondentes às estruturas CΔ, CΔμ, FΔ gt e LΔμ pt mt se correlacionaram positivamente com o PC, rotação e sucessão, posicionando as respectivas áreas na porção positiva do eixo 1 e, negativamente, com PD, rotação e sucessão, e com o PDE em sucessão. Já, os teores superiores de CBM nos volumes de solo correspondentes às estruturas CμΔ/Δμ, CμΔ e Cμ se correlacionaram positivamente com o PD, rotação e sucessão, e com o PDE em sucessão, aproximando e posicionando essas áreas na porção negativa do eixo 1. Os teores de CBM nas UMHs correspondentes às estruturas FΔμ gt, FμΔ pt mt se correlacionaram com o PDE em rotação.

**Figura 3.4** – Carbono da biomassa microbiana (CBM) nas UMHs de um Latossolo Vermelho distroférico após 22 anos sob plantio direto (PD), plantio direto escarificado (PDE) e plantio convencional (PC) em rotação (R) e sucessão (S) de culturas.



Modo de organização dos torrões: C, volume de solo contínuo; F, volume de solo fissurado; L, volume de solo livre; pt, pequenos torrões; mt, médios torrões; Estado interno dos torrões: μ, poroso; μΔ, poroso com indícios de compactação; μΔ/Δμ, porosidade intermediária; Δμ, compacto com presença de alguma porosidade; Δ, compacto sem porosidade visível a olho nú; Rotação: treçoço/milho/aveia preta/soja/trigo/soja/trigo/soja; Sucessão: soja /trigo.

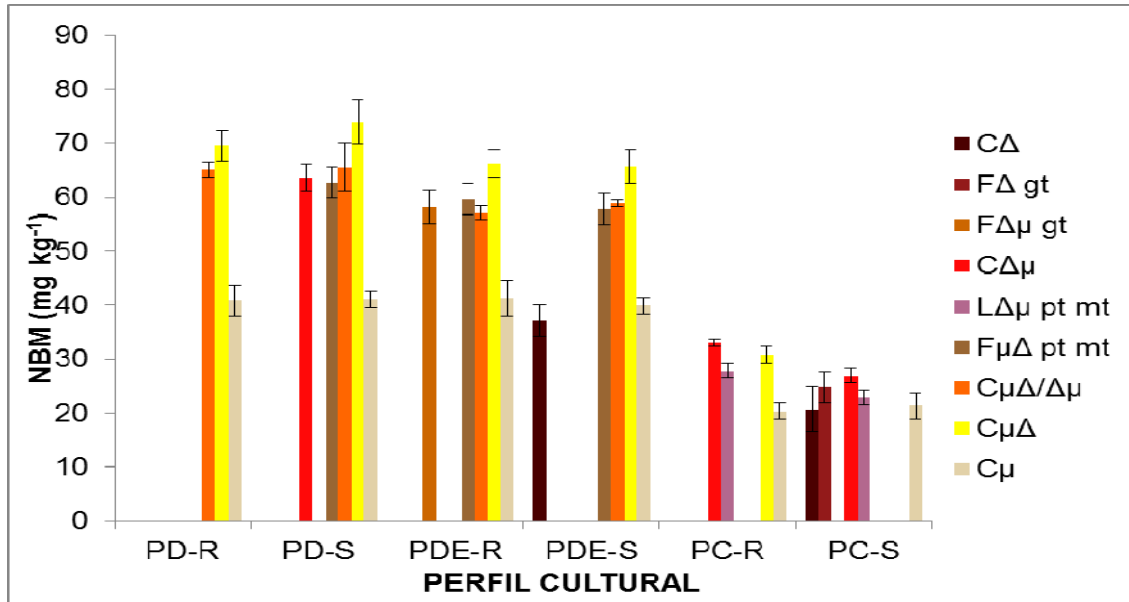
**Figura 3.5** – Análise de Componente Principal (ACP) baseada na relação das UMHs dos perfis culturais com o conteúdo de CBM.



Modo de organização dos torrões: C, volume de solo contínuo; F, volume de solo fissurado; L, volume de solo livre; pt, pequenos torrões; mt, médios torrões; Estado interno dos torrões:  $\mu$ , poroso;  $\mu\Delta$ , poroso com indícios de compactação;  $\mu\Delta/\Delta\mu$ , porosidade intermediária;  $\Delta\mu$ , compacto com presença de alguma porosidade;  $\Delta$ , compacto sem porosidade visível a olho nú; Rotação: tremoço/milho/aveia preta/soja/trigo/soja/trigo/soja; Sucessão: soja /trigo.

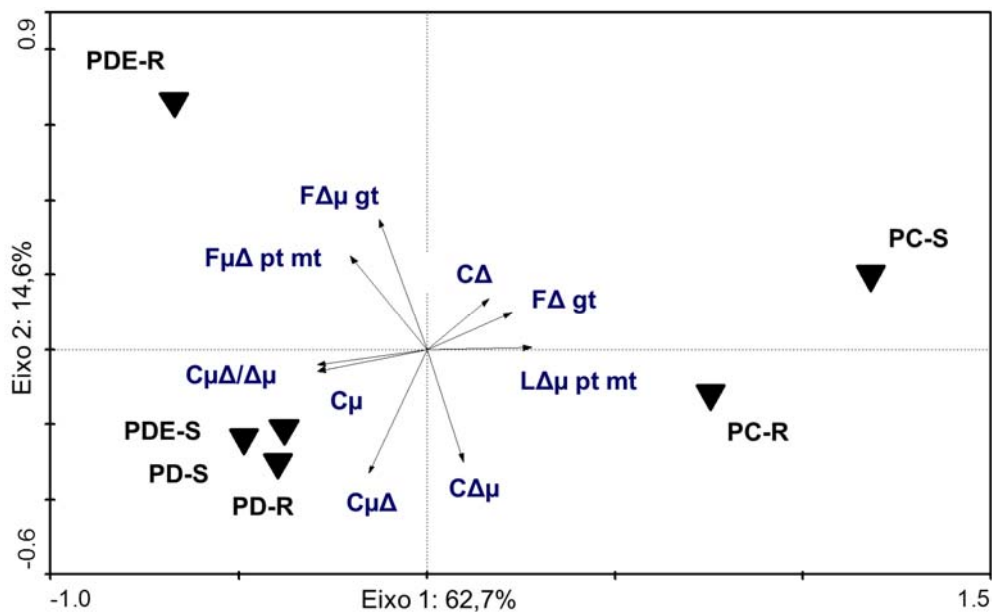
O NBM se mostrou mais sensível que o CBM para indicar alterações na estrutura do solo. Em média as estruturas dos perfis no PD e PDE apresentaram incrementos de NBM superiores a 50% quando comparados ao PC (Figura 3.6). Para o NBM o primeiro eixo da componente principal explicou 62,7% da variabilidade, enquanto que o eixo 2 explicou 14,6% (Figura 3.7). A ACP permite observar que as UMHs correspondentes às estruturas  $L\Delta\mu$  pt mt,  $F\Delta$  gt, e  $C\Delta$ , com teores inferiores de NBM, se correlacionaram com o PC, sucessão e rotação, posicionando esses manejos na porção positiva do eixo 1 da componente principal e, negativamente, com o PD, rotação e sucessão, e com o PDE em sucessão. Já, as estruturas  $C\mu\Delta/\Delta\mu$ ,  $C\mu\Delta$  e  $C\mu$ , com teores superiores de NBM, se correlacionaram com o PD, rotação e sucessão, e com o PDE em sucessão, aproximando e posicionando esses manejos no extremo negativo do eixo 1. As estruturas  $F\Delta\mu$  gt e  $F\mu\Delta$  pt mt, com teores superiores de NBM, se correlacionaram positivamente com o PDE em rotação. Nota-se que a ACP separou o PDE em rotação do PD, rotação e sucessão, e PDE em sucessão posicionando esse tratamento na porção positiva do eixo 2 da componente principal pela maior presença de UMHs fissuradas (Figura 3.2).

**Figura 3.6** – Nitrogênio da biomassa microbiana (NBM) nas UMHs de um Latossolo Vermelho distroférrico após 22 anos sob plantio direto (PD), plantio direto escarificado (PDE) e plantio convencional (PC) em rotação (R) e sucessão (S) de culturas.



Modo de organização dos torrões: C, volume de solo contínuo; F, volume de solo fissurado; L, volume de solo livre; pt, pequenos torrões; mt, médios torrões; Estado interno dos torrões: μ, poroso; μΔ, poroso com indícios de compactação; μΔ/Δμ, porosidade intermediária; Δμ, compacto com presença de alguma porosidade; Δ, compacto sem porosidade visível a olho nú; Rotação: tremoço/milho/aveia preta/soja/trigo/soja/trigo/soja; Sucessão: soja /trigo.

**Figura 3.7** – Análise de Componente Principal (ACP) baseada na relação das UMHs dos perfis culturais com o conteúdo de NBM.



Modo de organização dos torrões: C, volume de solo contínuo; F, volume de solo fissurado; L, volume de solo livre; pt, pequenos torrões; mt, médios torrões; Estado interno dos torrões: μ, poroso; μΔ, poroso com indícios de compactação; μΔ/Δμ, porosidade intermediária; Δμ, compacto com presença de alguma porosidade; Δ, compacto sem porosidade visível a olho nú; Rotação: tremoço/milho/aveia preta/soja/trigo/soja/trigo/soja; Sucessão: soja /trigo.

### 3.4.3 Biomassa Microbiana em Profundidade

Em média, o PD e o PDE apresentaram teores superiores de CBM de 21,6 e 19,8%, respectivamente, em comparação ao PC (Tabela 3.1). Teores superiores de CBM foram encontrados no PD, PDE e PC nas profundidades de 0-10 e 10-20 cm, na rotação de culturas sendo que no PDE o teor também foi superior na camada de 20-30 cm. Na sucessão de culturas, o PD foi superior nas profundidades de 0-10 e 10-20 cm, o PDE de 0-10 cm e o PC nas profundidades de 0-30 cm. Analisando os manejos de solo, observa-se a superioridade do PD e do PDE em comparação ao PC, não sendo observadas diferenças entre os manejos de culturas (Tabela 3.1).

**Tabela 3.1** – Carbono e nitrogênio da biomassa microbiana (CBM e NBM) de um Latossolo Vermelho distroférico após 22 anos sob plantio direto (PD), plantio direto escarificado (PDE) e plantio convencional (PC) em rotação (R) e sucessão (S) de culturas.

Profundidade cm	CBM (mg kg <sup>-1</sup> de solo seco)																										
	PD			PDE			PC			PD			PDE			PC											
				Rotação						Sucessão																	
0 - 10	797,67	a <sup>1</sup>	A	752,41	a	A	595,78	a	B	765,63	a	A	755,57	a	A	563,45	a	B									
10 - 20	769,74	a	A	769,95	a	A	611,68	a	B	747,94	a	A	689,22	ab	A	573,78	a	B									
20 - 30	698,80	ab	A	708,95	a	A	575,01	ab	B	623,39	b	A	618,01	b	A	547,57	a	B									
30 - 40	606,73	b	A	586,57	b	A	465,68	b	B	595,24	b	A	599,75	b	A	464,29	b	B									
Manejo do solo	PD			700,64			A			PDE			685,05			A			PC			549,65			B		
Manejo de culturas				661,58			A						628,65			A											
<i>P</i>				≤0,001																							
C.V (%)				10,11%																							
Profundidade cm	NBM (mg kg <sup>-1</sup> de solo seco)																										
	PD			PDE			PC			PD			PDE			PC											
				Rotação						Sucessão																	
0 - 10	63,12	a	A	63,55	a	A	29,53	a	B	56,50	a	A	55,9	a	A	30,66	a	B									
10 - 20	61,49	a	A	61,88	a	A	31,82	a	B	59,41	a	A	54,48	a	A	27,82	ab	B									
20 - 30	58,66	a	A	54,09	a	A	25,29	a	B	54,51	a	A	53,15	a	A	24,11	ab	B									
30 - 40	35,58	b	A	39,72	b	A	24,00	a	B	42,06	b	A	50,67	a	A	17,67	b	B									
Manejo do solo	PD			53,92			A			PDE			54,18			A			PC			26,36			B		
Manejo de culturas	Rotação			45,73			A			Sucessão			43,91			A											
<i>P</i>				≤0,001																							
C.V (%)				14,48%																							

<sup>1</sup> Médias seguidas de diferentes letras minúsculas indicam diferenças (ANOVA) a  $p \leq 0,05$  pelo teste de Tukey entre profundidades e diferenças em letras maiúsculas indicam diferença entre os sistemas de preparo de solo com rotação e sucessão de culturas. Médias de quatro repetições de campo para cada profundidade do solo. Rotação: tremoço/milho/aveia preta/soja/trigo/soja/trigo/soja; Sucessão: soja /trigo.

Em média, o PD e o PDE apresentaram teores 51,0% superiores de NBM, em comparação ao PC. No PD e PDE em rotação de culturas, teores superiores de NBM foram encontrados de 0-10, 10-20 e 20-30 cm de profundidade, sendo que no PC não houve diferença estatística entre as profundidades (Tabela 3.1). Na sucessão de culturas, o PD foi superior nas camadas de 0-30 cm, o PC apenas na camada superficial de 0-10 cm, e para o PDE não houve diferença estatística entre as profundidades. De modo semelhante ao CBM, o NBM foi superior no PD e no PDE em comparação ao PC, sendo que diferenças não puderam ser atribuídas ao manejo de culturas (Tabela 3.1).

#### 3.4.4 pH, Carbono Orgânico Total (COT) e Nitrogênio Total (NT)

Não foram observadas diferenças no pH entre os manejos de solo e de culturas nas diferentes profundidades (dados não apresentados), e os valores variaram de 4,75 a 5,50.

Os teores de COT e NT, em todas as profundidades, no PD e PDE, foram superiores ao PC independente do manejo de culturas (Tabela 3.2). Em média o COT, no PD e PDE foi 33,1 e 32,9% superior, respectivamente, ao PC. O PD, PDE e PC apresentaram teores superiores de COT na profundidade de 0-10 cm, sendo que o PC também foi superior na profundidade de 10-20 cm. Na sucessão, para o PD e PDE não houve diferença estatística entre as profundidades para os teores de COT. Já, no PC teor superior de COT foi encontrado apenas na camada superficial de 0-10 cm. Além disso, quando considerado apenas os manejos de solo, observa-se a superioridade do PD e PDE em comparação ao PC, sendo que diferenças não foram encontradas no manejo de culturas (Tabela 3.2).

**Tabela 3.2** – Carbono orgânico total (COT) e nitrogênio total (NT) de um Latossolo Vermelho distroférico após 22 anos sob plantio direto (PD), plantio direto escarificado (PDE) e plantio convencional (PC) em rotação (R) e sucessão (S) de culturas.

Profundidade Cm	COT g dm <sup>3</sup> de solo seco																	
	PD			PDE			PC			PD			PDE			PC		
	Rotação						Sucessão											
0 – 10	25,68	a <sup>1</sup>	A	26,03	a	A	18,09	a	B	23,86	a	A	23,67	a	A	19,00	a	B
10 – 20	24,26	Ab	A	23,59	ab	A	19,16	a	B	23,48	a	A	22,56	a	A	17,29	ab	B
20 – 30	22,68	B	A	23,57	ab	A	12,94	b	B	22,81	a	A	22,74	a	A	16,04	b	B
30 – 40	21,45	B	A	21,71	b	A	10,42	b	B	21,10	a	A	20,88	a	A	10,95	c	B
Manejo do solo	PD			23,16			PDE			23,09			PC			15,49		
Manejo de culturas	Rotação			20,80			A			Sucessão			20,37			A		
<i>P</i>				≤0,001														
C.V				7,34%														
	NT (mg kg <sup>-1</sup> de solo)																	
Profundidade Cm	PD			PDE			PC			PD			PDE			PC		
	Rotação						Sucessão											
0 – 10	3,06	A	A	2,98	a	A	1,65	a	B	3,10	a	A	3,07	a	A	1,62	a	B
10 – 20	3,06	A	A	2,99	a	A	1,75	a	B	2,96	a	A	2,96	a	A	1,47	ab	B
20 – 30	2,99	A	A	3,03	a	A	1,07	b	B	3,01	a	A	3,00	a	A	1,26	bc	B
30 – 40	2,94	A	A	2,88	a	A	1,00	b	B	2,97	a	A	2,81	a	A	1,02	c	B
Manejo do solo	PD			3,01			A			PDE			2,96			A		
Manejo de culturas	Rotação			2,45			A			Sucessão			2,44			A		
<i>P</i>				≤0,001														
C.V (%)				7,19%														

<sup>1</sup> Médias seguidas de diferentes letras minúsculas indicam diferenças (ANOVA) a  $p \leq 0,05$  pelo teste de Tukey entre profundidades e diferenças em letras maiúsculas indicam diferença entre os sistemas de preparo de solo com rotação e sucessão de culturas. Médias de quatro repetições de campo para cada profundidade do solo. Rotação: tremoço/milho/aveia preta/soja/trigo/soja/trigo/soja; Sucessão: soja /trigo.

Assim como o NBM, o NT também se mostrou mais sensível ao manejo do solo, apresentando teores superiores no PD e PDE em comparação ao PC, independente do manejo de culturas. O NT foi, em média, 55,1 e 54,0% superior no PD e no PDE, respectivamente, em comparação ao PC (Tabela 3.2). Não houve diferença nos teores de NT, para o PD e PDE, em função da rotação e sucessão de culturas. Já, para o PC, as profundidades de 0-10 e 10-20 cm na rotação e, 0-10 cm na sucessão apresentaram teores superiores de NT. Nos manejos de solo, observa-se a superioridade do PD e PDE em comparação ao PC. Assim como observado nos demais parâmetros, não houve diferenças entre a rotação e sucessão de culturas para o NT (Tabela 3.2).

### 3.5 DISCUSSÃO

#### 3.5.1 Alterações na Estrutura do Solo

Vários trabalhos têm demonstrado que o revolvimento intenso do solo, promove mudanças nas propriedades físicas, com efeito em atributos químicos e biológicos (FRANCHINI et al., 2007; HUNGRIA et al., 2009; BABUJIA et al., 2010; MORRIS et al., 2010; LÓPEZ-GARRIDO et al., 2012) devido, principalmente, às alterações causadas na estrutura do solo (GIAROLA, et al., 2012; MUNKHOLM; HECK; DEEN, 2012). A magnitude com que as alterações ocorrem depende do tipo de solo e dos sistemas de manejo utilizados.

Neste trabalho, após 22 anos de cultivo, a caracterização dos diferentes perfis mostra que a camada superficial (~ 0-12 cm), diretamente exposta aos agentes climáticos, às técnicas de cultivo, e à própria cultura, teve a estrutura do solo alterada em relação às camadas mais profundas (~ 35-40 cm) que não sofreram diretamente o efeito da ação antrópica, sendo as maiores alterações observadas no PC, manejo com maior grau de revolvimento do solo, apresentando volumes de solo mais compactos e de menor porosidade visível (Figuras 3.1a, 3.1b e 3.1c).

A porosidade visível dos agregados foi influenciada pelo manejo das culturas, sendo que a sucessão apresentou volumes de solo com aspecto mais compacto, com raízes visivelmente mais deformadas morfologicamente que a rotação de culturas.

As estruturas  $C_{\mu}\Delta$  encontradas na camada superficial dos perfis de PD (Figura 3.1a) podem ser atribuídas ao elevado teor de COT, incrementado em superfície no PD pelo constante aporte de resíduos culturais e pela maior concentração de raízes na profundidade de 0-12 cm (GIAROLA et al., 2012; MORRIS, et al., 2010). Além disso, o crescimento de raízes promove a agregação do solo devido à liberação de compostos orgânicos que exercem ação cimentante e aglutinadora sobre as partículas do solo e quando, ao senescer, as raízes deixam espaços (SIX et al, 2004) que contribuem para o aumento da porosidade total (CHAN; ROBERTS; HEENAN, 1992). No caso da soja e milho, cerca de 60 e 70% das raízes, respectivamente, se encontram na profundidade de 0-15 cm (BEUTLER; CENTURION; SILVA, 2005; FAHAD et al., 1982).

No perfil de PD com sucessão, a presença da estrutura  $C\Delta\mu$  se deve à pressão exercida pelo rodado, que resultou em agregados com estado interno compacto. Vale ressaltar que o perfil de PD em sucessão apresentou maior porcentagem de estrutura compacta ( $C_{\mu}\Delta/\Delta\mu$ ) que em rotação (Figura 3.2).

Chan; Roberts; Heenan (1992), avaliando os efeitos de alguns sistemas de rotação de culturas nos atributos físicos do solo, concluíram que sistemas que incluíram a sucessão soja/trigo provocaram maior compactação superficial do solo em relação a sistemas que incluíram gramíneas como arroz e milho.

Albuquerque et al. (1995) também verificaram maiores valores de densidade do solo em sucessão soja/trigo na camada superficial, que em rotações que incluíram culturas como aveia, ervilhaca e milho. A soja e o trigo são culturas de menor produção de biomassa quando comparadas às culturas do milheto e milho. Além do que, a soja, por ser leguminosa, tem rápida decomposição da sua biomassa na superfície do solo. Em sistema de PD, quanto maior e mais duradoura for a palhada residual deixada na superfície do solo, melhor será o efeito sobre seus atributos físicos (MORRIS et al., 2010).

A presença de estruturas fissuradas nos perfis de PDE com rotação até cerca de 20 cm de profundidade foi resultado da ação do escarificador, que promoveu a ruptura dos agregados do solo pela formação de fissuras, porém, com baixa mobilização do solo (Figura 3.1b). Segundo Tavares Filho et al. (2001), se existirem estruturas que permitam a difusão de oxigênio e condições ideais de umidade e nutrientes, as raízes vão se direcionar aos pontos de menor resistência

para seu desenvolvimento, embora sofram deformações morfológicas, como observado em neste trabalho.

O perfil de PDE com sucessão de culturas apresentou, na camada superficial (~ 0-8 cm), uma pequena área de estrutura CΔ, oriunda da pressão exercida pelo rodado de máquinas além, da estrutura FμΔ mt gt, que ainda preservava o efeito da escarificação.

Na camada superficial, comparando o perfil de PDE sob rotação com o PDE sob sucessão, nota-se que na rotação predominaram estruturas fissuradas, enquanto que na sucessão de culturas predominaram estruturas contínuas (Figura 3.2).

Contudo, vale ressaltar que no sistema de manejo com escarificação a cada três anos (PDE), o efeito de curto prazo na estrutura do solo não pode ser observado, uma vez que havia decorrido 3 anos da passagem do escarificador, e as estruturas foram similares as encontradas no sistema PD.

Hamza e Anderson (2005) afirmam que a escarificação torna o solo mais vulnerável à deformação pelo tráfego de máquinas agrícolas, de tal forma que a recompactação tem sido observada após uma (CHAN et al., 2006) ou duas (VEIGA et al., 2007) operações de tráfego. Entretanto, Ralisch et al. (2010) observaram que a ruptura mecânica sem a complementação radicular promoveu efeitos de baixa durabilidade na recuperação física do solo, sendo necessário, para efeitos mais duradouros, o contínuo aporte de resíduos orgânicos através do uso de plantas de cobertura ou adubação verde.

Observa-se também, que a rotação, incluindo culturas de grãos (soja, milho e trigo) e de cobertura e adubação verde (tremoço, nabo forrageiro e aveia preta) parece ter minimizado os efeitos da compactação do solo no PD e prolongado o efeito da escarificação no PDE após três anos da intervenção mecânica, devido a presença de estruturas fissuradas, quando comparada à sucessão soja/trigo. A rotação promove a diversificação de culturas, com diferentes sistemas radiculares e produção de biomassa, proporcionando maior aeração e infiltração de água no solo, repercutindo na manutenção e melhoria de sua qualidade estrutural (CALEGARI et al., 2008; RALISCH et al., 2010).

Os resultados apresentados neste trabalho indicam que desde que levados em consideração os princípios básicos do sistema de PD como o mínimo revolvimento, a presença permanente de cobertura no solo e a diversificação de

culturas através de rotação não há necessidade de se escarificar o solo para o rompimento de camadas compactadas. Esta prática, onera os custos de produção, pelo gasto com combustível e mão de obra, além do que o rompimento da estrutura do solo acarreta em perdas de solo, água e nutrientes pela erosão.

Segundo Bertol et al. (2007) o custo financeiro com perda de nutrientes, expressos na forma de superfosfato triplo (P), cloreto de potássio (K) e de calcário (Ca e Mg), perdidos na erosão hídrica chegou a cifra de US\$ 14,83 ha<sup>-1</sup> para o PD, de US\$ 16,33 ha<sup>-1</sup> para o preparo mínimo (uma escarificação + uma gradagem) e de US\$ 24,94 ha<sup>-1</sup> para o PC (uma aração + duas gradagens).

Abaixo dessas camadas superficiais (~10 cm), foi observada, nos perfis de PD e PDE com rotação e sucessão de culturas, a estrutura C<sub>μ</sub>Δ/Δ<sub>μ</sub>, com maior área sob rotação (Figura 3.2). Alguns trabalhos têm relatado maior densidade do solo de 10-25 cm de profundidade, em áreas com PD, devido às tensões aplicadas pelos rodados de máquinas agrícolas e ao não revolvimento do solo (TAVARES FILHO et al., 2001; BALL; BATEY e MUNKHOLM, 2007, MUNKHOLM; HANSEN e OLESEN, 2008; MUNKHOLM; HECK e DEEN, 2012). Entretanto, apesar de ter sido observada em maior área no PDE com rotação (Figura 3.2), essa camada não foi limitante ao desenvolvimento radicular. Nota-se que, nesses perfis, a atividade biológica foi elevado, devido à presença de câmaras formadas por ação da macrofauna, ocupando parte da estrutura C<sub>μ</sub>Δ/Δ<sub>μ</sub> (Figura 3.1), o que provavelmente explica o bom desenvolvimento das raízes nesse volume de solo, que apresentaram menores deformações morfológicas quando comparadas às raízes sob sucessão soja/trigo.

Franchini et al. (2011), avaliando a camada de 0-20 cm dessa mesma área de estudo, constataram menor resistência do solo à penetração no PD e PDE com rotação em comparação à sucessão de culturas. Os autores encontraram, ainda, menor resistência no PD com rotação, cujos valores não foram críticos ao desenvolvimento radicular das culturas.

A estrutura LΔ<sub>μ</sub> pt mt observada na camada superficial dos perfis de PC é característica da desagregação provocada pelo trabalho de implementos, porém, essa estrutura não apresentou solo pulverizado, com aspecto de terra fina, fator esse atribuído à presença de palhada na superfície do solo, mesmo no PC e, também, pela rebrota de milho e soja e presença de plantas daninhas cujos sistemas radiculares exerceram ação aglutinadora sobre as partículas do solo.

Os perfis de PC em rotação e sucessão apresentaram as estruturas  $C\Delta$ ,  $C\Delta\mu$ ,  $F\Delta$  gt, (Figura 3.1c) abaixo da camada superficial, resultantes do intenso trabalho de máquinas no solo, que provoca o aparecimento de camadas mais compactadas denominadas “pé-de-grade” ou “pé-de-arado”, em torno de 10-25 cm de profundidade (RALISCH et al., 2010; MORRIS et al., 2010), demonstrando que as operações de preparo resultam no aparecimento de estruturas mais compactas no PC. Entretanto, o menor revolvimento do solo, aliado à manutenção de cobertura morta em superfície no PD e no PDE, resultaram em estruturas com maior porosidade conforme pode ser observado na ACP (Figura 3.5).

Munkholm; Heck; Deen (2012), através da avaliação visual da estrutura do solo encontraram correlação positiva entre a estrutura e o rendimento de milho no PD com rotação de culturas, em comparação ao PC com cultivo contínuo de milho. Jin et al. (2011), avaliando as propriedades do solo após 11 anos de PD verificaram que o maior armazenamento de água e sua disponibilidade para as culturas foi determinado pela melhor conservação da estrutura do solo no PD.

Apesar de mais evidente nas áreas de PD e PDE, a rotação mostrou um pequeno efeito no PC, com raízes visivelmente menos achatadas e tortuosas, assim como observado por Munkholm; Heck; Deen (2012). Ainda, segundo esses autores, essas diferenças podem ser observadas, pois a avaliação visual do solo a campo permite justamente analisar o crescimento e comportamento das raízes no volume de solo.

Diversos trabalhos demonstram que o preparo do solo com aração e gradagem reduz o teor de matéria orgânica, principalmente nos trópicos (KASCHUK; ALBERTON; HUNGRIA, 2010; BALOTA e AUER, 2011). O revolvimento intenso do solo no PC desagrega os macroagregados, que são importantes para a proteção e a preservação da matéria orgânica, resultando em sua rápida oxidação e, conseqüentemente, diminuição da qualidade do solo (MORRIS et al., 2010; FRANCHINI et al., 2011; LÓPEZ- GUARRIDO et al., 2012).

Apesar do foco do trabalho não ser a macrofauna do solo, a atividade da fauna invertebrada influi na agregação e estrutura do solo, na fragmentação de resíduos orgânicos e na dinâmica da matéria orgânica, no transporte e mistura das partículas orgânicas e minerais, na escavação do solo, levando à criação de galerias e câmaras (FRANCHINI et al., 2011), como observado neste trabalho (Figura 3.1), além do seu papel na composição, abundância e

diversidade de outros organismos (LAVELLE e SPAIN, 2001), como por exemplo, a população microbiana (BEARE et al., 1994; WARDLE e LAVELLE, 1997). Cragg e Bardgett (2001) descrevem numerosos estudos que relatam como a fauna do solo pode afetar a biomassa microbiana do solo e sua atividade, quer seja pela alimentação direta de bactérias e fungos, quer seja pela disseminação de propágulos.

### 3.5.2 Biomassa Microbiana

As alterações observadas na estrutura do solo provocaram modificações significativas no CBM e no NBM, sendo que teores superiores foram obtidos nas UMHS do PD e PDE em rotação e sucessão de culturas (Figuras 3.4 e 3.6). A hipótese levantada pelo trabalho de que as alterações na estrutura do solo poderiam se correlacionar com modificações na biomassa microbiana foram, portanto, confirmadas. A melhor qualidade estrutural do solo no PD e PDE, com predomínio de UMHS com maior porosidade e menos compactas que as observadas no PC proporcionaram maior biomassa microbiana nesses sistemas de manejo do solo (Figuras 3.5 e 3.7).

Alterações na estrutura do solo devido ao intenso revolvimento afetam a percolação de água, temperatura, aeração e aumentam a erosão do solo, reduzindo significativamente a comunidade (SPARLING, 1997; GIL et al., 2011) e a biomassa microbiana (HUNGRIA et al., 2009; SILVA et al., 2010; LÓPEZ-GARRIDO et al., 2012), como observado em nosso trabalho.

Sistemas de manejo com menor grau de revolvimento do solo, porém, favorecem a formação e estabilização de macroagregados (BEARE; HENDRIX; COLEMAN, 1994), que aliada à proteção do solo mediante cobertura, resulta em maior retenção de umidade, maior efeito rizosférico das culturas, maior disponibilidade de matéria orgânica, melhores condições químicas e físicas do solo, e redução de temperaturas extremas, proporcionando proteção ao hábitat dos microrganismos do solo, o que contribui com os maiores teores de biomassa microbiana nesses sistemas (LÓPEZ-FANDO; GIL et al., 2011; PARDO et al., 2011).

A biomassa microbiana é importante, pois imobiliza quantidades significativas de nutrientes, diminuindo o “pool” de nutrientes livres no solo, o que reduz as perdas por lixiviação ou desnitrificação, sendo primordial, no

desenvolvimento e rendimento de culturas (BALOTA e AULER, 2011). Além do que, os nutrientes contidos nas células microbianas são liberados cinco vezes mais rápido do que na decomposição de resíduos vegetais (PAUL e CLARK, 1996).

Confirmando os resultados obtidos com as UMHs, o CBM e NBM também se mostraram superiores até 40 cm profundidade no PD e PDE (Tabela 3.1), em rotação e sucessão de culturas, com valores próximos aos encontrados nas UMHs dos perfis (Figuras 3.4 e 3.6).

De acordo com Jiang et al. (2011), a biomassa microbiana encontra-se concentrada principalmente dentro de macroagregados, sendo que o preparo do solo no PC leva, em média, à diminuição de 67% destes macroagregados. No PD, os maiores teores de matéria orgânica, a presença de raízes e hifas fúngicas favorecem a estabilidade dos macroagregados, principalmente na profundidade de 0 a 5 cm, quando comparado ao PC (MENDES et al., 2003). Logo, o revolvimento do solo diminui a biomassa microbiana, principalmente por diminuir a proporção de macroagregados, expondo a matéria orgânica a rápida oxidação (KUSHWAHA; TRIPATHI, SIGNH, 2001). O aumento na quantidade de microagregados no PC é consequência da quebra dos macroagregados decorrente da intervenção mecânica e das características operacionais do arado de discos (MENDES et al., 2003).

Em estudo realizado por Singh e Singh (1995), teores superiores de CBM foram encontrados em macroagregados em comparação aos microagregados do solo. Haynes e Beare (1997) e Milne e Haynes (2004) demonstraram correlação positiva entre macroagregados e o CBM, indicando a importância desse parâmetro na agregação do solo. Essa correlação suporta a hipótese de que a rizodeposição de C para o crescimento microbiano é, provavelmente, o principal fator responsável pela formação e estabilidade de macroagregados. Estudos apontam que agregados maiores apresentaram uma proporção mais elevada de fungos:bactérias, sendo que a diminuição dessa proporção da biomassa leva à diminuição do tamanho dos agregados (SIX et al, 2004; HELGASON et al., 2010).

Com exceção do PDE em sucessão, todos os demais tratamentos apresentaram maior teor de CBM nas profundidades de 0-10 e 10-20 cm, sendo esses teores significativamente superiores no PD e no PDE com rotação e sucessão de culturas (Tabela 3.1). Segundo López e Fando (2011), no PD a biomassa microbiana está mais concentrada na superfície do solo onde há maior quantidade de substrato, fazendo com que os processos de decomposição e ciclagem de

nutrientes ocorram com maior intensidade. Já no PC, ocorre a incorporação dos resíduos ao solo, o que explica o maior teor de CBM encontrado de 10-20 cm de profundidade.

O NBM foi mais sensível que o CBM na indicação de alterações provocadas pelo manejo (Tabela 3.1), assim como observado por Babujia et al. (2010) e Silva et al. (2010). A superioridade do NBM no PD e no PDE em rotação e sucessão de culturas (Figura 3.8 e Tabela 3.1) pode ser explicada pela menor taxa de mineralização desse elemento no PD (HUNGRIA et al, 2009), indicando que o nitrogênio permaneceu ligado aos compostos orgânicos nos resíduos culturais. No PD e PDE, independente do manejo de culturas, o NBM foi superior nas camadas de 0-10, 10-20 e 20-30 cm de profundidade, com valores significativamente superiores ao PC em mais de 50% (Tabela 3.1).

De acordo com Babujia et al. (2010), o menor teor de NBM em algumas camadas do solo pode ser um indicativo do esgotamento de N, pela maior mineralização desse elemento para suprir a necessidade nutricional das culturas. Francis; Haynes; Knight (1992) constataram que a mineralização de compostos nitrogenados ocorre de maneira mais constante sob PD, enquanto que, sob PC, há elevada liberação de nitrogênio logo após o preparo do solo, devido à quebra dos seus agregados, que causa a intensificação da atividade microbiana, resultando na diminuição do NBM.

Jiang et al. (2011) encontraram maior biomassa bacteriana nos microagregados, enquanto que teores superiores de biomassa fúngica foram encontrados em macroagregados. Esses autores também encontraram maior relação C:N no PC em comparação ao PD, fator que pode explicar a limitação de nitrogênio no PC. Hernández-Hernández e Lopez-Hernández (2002) também relataram que o NBM diminuiu significativamente no PC, sendo superior no PD, especialmente em macroagregados maiores que 0,25 mm.

De acordo com Zotarelli et al. (2012), o PD aumentou o  $N_2$  fixado biologicamente por rizóbios na soja em  $31 \text{ kg ha}^{-1} \text{ ano}^{-1}$ , comparativamente ao sistema de PC, o que se deve às melhores condições ambientais proporcionadas à microbiota nesse sistema, como menores temperaturas e maior umidade.

Ao contrário do observado por Hungria et al. (2009), que demonstraram que o escarificador diminuiu significativamente a biomassa microbiana, não foram encontradas neste estudo diferenças entre o PD e o PDE, o

que pode estar ligado ao fato de a última passagem do escarificador na área ter sido realizada há quase três anos havendo, dessa forma, um período de tempo para a microbiota se reestabelecer.

Trabalhos têm demonstrado que cultivos incluindo leguminosas na sequência de culturas aumentam o teor da biomassa microbiana (HURISSO et al., 2013). Haynes e Beare (1997) observaram maior teor de biomassa microbiana no cultivo de leguminosas do que com gramíneas e atribuíram essa resposta à maior rizodeposição de carbono e nitrogênio devido à morte das raízes e nódulos, que resulta em maior atividade microbiana. Entretanto, apesar da ênfase dada na diversificação de plantas com diferentes relações C:N na rotação de culturas, por afetar quantitativa e qualitativamente a imobilização e a mineralização de carbono e nitrogênio no solo, não foram observadas diferenças na biomassa microbiana quando avaliado o efeito do manejo de culturas (Tabela 3.1). Possivelmente, a sequência de culturas na rotação pode explicar essa resposta, já que a partir da safra de verão 2006/2007 até a safra de verão 2008/2009 a soja e o trigo foram utilizados como cultivos de verão e inverno, respectivamente, semelhante à sucessão.

Segundo Haynes e Beare (1997), o conteúdo de biomassa microbiana no solo depende do conteúdo de C, da qualidade e distribuição do COT, que podem sofrer variação espacial e temporal. Entretanto, mudanças no CBM e no NBM, em resposta ao manejo da matéria orgânica ocorrem mais rapidamente do que as mudanças no COT (HURISSO et al., 2013).

### 3.5.3 Carbono Orgânico Total (COT) e Nitrogênio Total (NT)

Com relação aos parâmetros químicos não foram observadas diferenças nos valores de pH entre os tratamentos (dados não apresentados), o que coincidiu com a aplicação de calcário ( $2 \text{ ton ha}^{-1}$ ) em todos os tratamentos antes da safra de verão 2009/10.

O COT foi superior no PD e no PDE, independente do manejo de culturas, fator atribuído ao menor revolvimento do solo, que preserva sua estrutura e contribui, via agregação, para a proteção e estabilização da matéria orgânica nesses sistemas de manejo (NETO et al., 2010) (Tabela 3.2). Aumentos nos estoques de COT no PD, em relação ao sistema de PC, também foram relatados em estudos

realizados por outros autores (FRANCHINI et al., 2007; BABUJIA et al., 2010; BODDEY et al., 2010; LÓPEZ-GARRIDO et al., 2012).

Na rotação de culturas o COT foi superior na camada superficial de 0-10 cm de profundidade no PD e no PDE, enquanto que no PC foi superior nas camadas de 10-20 cm de profundidade. Ao contrário de outros autores que têm demonstrado que a concentração de COT diminuiu em todos os sistemas de preparo com o aumento da profundidade (THOMAS; DALAL; STANDLEY, 2007; HERNANZ; SÁNCHEZ-GIRÓ; NAVARRETE, 2009), nos manejos em sucessão o COT não houve diferença entre as profundidades no PD e no PDE. Esse resultado pode representar um indicativo da relação entre o acúmulo de COT e o desenvolvimento do sistema radicular, uma vez que a soja apresenta 95% do seu sistema radicular distribuído na profundidade de 0-40 cm (CARDOSO et al., 2006), que aliado ao não revolvimento do solo contribuiu para o aumento do COT.

Um fator que contribui para o declínio da matéria orgânica é a aceleração do processo de mineralização devido às operações de preparo do solo, as quais promovem a quebra dos macroagregados, expondo a matéria orgânica ao ataque dos microrganismos, o que resulta em maior “turnover” (SIX et al., 2004). Já no PD, o “turnover” mais lento dos macroagregados aumenta a formação de microagregados onde as partículas de carbono orgânico são estabilizadas e protegidas ao longo do tempo, proporcionando maior armazenamento de C nesse sistema de manejo (SIX et al., 2001).

Segundo Bossuyt; Six; Hendrix (2002) e Mikha e Rice (2004), a formação de microagregados no interior dos macroagregados serve para proteger o C estável, enquanto os macroagregados são mais importantes para o armazenamento de C lábil.

Em solos de clima tropical e temperado, ocorre um aumento no teor de COT no PD em relação ao PC, de aproximadamente,  $0,325 \pm 0,113 \text{ t C ha}^{-1}\text{ano}^{-1}$  (Six et al., 2001). Segundo Groenigen et al. (2010), o sistema de PD pode promover o armazenamento de C no solo, devido a um aumento proporcional da biomassa tanto de bactérias como de fungos.

Em trabalho recente realizado por Franchini et al. (2012) na mesma área deste estudo, os autores constaram que a fase de estabilização e maturidade do PD e PDE foi de seis anos, tempo este necessário para que ocorresse um aumento no teor de COT no solo. Ainda segundo os autores, o aumento do COT

repercutiu na melhoria da qualidade estrutural do solo, sendo observada após esse período, maior produtividade de soja no PD e no PDE, em comparação ao PC.

Babujia et al. (2010) demonstraram que o ganho de C no PD, quando comparado ao PC, foi de  $0,8 \text{ t C ha}^{-1} \text{ ano}^{-1}$ , que ao longo de um período de 20 anos correspondeu a  $16 \text{ t C ha}^{-1}$ , indicando o potencial do PD no sequestro de carbono, sendo que 67% do carbono foi acumulado na camada de 0-30 cm de profundidade. Six et al. (2000) propuseram que a formação dos microagregados estáveis dentro dos macroagregados é vital para o sequestro de C nos solos sob PD.

Para regiões de clima mais quente, fica evidente a importância do PD na retenção de carbono no solo, devido à presença de cobertura que atua na formação e estabilidade de agregados e ameniza aumentos excessivos da temperatura do solo, diminuindo o processo de decomposição da matéria orgânica e a emissão de  $\text{CO}_2$  para a atmosfera (ÁLVARO-FUENTES et al., 2008).

Assim como o COT, o NT foi significativamente superior no PD e PDE em rotação e sucessão em todas as profundidades analisadas, apresentando valores 50% superiores quando comparado ao PC (Tabela 3.2), demonstrando que o revolvimento do solo diminuiu consideravelmente o teor de nitrogênio, fator que pode ser limitante ao desenvolvimento e rendimento das culturas. Segundo Hungria et al. (2009), a imobilização de N é geralmente mais elevada no sistema PD, enquanto que o PC acelera a mineralização de N, por expor a matéria orgânica e os resíduos culturais a fatores bióticos (fauna do solo) e abióticos (temperatura, umidade e luminosidade) (MORRIS et al., 2010).

Dados obtidos por Babujia et al. (2010) mostraram um acúmulo de N de 0-60 cm de  $1,4 \text{ Mg ha}^{-1}$  em comparação ao PC, resultando em um enriquecimento no solo de  $70 \text{ Kg N ha}^{-1} \text{ ano}^{-1}$ . Gál et al. (2007) constataram, após 28 anos de cultivo, um aumento de  $1,9 \text{ Mg ha}^{-1}$  de N no PD até 30 cm de profundidade.

Franchini et al. (2012) avaliando essa mesma área experimental encontraram maior rendimento do milho nos primeiros seis anos de implantação do PC, o que coincidiu com a fase de estabilização do PD. Segundo os autores esse resultado se deu provavelmente devido à maior imobilização de N no PD, porém, essa diferença diminuiu ao longo do tempo, devido ao cultivo intensivo que aumentou a oxidação da matéria orgânica no PC. Segundo Barreto et al. (2009), a agregação favorece o acúmulo de NT e COT dentro de macroagregados, o que

explica a alta sensibilidade do N aos distúrbios causados no solo. Christopher e Lal (2007) destacaram a importância do N como um componente limitante do processo de humificação, que é essencial para a retenção de C no solo.

No PD e PDE as camadas inferiores do solo (a partir de ~ 25-30 cm) permanecem intactas e todo sistema radicular das plantas será mineralizado por processos menos intensos, aspecto que pode ajudar a compreender o acúmulo de carbono e nitrogênio até 40 cm de profundidade.

O grau de estratificação de C e N em profundidade pode ser considerado como um indicador de qualidade do solo e do funcionamento dos ecossistemas, uma vez que a matéria orgânica em superfície é essencial para o controle da erosão, infiltração de água e conservação de nutrientes (Franzluebbers, 2002). A maior estratificação de COT e NT observada em nosso estudo confirmam os benefícios do sistema de PD em longo prazo para a qualidade do solo.

### 3.6 CONCLUSÕES

1. Os perfis de PD e PDE apresentaram volumes de solo menos compactos que o PC, independente da rotação ou sucessão de culturas.
2. Os manejos com rotação apresentaram volumes de solo menos compactos e mais porosos visualmente do que com a sucessão.
3. O perfil cultural se mostrou uma metodologia capaz de indicar alterações oriundas do manejo na biomassa microbiana de carbono e nitrogênio.
4. Teores significativamente superiores de carbono e nitrogênio microbianos foram encontrados nas UMHs do PD e PDE, independente de rotação ou sucessão de culturas, confirmando a hipótese do trabalho de que alterações na estrutura do solo poderiam se correlacionar com modificações na biomassa microbiana.
5. A biomassa microbiana, o COT, e o NT foram superiores no PD e PDE em comparação ao PC, independente da rotação ou sucessão de culturas.

## 4 ARTIGO B: EFEITO DE DIFERENTES SISTEMAS DE MANEJO DO SOLO NA DIVERSIDADE DAS COMUNIDADES MICROBIANAS

### 4.1 RESUMO

A qualidade do solo e a sustentabilidade dos sistemas de produção agrícola dependem dos processos mediados pelos microrganismos do solo. O objetivo deste trabalho foi avaliar as alterações na diversidade das comunidades bacterianas e fúngicas do solo, através da análise dos genes ribossomais 16S rDNA e 18S rDNA por eletroforese em gel com gradiente desnaturante (DGGE). A avaliação foi realizada em um Latossolo Vermelho distroférico nas profundidades de 0-10, 10-20, 20-30 e 30-40 cm, após 22 anos sob plantio direto (PD), plantio direto escarificado (PDE) e plantio convencional (PC), em rotação (R) e sucessão (S) de culturas. A análise dos perfis de DNA revelou a diferenças entre as profundidades e os sistemas de manejo do solo. O índice de diversidade (H) e o índice de riqueza (ACE) confirmou maior diversidade bacteriana no PD e PDE, nas profundidades e 0-10, 10-20 e 20-30 cm, enquanto, a diversidade fúngica foi maior nesses mesmos tratamentos nas profundidades de 0-10 e 10-20 cm. O índice de riqueza semelhante à diversidade foi maior no PD e PDE. Não foram observadas diferenças na diversidade para os sistemas de manejo de culturas. O índice de equitabilidade, de modo geral, foi elevado em todos os tratamentos, demonstrado a uniformidade dos perfis das comunidades bacterianas e fúngicas, com dominância de algumas comunidades, independentemente do manejo do solo e das culturas. Considerando que o manejo do solo afetou qualitativamente a diversidade das comunidades microbianas, pode-se inferir que esta é favorecida em sistemas agrícolas com menor revolvimento do solo, por permitir a melhor conservação dos nichos ecológicos dessas comunidades. Ao contrário, práticas de revolvimento intensivo do solo podem extinguir vários grupos de microrganismos, podendo resultar em alterações na funcionalidade do solo.

**Palavras-chave:** Plantio direto. Plantio convencional. Rotação de culturas. PCR-DGGE. Preparo do solo.

## EFFECT OF DIFFERENT SOIL MANAGEMENT SYSTEMS AND CULTURES IN DIVERSITY OF MICROBIAL COMMUNITIES

### ABSTRACT

Soil quality and sustainability of agricultural production systems rely on processes mediated by soil microorganisms. The objective of this study was to evaluate changes in the diversity of bacterial and fungal communities in soil by the analysis of ribosomal genes 16S rDNA and 18S rDNA with electrophoresis in denaturing gradient gel (DGGE). The evaluation of performed in an Oxisol at 0-10, 10-20, 20-30 and 30-40 cm depth, after 22 years under tillage (NT), no-till with field cultivator (FC) and conventional tillage (CT) in crop rotation (CR) and crop sequence (CS) cultures. The analysis of DNA profiles detected differences attributed to depths and soil management systems. The diversity index (H) and richness index (ACE) confirmed greater bacterial diversity in NT and FC, depths and 0-10, 10-20 and 20-30 cm, while the fungal diversity was higher at 0-10 and 10-20 cm. No differences in diversity to were attributed crop management systems. The evenness index (E), in general, was high in all treatments, demonstrating the uniformity of the profiles of bacterial and fungal communities, with dominance of some communities, regardless of soil and crop managements. Considering that soil management qualitatively affected the diversity of microbial communities, we can infer that diversity is favored in agricultural systems with low soil disturbance, allowing better conservation of ecological niches of these communities. Instead, practices of intensive soil tillage can extinguish several groups of microorganisms, which may result in changes in soil functionality.

**Key-words:** No-tillage. Conventional tillage. Crop rotation. Crop succession. PCR-DGGE.

### 4.2 INTRODUÇÃO

A manutenção ou melhoria da qualidade do solo é fundamental para garantir e promover a sustentabilidade dos sistemas agrícolas, visando o maior rendimento de culturas e a preservação ambiental (DORAN e JONES, 1996). O manejo adequado dos solos representa o principal fator a ser considerado quando se busca a produção agrícola sustentável, uma vez que os sistemas de preparo e de cultivos interferem de modo significativo em suas propriedades físicas, químicas e biológicas (CARTER, 1986; WAKELIN et al., 2008; GIL et al., 2011), as quais compõem os pilares de sustentação da qualidade do solo. Desse modo, os microrganismos do solo são responsáveis pelo funcionamento dos agroecossistemas, desempenhando papel vital na manutenção da fertilidade do solo e na produtividade agrícola, por seu papel na maioria dos processos no solo, como a

disponibilidade e a retenção de nutrientes, a decomposição de materiais orgânicos, e a estabilidade de agregados (STARK et al., 2008; WAKELIN et al., 2008).

Compreender os principais fatores da distribuição de espécies microbianas e sua função nos solos é de extrema importância, principalmente em áreas agrícolas, onde a necessidade de atender ao aumento da produtividade requer o equilíbrio entre o impacto causado pelas práticas agrícolas e o meio ambiente (WAKELIN et al., 2008).

Dentre os sistemas de preparo do solo, o plantio direto (PD), tem demonstrado melhorar a qualidade estrutural do solo (BALESDENT; CHENU; BALABANE, 2000; NETO et al., 2010; FRANCHINI et al., 2012), fator este que pode favorecer a biodiversidade e a atividade das populações microbianas, bem como a sua resiliência no solo (BANDICK e DICK, 1999; FENG et al., 2003). Inversamente, sistemas de preparo com maior grau de mobilização do solo, podem reduzir a diversidade microbiana, devido à maior desagregação do solo, levando à oxidação da matéria orgânica, que serve como substrato para o crescimento microbiano (FENG et al., 2003; RAHMAN et al., 2008).

Por sua vez, os sistemas de culturas podem influenciar à disponibilidade de nutrientes, a profundidade de exploração radicular, e a quantidade e qualidade dos resíduos vegetais, alterando a atividade e a diversidade microbiana do solo (BALOTA et al., 2004; GIL et al., 2011).

Dentre as metodologias para a avaliação da diversidade microbiana, a PCR-DGGE (Polymerase Chain Reaction-Denaturing Gradient Gel Electrophoresis) tem sido utilizada na avaliação da composição bacteriana e fúngica do solo, sendo capaz de separar fragmentos de DNA de mesmo tamanho, mas com sequências de bases nucleotídicas diferentes, de acordo com os seus teores de CG, levando à formação de diferentes padrões de bandas, característico de cada comunidade (MUYZER; DE WAAL; ULTERRLINDEN, 1993; GIL et al., 2011; LOPES et al., 2011).

A compreensão dos fatores determinantes e seletivos de habitats microbianos no solo ainda é limitada (WAKELIN et al., 2008), devido a complexa interação entre eles, influenciando a função e a diversidade microbiana. Acredita-se na hipótese de que solos com alta diversidade microbiana têm uma maior capacidade tampão frente às mudanças nas condições ambientais, em comparação

com solos com baixa diversidade (SPEDDING et al., 2004; IBEKWE et al., 2007; TREONIS et al., 2010).

Desse modo, o objetivo deste trabalho foi avaliar as modificações na diversidade das comunidades bacteriana e fúngica, em um Latossolo Vermelho distroférico após 22 anos sob plantio direto (PD), plantio direto escarificado (PDE) e plantio convencional (PC) em rotação (R) e sucessão (S) de culturas.

#### 4.3 MATERIAL E MÉTODOS

##### 4.3.1 Caracterização da Área Experimental

O experimento foi estabelecido no verão de 1988/89, em área experimental do Centro Nacional de Pesquisa de soja - Embrapa, localizado a 620 metros de altitude, em Londrina (23°11' S, 51°11' W), Estado do Paraná, Brasil.

De acordo com a classificação de Köeppen, o clima é subtropical úmido do tipo Cfa (clima temperado úmido com verão quente), com temperatura média anual de 21°C, temperatura média máxima de 28,5 °C em fevereiro e média mínima de 13,3 °C em julho. A precipitação média anual é de 1651 mm, sendo o mês mais chuvoso janeiro (217 mm) e o mês mais seco agosto (60 mm). Segundo a classificação brasileira o solo é um Latossolo Vermelho distroférico, muito argiloso, e de acordo com a classificação americana um Rhodic Eutrudox, contendo 710 g de argila, 82 g de silte e 208 g de areia por kg<sup>-1</sup> de solo.

Antes da instalação do experimento a área foi cultivada por cerca de 40 anos com a cultura do café (*Coffea arabica* L.). A área experimental consistiu de parcelas com 7,5 m de largura por 30,0 m de comprimento (225 m<sup>2</sup>), com quatro repetições (quatro parcelas) por tratamento, distribuídas com delineamento em blocos ao acaso em esquema fatorial. O estudo comparou o efeito de três sistemas de manejo do solo: plantio direto (PD), onde a semeadura é realizada sobre os resíduos da cultura anterior, sendo a intervenção mecânica restrita à abertura de uma estreita linha de semeadura (~4 cm de profundidade); plantio direto escarificado (PDE), que se diferenciou do PD pelo fato de a cada três anos, antes da instalação da cultura de inverno, o solo ser submetido a uma intervenção mecânica com a passagem de um escarificador equipado com cinco hastes (~25 cm de profundidade) com o objetivo de romper a camada superficial mais compacta, não sendo adotadas

operações de nivelamento do solo; e, plantio convencional (PC), onde o solo é preparado anualmente com a passagem de arado de discos (~20 a 25 cm), seguido de grade niveladora (~15 cm) precedendo as culturas de verão e, no inverno, com grade pesada (~15 cm), seguida de grade leve (~15 cm). A última passagem do escarificador na área de PD com intervenção mecânica (PDE) foi realizada três anos antes do período de avaliação, logo após a safra de verão 2006/2007, sendo a sexta operação realizada na área desde a instalação do experimento.

Cada sistema de preparo do solo foi submetido ao efeito de cultivos em rotação e sucessão de culturas. No total foram avaliados seis tratamentos: PD (rotação e sucessão), PDE (rotação e sucessão) e PC (rotação e sucessão). A rotação nos últimos treze anos de experimento alternou culturas de inverno e verão, respectivamente, cuja sequência consistiu de tremoço (*Lupinus albus*)/ milho (*Zea mays*)/ aveia-preta (*Avena strigosa*)/ soja (*Glycine max*)/ trigo (*Triticum aestivum*)/ soja/ trigo/ soja, sendo que ao fim dessa sequência, a cada três anos, a rotação se iniciava novamente com o tremoço. Já a sucessão de culturas consistiu da semeadura de soja no verão e trigo no inverno.

No início do experimento o solo recebeu 2 toneladas de calcário  $\text{ha}^{-1}$  para atingir a saturação de bases de 60% e ajustar o pH por volta de 5,5, sendo a manutenção realizada a cada três anos. Quantidades semelhantes de fertilizantes foram aplicadas em todos os tratamentos. Ao longo dos 22 anos do experimento, para a cultura da soja foram adicionados, em média, ao solo 47,0 kg de P  $\text{ha}^{-1}$  (superfosfato triplo) e 41,2 kg de K  $\text{ha}^{-1}$  (cloreto de potássio), não sendo realizada adubação nitrogenada. As sementes de soja foram inoculadas com *Bradyrhizobium japonicum* e *B. elkanii* antes de cada semeadura. Após 10 anos de cultivo da soja, começaram a ser adicionados ao solo 20,0 g de Mo  $\text{ha}^{-1}$  (molibdato de sódio) e 2,0 g de Co  $\text{ha}^{-1}$  (cloreto de cobalto) por ano. Para a cultura do milho foram adicionados ao solo, em média, 19,2 kg de N  $\text{ha}^{-1}$  (uréia), 51,5 kg de P  $\text{ha}^{-1}$  (superfosfato triplo) e 47,0 kg de K  $\text{ha}^{-1}$  (cloreto de potássio), anualmente. Outros macros e micronutrientes foram aplicados quando verificada a necessidade através de análise foliar da safra anterior e da análise de solo antes da semeadura.

Durante os 22 anos do experimento o controle de insetos e doenças foi realizado com a utilização de inseticidas químicos e biológicos, bem como, com o uso de fungicidas, quando verificada a necessidade, igualmente, para todos os tratamentos, segundo recomendações técnicas para a cultura. Os resíduos de

culturas anteriores foram dessecados com o uso de glifosato em todos os tratamentos. Após a semeadura, outros herbicidas foram aplicados no PC, quando verificada a necessidade segundo a análise de infestação e a recomendação de eficácia dos herbicidas para as plantas daninhas predominantes.

#### 4.3.2 Amostragem de Solo

A amostragem do solo para a análise da diversidade microbiana foi realizada em abril de 2010, após a colheita do milho e da soja, nas parcelas em rotação e sucessão de culturas, respectivamente, quando o experimento estava com 22 anos de implantação.

Para a amostragem do solo, os resíduos da colheita foram removidos da superfície do solo. Posteriormente, foram abertas quatro pequenas trincheiras (quatro repetições) por tratamento, de 30 cm de comprimento x 40 cm de largura e 50 cm de profundidade, nas entrelinhas de cultivo. As amostras foram coletadas com o auxílio de uma espátula em quatro profundidades: 0-10, 10-20, 20-30 e 30-40 cm, nos quatro lados da trincheira. As quatro subamostras de cada profundidade foram agrupadas e homogeneizadas, dando origem a uma amostra composta de cerca de 1,0 kg de solo por profundidade. No laboratório, as amostras compostas foram reunidas de acordo com as profundidades, homogeneizadas, e peneiradas (<4 mm, 5 mesh), dando origem a uma amostra por profundidade para cada um dos tratamentos. Amostras com cerca de 150g de solo foram retiradas e armazenadas a -4°C, antes da análise molecular.

#### 4.3.3 Extração do DNA Total do Solo

O DNA microbiano foi extraído de 0,25 g de solo, utilizando o Ultraclean™ DNA Kit (MoBio Laboratories, Inc. Califórnia, EUA), de acordo com as instruções do fabricante. A pureza e concentração do DNA foram avaliadas em gel de agarose 1% (p/v) em tampão TBE 1X, utilizando o Low DNA Mass™ (Invitrogen-Life Technologies) como padrão de peso molecular. Em seguida, foram realizadas duas reações de amplificação do DNA total do solo para as regiões que codificam os genes 16S rDNA e 18S rDNA.

#### 4.3.4 Amplificação do Gene 16S rDNA

Inicialmente, a primeira amplificação do DNA total do solo foi realizada com os *primers* universais fD1 (5'- AGAGTTTGATCCTGGCTCAG -3') e rD1 (5'- AAGGAGGTGATCCAGCC -3'), que amplificam praticamente toda a região do DNA que codifica para o gene 16S rDNA (~ 1500 bp), como descrito por Weisburg et al. (1991).

A primeira reação de amplificação foi preparada com: 3 µL de desoxinucleotídeos (dNTPs) 1,5 mM; 1,5 mL de MgCl<sub>2</sub> 50 mM; 5 µL de tampão 10X [20 mM Tris-HCl (pH 8,4)]; 1,5 µL de cada *primer* (fD1 e rD1) 10 pmoles; 0,2 µL de Taq DNA polimerase 5 U (Invitrogen Corp, Carlsbad, CA); 1 µL de DNA total do solo (~30 ng) e; água Milli-Q estéril para completar um volume final de 50 µL.

A reação de amplificação foi realizada com os seguintes ciclos: 1 ciclo inicial de desnaturação a 95°C por 2 min; 15 ciclos de desnaturação a 94°C por 15 s, 1 ciclo de 93°C por 45 s; 1 ciclo de anelamento dos *primers* a 55°C por 45 s, e 1 ciclo de extensão a 72°C por 2 min. A reação foi finalizada com manutenção a 4°C.

A segunda reação de amplificação foi realizada utilizando 1 µL (~ 20 ng) dos produtos da primeira reação. Os *primers* F-968 (5'- CGCCCGGGGCGCGCCCCGGGCGGGGCGGGGGCACGGGGGAACGCGAAGA ACCTTAC -3'), com um grampo de GC-(sublinhado) e o R-1401 (5'- GCGTGTGTACAAGACCC -3'), foram utilizados para amplificar a região 16S rDNA de aproximadamente 430 pb correspondente à região hipervariável V3 (NÜBEL et al., 1996). A reação de amplificação foi preparada com: 5 µL dNTPs 1,5 mM; 1,3 µL MgCl<sub>2</sub> 50 mM; 2,5 µL de tampão 10X [20 mM Tris- HCl (pH 8.4)]; 1 µL de cada *primer* (F-968 e R-1401) 10 pmoles; 0,2 µL de Taq DNA polimerase 5 U (Invitrogen Corp., Carlsbad, CA); 1 µL do produto da primeira reação de amplificação, com os *primers* fD1 e rD1 (~10 ng) e; água Milli-Q estéril para completar um volume final de 25 µL. Os ciclos de amplificação utilizados foram: 1 ciclo inicial de desnaturação a 94°C por 2 min; 2 ciclos a 94°C por 1 min, a 60°C por 2 min, 72°C por 2 min; 2 ciclos a 94°C por 1 min, 59°C por 2 min, 72°C por 2 min; 2 ciclos a 94°C por 1 min, 58°C por 2 min, 72°C por 2 min; 2 ciclos a 94°C por 1 min, 57°C por 2 min; 72°C por 2 min; 2 ciclos a 94°C por 1 min, 56°C por 2 min, 72°C por 2 min; 20 ciclos a 94°C por 1 min, 55°C por 2 min, 72°C por 2 min; e 1 ciclo a 72°C por 10 min.

#### 4.3.5 Amplificação do Gene 18S rDNA

O gene ribossomal 18S rDNA foi inicialmente amplificado com os *primers* universais EF4f (5'- GGAAGGGRTGTATTTATTAG -3') e EF3r (5'- TCCTCTAAATGACCAGTTTG -3'), que amplifica uma região de aproximadamente 1.500 pb, conforme descrito por Smit et al. (1999). A primeira reação de amplificação foi realizada com: 6,6 µL de dNTPs 1,5 mM; 3,75 µL de MgCl<sub>2</sub> 50 mM; 5 µL de tampão 10X [20 mM Tris-HCl (pH 8,4)]; 1 µL de cada *primer* (EF4f e EF3r) 10 pmoles; 1 µL de Taq DNA polimerase 5 U (Invitrogen Corp, Carlsbad, CA); 2 µL de DNA total do solo (~30 ng) e; água Milli-Q estéril para completar um volume final de 50 µL.

Os ciclos de amplificação utilizados foram os seguintes: 1 ciclo de desnaturação inicial a 94°C por 3 min, 25 ciclos a 94°C por 1 min, 51°C por 1 min, 72°C por 1 min; e 1 ciclo a 72°C por 10 min. A reação foi finalizada com manutenção a 4°C. Os produtos da primeira reação de PCR foram diluídos 1000 vezes e submetidos a uma segunda reação de amplificação.

A segunda amplificação foi realizada utilizando 2 µL (~ 20 ng) da diluição da primeira reação com os *primers* EF4f e EF3r. Os *primers* NS3r (5'- CGCCCGCCGCGCCCCGCGCCCGGCCCGCGCCCCCGCCCGGCTGCTGGCAC CAGACTTG -3') com um grampo de GC-(sublinhado) conforme descrito por White et al. (1990) e EF4f (5'- GGA AGG GRT GTA TTT ATT AG -3') foram utilizados para amplificar a região 18S rDNA de, aproximadamente, 530 pb, correspondente à região hipervariável V9. A reação de amplificação foi realizada com: 6,6 µL de dNTPs 1,5 mM; 3,75 µL de MgCl<sub>2</sub> 50 mM; 5 µL de tampão 10X [20 mM Tris-HCl (pH 8,4)]; 1 µL de cada *primer* (NS3r e EF4f) 10 pmoles; 1 µL de Taq DNA polimerase 5 U (Invitrogen Corp, Carlsbad, CA); 2 µL da primeira reação diluída e; água Milli-Q estéril para completar um volume final de 50 µL. Os ciclos de amplificação utilizados foram: 1 ciclo a 94°C por 4 min; 10 ciclos a 94°C por 1 min; 60°C por 1 min, 72°C por 1 min; 15 ciclos a 94°C por 1 min, 50°C por 1 min, 72°C por 1 min; e 1 ciclo a 72°C por 5 min. A reação foi finalizada com manutenção a 4°C.

Os produtos das amplificações dos genes 16S e 18S rDNA foram visualizados por eletroforese através da aplicação de 2 µL dos produtos da amplificação do 16S rDNA e 18S rDNA em gel de agarose 1% (p/v) em tampão TBE 1X. O gel foi corado com brometo de etídio (0,3 µg mL<sup>-1</sup>) e visualizado sob luz UV.

Após ter a pureza confirmada, os produtos da amplificação foram submetidos à análise de eletroforese em gel de gradiente desnaturante (DGGE).

#### 4.3.6 DGGE da Comunidade Bacteriana e Fúngica

A análise de DGGE foi realizada em um sistema D-Code (Bio-Rad, Hercules, CA, EUA), com aplicação de 25 µL dos produtos da segunda amplificação dos genes 16SrDNA e 18S rDNA.

Para a análise da comunidade bacteriana foram feitos geis de poliacrilamida a 6% (p/v), com gradiente desnaturante variando de 35 a 60%, utilizando uma mistura de solução 100% desnaturante [ureia 7 M e formamida 40% (v/v)] com solução 0% desnaturante (sem adição de uréia e formamida). A eletroforese foi realizada com tampão TAE 0,5 X [10,0 mM Tris-acetato e 0,5 mM de EDTA dissódico (pH 8,3)], e voltagem constante de 100 V, a 60°C durante 16 h.

Para análise da comunidade fúngica foram feitos geis de poliacrilamida a 8% (p/v), com gradiente desnaturante variando de 35% a 50%, utilizando uma mistura de solução 100% desnaturante [ureia 7 M e formamida a 40% (v/v)] com solução 0% desnaturante (sem adição de ureia e formamida). O gel foi submetido à eletroforese com tampão TAE 1 X, e voltagem constante de 85 V, a 55°C por 17 h.

Antes de ser realizada a eletroforese, os géis foram submetidos a uma pré-corrída a 100 V durante 1 h. Os géis foram corados durante 4 minutos com brometo de etídio e fotografado sob luz UV.

#### 4.3.7 Análise Estatística

Os geis de DGGE foram analisados usando o software BioNumerics (Applied Mathematics, Kortrijk, na Bélgica, v.4.6). Um padrão contendo uma mistura de bactérias e outro contendo uma mistura de fungos foram preparados no laboratório e utilizados como marcador nos geis de 16S rDNA e 18S rDNA, respectivamente. O padrão de bactérias consistiu de uma mistura em iguais proporções, de: *Burkholderia*, *Bradyrhizobium*, *Methylobacterium*, *Azorhizobium* e *Rhizobium*, enquanto o padrão de fungos consistiu da mistura, de: *Rhizopus*, *Sclerotinia*, *Trichoderma*, *Aspergillus*, *Alternaria* e *Fusarium*. Uma alíquota de 25 µL

dos padrões foi aplicada em duas canaletas correspondentes às extremidades de cada gel. Os geis foram normalizados através da identificação das bandas dos respectivos padrões.

As análises de agrupamento genético dos perfis de DNA obtidos por DGGE foram analisados estatisticamente, utilizando o método da média aritmética não ponderada (UPGMA) segundo Sneath e Sokal (1973), e o coeficiente de Jaccard, com tolerância de 5%.

O índice de diversidade de Shannon (H), equitabilidade (E) e o índice de riqueza (ACE) foram analisados para cada tratamento utilizando o software SPADE (Abundance-Based Coverage Estimator) conforme Chao e Shen (2009), considerando o tamanho da amostra de 100 e o valor de corte de 4,0.

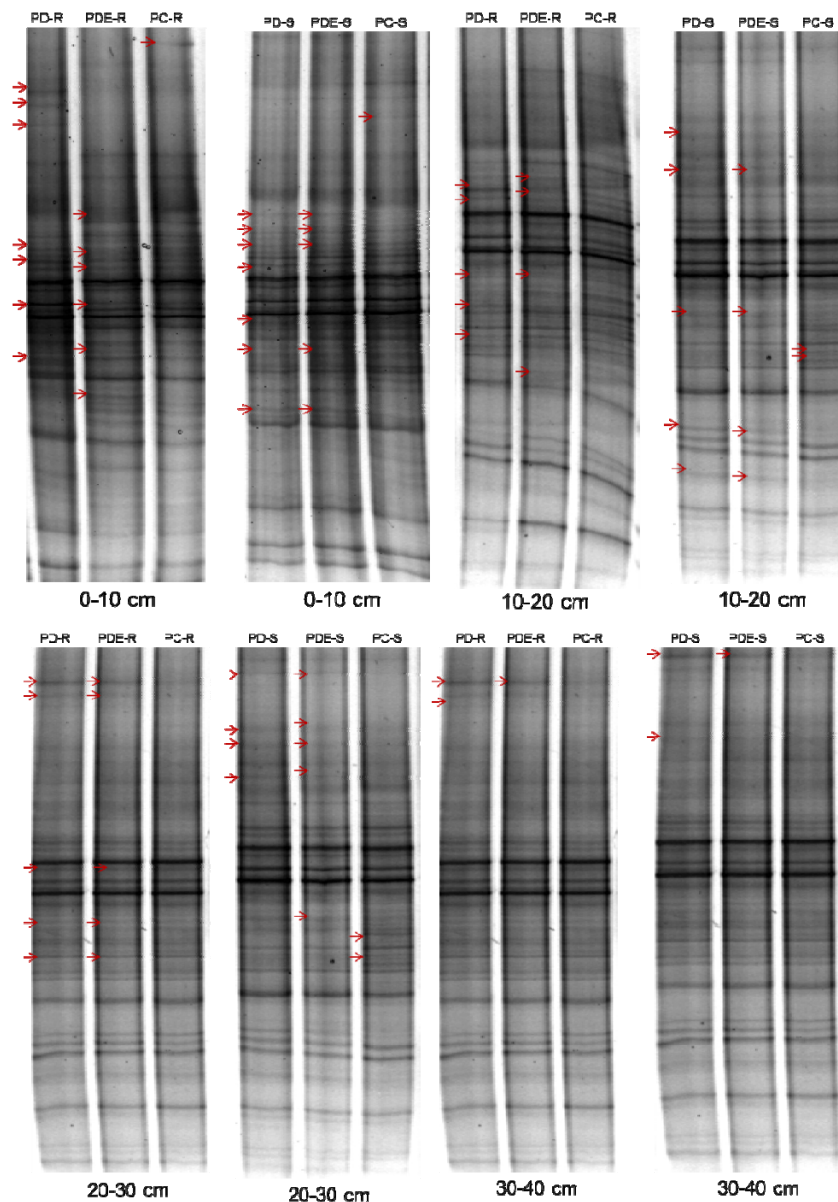
O índice de riqueza genética das populações de cada tratamento foi calculado com o índice ACE (“abundance-based coverage estimator”), uma estimativa não-paramétrica proposta por Chao e Lee (1992), na qual as espécies observadas são separadas em dois grupos: raros e abundantes. Nessa análise, somente os indivíduos do grupo raro são usados para estimar o número de espécies ausentes.

#### 4.4 RESULTADOS

A análise dos perfis de DGGE dos genes 16S rDNA e 18S rDNA, indicou diferenças entre os manejos do solo nas diferentes profundidades, considerando a intensidade das bandas e sua posição no gel (Figura 4.1). Desse modo, os resultados confirmam que, após 22 anos, os sistemas de manejo do solo e de culturas afetaram qualitativamente a diversidade das comunidades bacterianas e fúngicas do solo. Os perfis de DGGE apresentaram algumas bandas de maior intensidade, correspondentes às comunidades dominantes no solo, e um maior número de bandas de menor intensidade, correspondentes às comunidades menos dominantes. A análise também revelou que a maioria dos perfis de 16S rDNA e 18S rDNA foram comuns para todos os tratamentos e profundidades, indicando a presença de comunidades já estabelecidas no solo, independente do manejo do solo e das culturas. Os perfis de DNA das comunidades microbianas apresentaram maior número de bandas no PD e PDE, que corresponderam às comunidades não dominantes no solo (Figura 4.1).

Em rotação de culturas na profundidade de 0-10 cm, o PD apresentou sete comunidades bacterianas e o PDE seis comunidades, ausentes no PC conforme indicado pelas setas na Figura 4.1. Na sucessão de culturas, o PD apresentou sete comunidades bacterianas e o PDE cinco comunidades, não observadas no PC (Figura 4.1). Já o PC, apresentou em rotação e sucessão de culturas uma comunidade ausente no PD e PDE (Figura 4.1).

**Figura 4.1** – Perfis de PCR-DGGE das comunidades bacterianas de um Latossolo Vermelho distroférico de Londrina/PR, em diferentes profundidades, após 22 anos sob plantio direto (PD), plantio direto escarificado (PDE) e plantio convencional (PC) com rotação(R) e sucessão (S) de culturas. Rotação: tremoço/milho/aveia-preta/soja/trigo/soja/trigo/soja; Sucessão: soja /trigo.



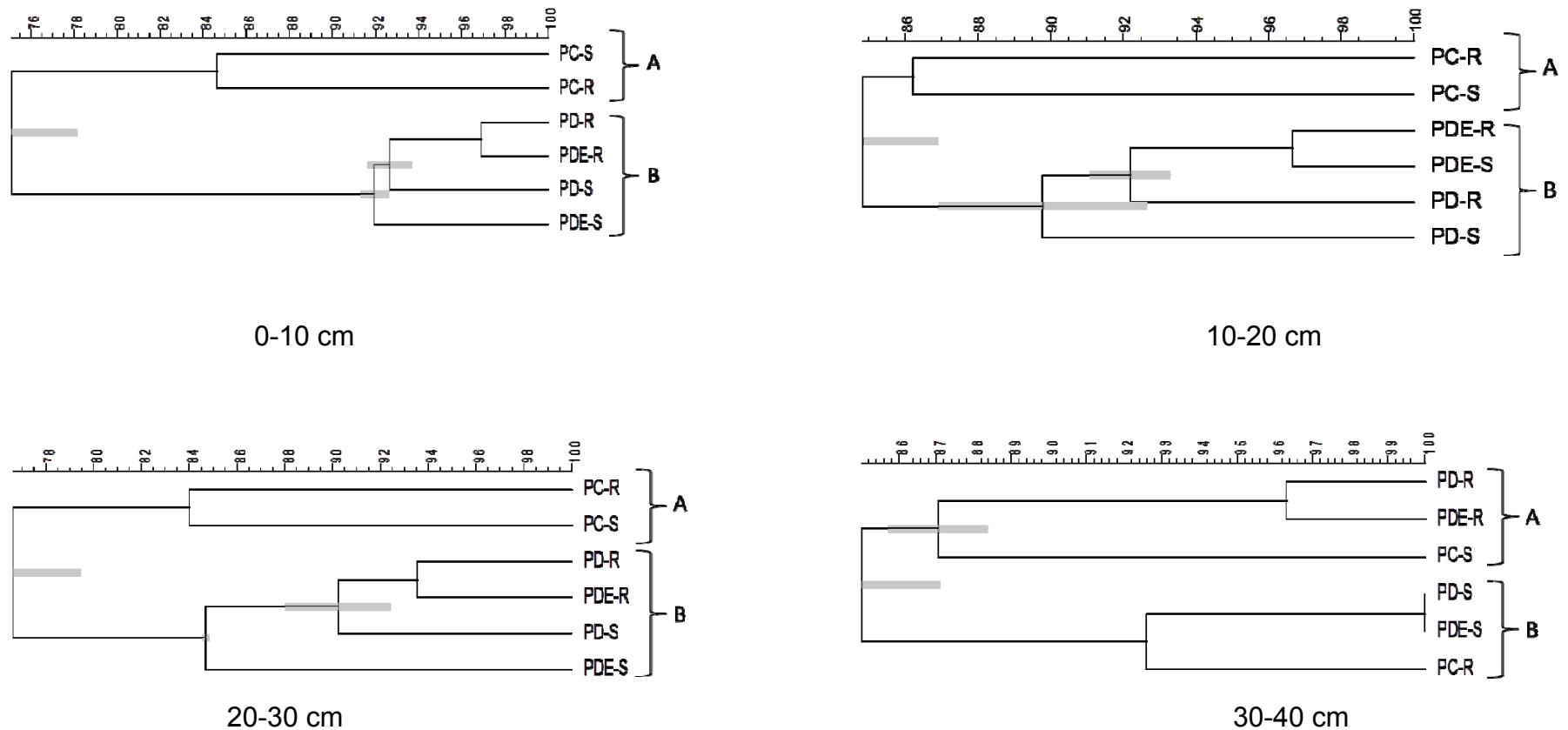
Na profundidade de 10-20 cm, tanto em rotação como em sucessão de culturas, o PD e o PDE apresentaram, respectivamente, cinco e quatro comunidades bacterianas ausentes no PC em rotação e sucessão (Figura 4.1). Porém, o PC em sucessão apresentou uma comunidade bacteriana não observada no PD e PDE (Figura 4.1).

De 20-30 cm de profundidade em rotação, o PD e o PDE apresentaram cinco comunidades bacterianas, ausentes no PC (Figura 4.1). Em sucessão, o PD e o PDE apresentaram quatro e cinco comunidades bacterianas, respectivamente, ausentes no PC (Figura 4.1). Já o PC, em sucessão apresentou duas comunidades não observadas no PD e PDE (Figura 4.1).

Finalmente, na profundidade de 30-40 cm, tanto em rotação como em sucessão de culturas, o PD apresentou duas comunidades bacterianas, e o PDE uma comunidade, não observadas no PC em rotação e sucessão (Figura 4.1).

A análise de agrupamento separou o PD e o PDE do PC até as profundidades de 0-30 cm. De 0-10 cm de profundidade o agrupamento dividiu os tratamentos em dois grupos principais, A e B, com  $75,1\% \pm 3,64\%$  de similaridade (Figura 4.2). O grupo A incluiu o PC-R e o PC-S. O grupo B se subdividiu em dois subgrupos, com  $91,9\% \pm 0,63\%$ . O primeiro subgrupo ainda se subdividiu em dois grupos com  $95,2\% \pm 1,07\%$  de similaridade, e incluiu o PD-R, PDE-R e o PD-S. O segundo subgrupo incluiu apenas o PDE-S (Figura 4.2).

**Figura 4.2** – Dendrogramas de similaridade das comunidades bacterianas de um Latossolo Vermelho distroférrico em diferentes profundidades, após 22 anos sob plantio direto (PD), plantio direto escarificado (PDE) e plantio convencional (PC) com rotação(R) e sucessão (S) de culturas.



Para análise utilizou-se o coeficiente de Jaccard com tolerância de 5% e o algoritmo UPGMA. Rotação: tremoço/milho/aveia- preta/soja/trigo/soja/trigo/soja; Sucessão: soja/trigo.

Na profundidade de 10-20 cm, dois grupos, A e B, foram formados com  $84,8\% \pm 2,07\%$  de similaridade, sendo que o grupo A incluiu o PC-R e o PC-S (Figura 4.2). O grupo B se subdividiu em dois subgrupos com  $89,7\% \pm 2,86\%$  de similaridade, que incluíram o PDE-R, PDE-S e o PD-R. O segundo subgrupo que incluiu apenas o PD-S (Figura 4.2).

Novamente, de 20-30 cm de profundidade o agrupamento dividiu os tratamentos em dois grupos principais, A e B, com  $76,6\% \pm 2,81\%$  de similaridade (Figura 4.2). O grupo A incluiu o PC-R e o PC-S. O grupo B se subdividiu em dois subgrupos, com  $90,2\% \pm 2,20\%$  de similaridade, que incluíram o PD-R, PDE-R e o PD-S. O segundo subgrupo formado incluiu apenas o PDE-S (Figura 4.2).

Na última profundidade, de 30-40 cm os grupos A e B foram formados com  $85,0\% \pm 2,09\%$  de similaridade, entretanto, não houve uma separação dos tratamentos segundo o grau de revolvimento causado no solo (Figura 4.2). O grupo A foi subdividido em dois subgrupos com  $87,0\% \pm 1,31\%$  de similaridade, incluindo o PD-R, PDE-R e o PC-S, enquanto o grupo B incluiu o PD-S e o PDE-S, que apresentaram perfil similar das comunidades bacterianas, além do PC-R (Figura 4.2).

O índice de diversidade (H) mostrou maior valor para a comunidade bacteriana no PD e PDE para as profundidades de 0-10, 10-20 e 20-30 cm, quando comparadas ao PC, independente dos sistemas de manejo das culturas. Na profundidade de 30-40 cm não houve diferenças entre os tratamentos (Tabela 4.1).

**Tabela 4.1** – Índices<sup>1</sup> de diversidade da comunidade bacteriana de um Latossolo Vermelho distroférrico após 22 anos sob plantio direto (PD), plantio direto escarificado (PDE) e plantio convencional (PC) em rotação (R<sup>2</sup>) e sucessão (S) de culturas.

	PD-R	PD-S	PDE-R	PDE-S	PC-R	PC-S
<b>0-10 cm</b>						
Índice de diversidade (H)	3,362±0,070 <sup>2</sup>	3,391±0,069	3,327±0,072	3,362±0,068	3,091±0,080	3,096±0,074
Índice de riqueza (ACE)	208,08±122,8	162,4±82,0	195,5±115,0	208,8±122,8	44,9±12,5	37,6±8,3
Equitabilidade (E)	0,979	0,978	0,978	0,988	0,972	0,961
Total de bandas	31	32	30	30	24	25
<b>10-20 cm</b>						
Índice de diversidade (H)	3,395±0,069	3,358±0,070	3,362±0,070	3,358±0,072	3,206±0,071	3,142±0,068
Índice de riqueza (ACE)	222,5±130,9	152,4±76,9	208,8±122,8	152,4±76,9	43,0±9,3	35,9±5,4
Equitabilidade (E)	0,979	0,977	0,979	0,987	0,972	0,964
Total de bandas	32	31	31	30	27	26
<b>20-30 cm</b>						
Índice de diversidade (H)	3,338±0,074	3,269±0,079	3,304±0,077	3,320±0,072	3,098±0,071	2,973±0,074
Índice de riqueza (ACE)	100,8±40,3	107,4±47,8	114,9±51,3	111,8±49,5	35,2±5,6	30,3±4,9
Equitabilidade (E)	0,981	0,970	0,971	0,976	0,974	0,923
Total de bandas	30	29	30	30	24	25
<b>30-40 cm</b>						
Índice de diversidade (H)	3,231±0,078	3,194±0,082	3,210±0,076	3,210±0,076	3,113±0,085	3,070±0,087
Índice de riqueza (ACE)	82,3±32,5	115,4±63,4	90,7±39,7	89,7±38,5	79,8±35,0	73,6±32,1
Equitabilidade (E)	0,980	0,969	0,985	0,973	0,967	0,966
Total de bandas	27	27	26	27	25	24

<sup>1</sup>Valores seguidos de ± erro padrão

<sup>2</sup>Rotação: tremoço/milho/aveia-preta/soja/trigo/soja/trigo/soja; Sucessão: soja/trigo.

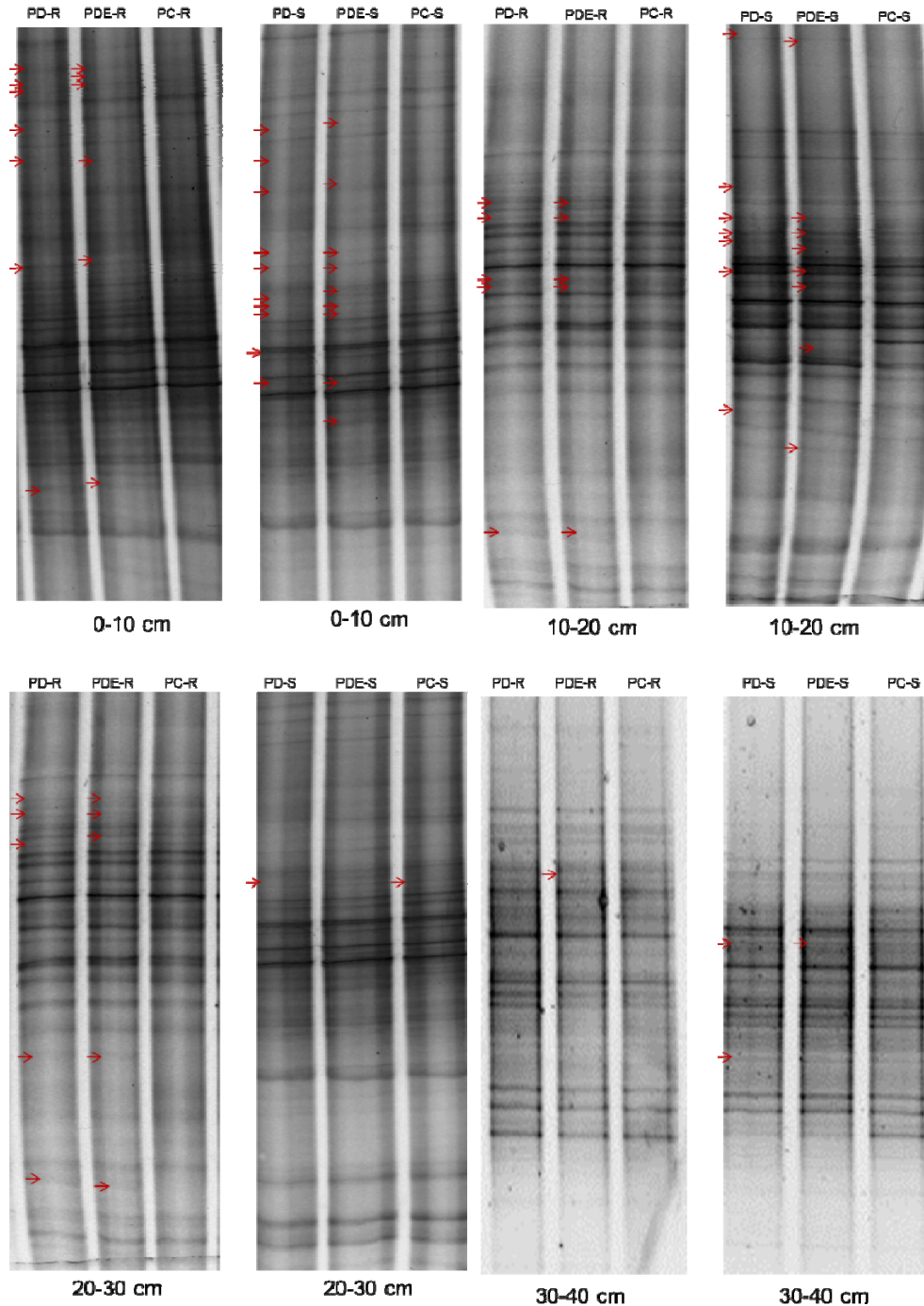
SPADE: m=100 (tamanho da amostra) e K=4 (valor de corte)

O índice de riqueza (ACE), semelhante ao índice de Shannon (H) também foi maior no PD e PDE para as profundidades de 0-10, 10-20 e 20-30 cm, independente do manejo de culturas. Para a profundidade de 30-40 cm não houve diferença entre os tratamentos (Tabela 4.1).

De modo geral, o índice de equitabilidade (E) apresentou valores elevados em todos os tratamentos para todas as profundidades, apresentando apenas pequenas variações entre os tratamentos (Tabela 4.1).

Na análise da diversidade fúngica, nota-se que o PD e o PDE em rotação apresentaram, na profundidade de 0-10 cm, sete e seis comunidades, respectivamente, não observadas no PC (Figura 4.3). Já em sucessão, o PD e o PDE apresentaram, respectivamente, dez e nove comunidades ausentes no PC (Figura 4.3).

**Figura 4.3** – Perfil de PCR-DGGE das comunidades fúngicas de um Latossolo Vermelho distroférrico de Londrina/PR, em diferentes profundidades, após 22 anos sob plantio direto (PD), plantio direto escarificado (PDE) e plantio convencional (PC) com rotação(R) e sucessão (S) de culturas.



Rotação: tremoço/milho/aveia-preta/soja/trigo/soja/trigo/soja; Sucessão: soja /trigo.

De 10-20 cm de profundidade, o PD e o PDE em rotação apresentaram cinco comunidades ausentes no PC em rotação (Figura 4.3). Na

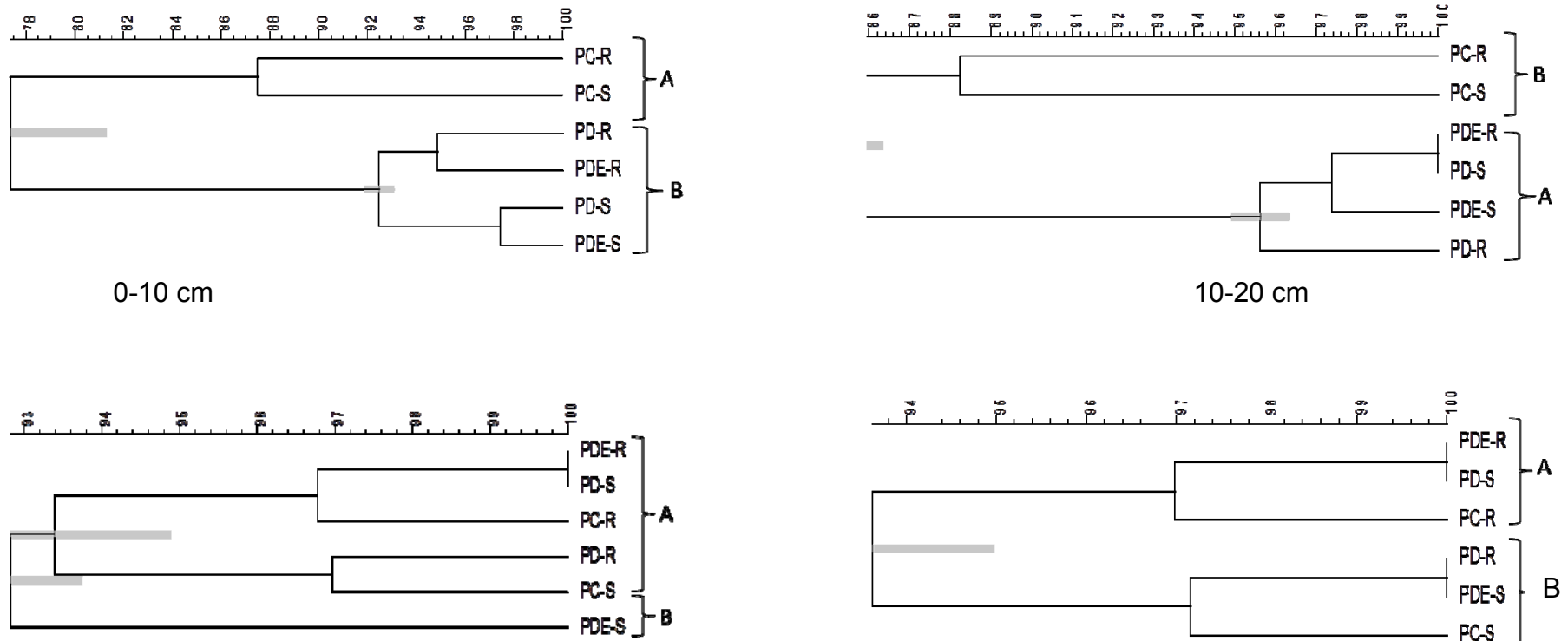
sucessão de culturas o PD e o PDE, apresentaram, respectivamente, sete e oito comunidades, não observadas no PC (Figura 4.3).

Quando analisada a profundidade de 20-30 cm, o PD e o PDE em rotação apresentaram cinco comunidades fúngicas ausentes no PC (Figura 4.3). Já na sucessão de culturas, não houve diferença no número das comunidades entre o PD e o PC, que apresentaram uma comunidade ausente no PDE (Figura 4.3).

Finalmente, na profundidade de 30-40 cm, não houve diferença no número de comunidades entre o PD e o PC em rotação de culturas. Já o PDE apresentou uma única comunidade fúngica ausente no PD e PC. Nota-se na sucessão de culturas, que o PD apresentou duas comunidades e o PDE uma comunidade, não observada no PC (Figura 4.3).

A análise de agrupamento da comunidade fúngica na profundidade de 0-10 cm dividiu os tratamentos em dois grupos, A e B, com  $77,3 \pm 3,95\%$  de similaridade (Figura 4.4). O grupo A incluiu os manejos de PC-R e PC-S. O grupo B se subdividiu em dois subgrupos com  $92,4 \pm 0,61\%$  de similaridade, incluindo o PD-R, PDE-R, PD-S e o PDE-S (Figura 4.4).

**Figura 4.4** – Dendrograma de similaridade das comunidades fúngicas de um Latossolo Vermelho distroférico em diferentes profundidades, após 22 anos sob plantio direto (PD), plantio direto escarificado (PDE) e plantio convencional (PC) com rotação(R) e sucessão (S) de culturas.



Para análise utilizou-se o coeficiente de Jaccard com tolerância de 5% e o algoritmo UPGMA. Rotação: tremço/milho/aveia-preta/soja/trigo/soja/trigo/soja; Sucessão: soja /trigo.

Novamente dois grupos foram formados na profundidade de 10-20 cm, com  $85,2\% \pm 0,41\%$  de similaridade. O grupo A incluiu o PC-R e o PC-S. O grupo B se subdividiu em dois subgrupos com  $95,6\% \pm 0,71\%$  de similaridade, incluindo o PDE-R, e o PD-S, que apresentaram perfil similar da comunidade fúngica, além do PDE-R e PD-R (Figura 4.4).

Na profundidade de 20-30 cm, foram formados dois grupos, A e B, com  $92,8\% \pm 0,91\%$  de similaridade (Figura 4.4). Ao contrário das demais profundidades, não houve diferença entre os manejos do solo. O grupo A se subdividiu em dois subgrupos com  $93,3\% \pm 1,48\%$  de similaridade, que incluíram o PDE-R, e o PD-S que apresentaram perfil similar de bandas, além do PC-R e PD-R. PDE-S. O grupo B incluiu apenas o PDE-S (Figura 4.4).

Finalmente, na profundidade de 30-40 cm dois grupos, A e B, foram formados com  $94,6\% \pm 1,01\%$  de similaridade. O grupo A incluiu o PDE-R e o PD-S, que apresentaram perfil similar das comunidades fúngicas, e o PC-R (Figura 4.4). O grupo B incluiu o PD-R e o PDE-S que também apresentaram perfil similar de bandas, e o PC-S.

O índice de diversidade (H) mostrou maior valor para a comunidade fúngica no PD e PDE para as profundidades de 0-10 e 10-20 cm, quando comparadas ao PC, independente do sistema de manejo das culturas. Para as profundidades de 20-30 e 30-40 cm não houve diferenças entre os tratamentos (Tabela 4.2).

**Tabela 4.2** – Índices<sup>1</sup> de diversidade da comunidade fúngica de um Latossolo Vermelho distroférrico após 22 anos sob plantio direto (PD), plantio direto escarificado (PDE) e plantio convencional (PC) em rotação (R<sup>2</sup>) e sucessão (S) de culturas.

	PD-R	PD-S	PDE-R	PDE-S	PC-R	PC-S
<b>0-10 cm</b>						
Índice de diversidade (H)	3,576±0,060	3,651±0,057	3,548±0,062	3,603 ±0,059	3,341±0,075	3,241±0,073
Índice de riqueza (ACE)	314,0±184,7	266,8±135,5	297,6 ±175,1	330,8 ±194,6	72,5±22,2	49,5±12,1
Equitabilidade (E)	0,983	0,996	0,982	0,990	0,972	0,962
Total de bandas	38	39	37	38	31	29
<b>10-20 cm</b>						
Índice de diversidade (H)	3,395±0,069	3,358 ±0,070	3,362 ±0,070	3,358 ±0,070	3,206±0,071	3,142±0,068
Índice de riqueza (ACE)	222,5±130,9	152,4±76,9	208,8±122,8	152,4±76,9	43,0 ±9,3	35,9 ±5,4
Equitabilidade (E)	0,940	0,929	0,931	0,923	0,925	0,923
Total de bandas	37	37	37	38	32	30
<b>20-30 cm</b>						
Índice de diversidade (H)	3,403±0,072	3,288±0,074	3,320±0,072	3,355 ±0,070	3,268±0,077	3,268±0,073
Índice de riqueza (ACE)	114,2±45,9	133,4±67,1	111,8±49,5	119,3±53,0	88,3±35,0	65,3±20,9
Equitabilidade (E)	0,981	0,976	0,976	0,976	0,980	0,970
Total de bandas	32	29	30	31	28	29
<b>30-40 cm</b>						
Índice de diversidade (H)	3,193±0,080	3,187±0,081	3,231±0,078	3,154±0,081	3,154±0,081	3,113±0,083
Índice de riqueza (ACE)	76,6±30,0	76,5±29,7	82,3±32,5	71,1±27,7	71,1±27,7	65,8±25,5
Equitabilidade (E)	0,980	0,966	0,980	0,968	0,968	0,967
Total de bandas	26	27	27	26	26	25

<sup>1</sup>Valores seguidos de ± erro padrão

<sup>2</sup>Rotação: tremoço/milho/aveia-preta/soja/trigo/soja/trigo/soja; Sucessão: soja/trigo.

SPADE: m=100 (tamanho da amostra) e K=4 (valor de corte)

O índice de riqueza (ACE), semelhante ao índice de diversidade (H) foi maior no PD e PDE para as profundidades de 0-10 e 10-20 cm, enquanto para as profundidades de 20-30 e 30-40 cm não houve diferenças entre os tratamentos (Tabela 4.2).

O índice de equitabilidade (E) apresentou valores elevados em todos os tratamentos e profundidades, entretanto, os maiores valores foram observados no PD e no PDE na profundidade de 0-10 cm e os menores na profundidade de 10-20 cm em todos os tratamentos (Tabela 4.2).

Quando considerados apenas os manejos do solo, o PD e PDE apresentaram maior diversidade (H) e índice de riqueza (ACE) que o PC, para as comunidades bacterianas e fúngicas do solo (Tabela 4.3). Para os sistemas de manejo de culturas, não foram observadas diferenças na diversidade e no índice de riqueza (Tabela 4.3).

**Tabela 4.3** – Índices<sup>1</sup> de diversidade das comunidades microbianas de um Latossolo Vermelho distroférico após 22 anos sob plantio direto (PD), plantio direto escarificado (PDE) e plantio convencional (PC) em rotação (R<sup>2</sup>) e sucessão (S) de culturas.

	<b>Comunidade bacteriana</b>		
	<b>PD</b>	<b>PDE</b>	<b>PC</b>
Índice de diversidade (H)	3,317±0,073	3,306±0,072	3,098±0,076
Índice de riqueza (ACE)	143,91±74,57	146,57±77,06	47,53±25,13
	<b>R</b>	<b>S</b>	
Índice de diversidade (H)	3,253±0,074	3,228±0,074	
Índice de riqueza (ACE)	118,87±59,80	106,47±50,70	
	<b>Comunidade fúngica</b>		
	<b>PD</b>	<b>PDE</b>	<b>PC</b>
Índice de diversidade (H)	3,381±0,070	3,366±0,070	3,216±0,075
Índice de riqueza (ACE)	169,55±87,58	171,76±91,51	61,42±35,13
	<b>R</b>	<b>S</b>	
Índice de diversidade (H)	3,333±0,072	3,309±0,071	
Índice de riqueza (ACE)	141,89±72,13	126,6±60,44	

<sup>1</sup> Valores seguidos de ± erro padrão

<sup>2</sup> Rotação: tremoço/milho/aveia-preta/soja/trigo/soja/trigo/soja; Sucessão: soja/trigo.

#### 4.5 DISCUSSÃO

Conhecer os efeitos das práticas agrícolas sobre a microbiota é de grande importância, uma vez que os microrganismos desempenham papel fundamental na fertilidade e qualidade dos solos agrícolas (GU et al., 2009; YIN et al., 2010). Deste modo, os manejos do solo e de culturas podem resultar em diferentes disponibilidades e qualidade de substratos, que por sua vez podem promover ou inibir o estabelecimento de diferentes comunidades microbianas (GIL et al., 2011). A avaliação da diversidade microbiana tem sido realizada na camada superficial do solo, por ser considerada a região de maior atividade biológica e onde se concentra a maior parte das raízes das plantas. Poucos estudos têm considerado a diversidade em horizontes mais profundos do solo (BUNDT et al., 2001; FIERER et al., 2003).

Neste trabalho, após 22 anos de cultivo, a avaliação da diversidade do solo mostrou mudanças no perfil dessas comunidades microbianas em diferentes profundidades por ação do manejo do solo.

Para os perfis de 16S rDNA, a análise de agrupamento, o índice de diversidade (H) e a riqueza (ACE) mostraram maior diversidade bacteriana no PD e PDE para as profundidades de 0-10, 10-20 e 20-30 cm, independente do manejo de culturas, em comparação ao PC (Figura 4.2 e Tabela 4.1). O índice de equitabilidade (E) foi elevado para todos os tratamentos nas diferentes profundidades, demonstrando a uniformidade na distribuição das comunidades bacterianas, com dominância de algumas comunidades, independentemente do manejo do solo e de culturas.

Para os perfis de 18S rDNA, a análise de agrupamento, o índice de diversidade (H) e a riqueza (ACE) mostraram maior diversidade fúngica no PD e PDE para as profundidades de 0-10 e 10-20 cm, independente do manejo de culturas, em comparação ao PC (Figura 4.4 e Tabela 4.2). Os maiores valores de equitabilidade foram encontrados no PD e PDE para a profundidade de 0-10 cm, enquanto os menores valores foram encontrados na profundidade de 10-20 cm para todos os tratamentos. Considerando que a intensidade das bandas reflete a abundância das populações, pode-se inferir que algumas comunidades microbianas foram mais abundantes nos solos, independente da profundidade e dos manejos do solo.

Os resultados mostraram que as operações de preparo com maior revolvimento do solo foram as principais responsáveis pelas mudanças na diversidade bacteriana e fúngica do solo (Tabela 4.3).

Segundo Sparling (1997) e Gil et al. (2011), as alterações na estrutura do solo devido ao intenso revolvimento afetam a percolação de água, temperatura, aeração e aumentam a erosão do solo, reduzindo significativamente as comunidades microbianas. Em contrapartida, sistemas de manejo com menor grau de revolvimento do solo favorecem a formação e estabilização de macroagregados (BEARE; HENDRIX; COLEMAN, 1994), que aliada à proteção do solo mediante cobertura, resulta em maior retenção de umidade, maior efeito rizosférico das culturas, maior disponibilidade de matéria orgânica, melhores condições químicas e físicas do solo, e redução de temperaturas extremas, proporcionando proteção ao habitat dos microrganismos do solo, o que contribui para a maior diversidade microbiana nesses sistemas (WAKELIN et al., 2008; GIL et al., 2011).

O preparo do solo com aração e gradagem reduz o teor de matéria orgânica, principalmente nas regiões de clima tropical (KASCHUK; ALBERTON; HUNGRIA, 2010; BALOTA e AUER, 2011). A matéria orgânica, além de favorecer a agregação do solo, constitui um importante reservatório de nutrientes que estimula o crescimento e a atividade dos microrganismos (GIL et al., 2011). De acordo com alguns trabalhos, a agregação do solo pode causar maior impacto na diversidade microbiana que fatores como o pH do solo e diferentes resíduos orgânicos (WAKELIN et al., 2008; YIN et al., 2010; TREONIS et al., 2010).

Diversos trabalhos tem demonstrado maior diversidade microbiana no PD em comparação ao PC (PEIXOTO et al., 2006; MINOSHIMA et al., 2007; WHITE e RICE, 2009; SILVA et al., 2012). Entretanto, ao contrário deste trabalho, as diferenças encontradas por esses autores foram na camada superficial de 0-10 cm do solo. O menor revolvimento do solo, aliado à constante deposição de resíduos culturais no PD contribui com a estratificação vertical da matéria orgânica no perfil do solo (FRANZLUEBBERS, 2002), o que pode explicar a maior diversidade microbiana no PD e PDE em profundidade. Segundo Helgason et al. (2010) devido à dependência das comunidades microbianas sobre a qualidade e a disponibilidade de resíduos orgânicos, mudanças em sua distribuição através da estratificação da matéria orgânica pode afetar a diversidade microbiana.

Já, no PC ocorre uma redução na estratificação da matéria orgânica, devido à redistribuição dos resíduos orgânicos na camada arável, o que possivelmente explicaria a menor diversidade microbiana também em profundidade. Segundo alguns autores, a profundidade tem sido considerada como um fator determinante da estrutura das comunidades microbianas do solo, devido à redistribuição de carbono em profundidade (BAUSENWEIN et al., 2008; HANSEL et al., 2008; WANG et al., 2009)

Apesar da ênfase dada na diversificação de plantas, por promover a diversificação de resíduos orgânicos no solo, podendo contribuir com a diversidade das comunidades microbianas (JOHNSON; LEE; SCOW, 2003) não foram observadas diferenças entre os sistemas de rotação e sucessão de culturas (Tabela 4.3). Possivelmente, a sequência de culturas na rotação pode explicar essa resposta, já que a partir da safra de verão 2006/2007 até a safra de verão 2008/2009 a soja e o trigo foram utilizados como cultivos de verão e inverno, respectivamente, semelhante à sucessão.

A complexidade dos efeitos da rotação se deve a diferenças na composição da matéria orgânica e alterações durante o processo de decomposição, que podem modificar a disponibilidade de substratos e, conseqüentemente, a diversidade microbiana (MARSCHNER; KANDELER; MARSCHNER, 2003).

Segundo Buyer; Roberts; Russek-Cohen (1999) o tipo de solo, o clima e as práticas culturais têm maior influência sobre a diversidade microbiana do solo do que o tipo de resíduo presente no solo.

Silva et al. (2012), avaliando diferentes sistemas de manejo, observaram que mesmo sistemas com menor revolvimento do solo, como por exemplo, a escarificação do solo, podem resultar em uma diminuição da diversidade microbiana, em comparação ao PD. Segundo os autores, o revolvimento do solo pode eliminar grupos de microrganismos, afetando a qualidade do solo. Entretanto, não foram encontradas, neste estudo, diferenças entre o PD e o PDE, o que pode estar ligado ao fato de a última passagem do escarificador na área ter sido realizada há quase três anos havendo, dessa forma, um período de tempo para a microbiota se reestabelecer.

Diferenças na estrutura das comunidades microbianas devido ao preparo do solo são mais difíceis de serem detectadas durante o desenvolvimento das culturas devido à sua influência sobre a comunidade microbiana, como por

exemplo, a liberação de exsudatos pelas raízes (DRIJBER et al, 2000; SPEDDING et al, 2004). Neste trabalho, as coletas de solo para avaliação da diversidade microbiana foram realizadas após a colheita das culturas, o que pode ter contribuído para detectar diferenças entre os sistemas de manejo do solo.

Segundo Guggenberger et al. (1999) e Simpson et al. (2004), os fungos têm maior influência na estabilidade de agregados no PD, com um aumento proporcional da biomassa fúngica em detrimento das bactérias nesse sistema de manejo, devido ao seu papel na decomposição de resíduos culturais, o que também explica a maior diversidade fúngica no PD para as profundidades de 0-10 e 10-20 cm (Tabela 4.2). Já no PC, o revolvimento do solo durante a aração rompe as hifas fúngicas, o que contribuiu na diminuição da diversidade de fungos nesse sistema (ALGUACIL et al., 2008).

Estudos apontam que agregados maiores apresentaram uma proporção mais elevada de fungos:bactérias, sendo que a diminuição dessa proporção da biomassa leva à diminuição do tamanho dos agregados (Six et al, 2004; Helgason et al., 2010).

Jiang et al. (2011) encontraram maior biomassa bacteriana nos microagregados, enquanto que teores superiores de biomassa fúngica foram encontrados em macroagregados.

Segundo Groenigen et al. (2010), as condições mais estáveis no sistema de PD podem promover um aumento proporcional da biomassa tanto de bactérias como de fungos.

De acordo com Zotarelli et al. (2012), o PD aumentou o N<sub>2</sub> fixado biologicamente por rizóbios na soja em 31 kg ha<sup>-1</sup> ano<sup>-1</sup>, comparativamente ao sistema de PC, o que se deve às melhores condições ambientais proporcionadas à microbiota nesse sistema, como menores temperaturas e maior umidade.

Os resultados demonstram que a estrutura do solo no sistema de PD, proporciona melhores condições para o desenvolvimento microbiano, principalmente pela maior presença de macroagregados, que por estarem relacionados com a matéria orgânica do solo desempenham um papel-chave na promoção da diversidade microbiana (PEIXOTO et al., 2006).

Já a maior desagregação do solo no PC aumenta a proporção de microagregados, devido à ação do arado de discos, expondo a matéria orgânica que é substrato para o desenvolvimento microbiano, à rápida oxidação.

#### 4.6 CONCLUSÕES

1. As estruturas das comunidades bacterianas e fúngicas do solo foram modificadas com os manejos de solo em diferentes profundidades, com maiores valores de diversidade e riqueza nos sistemas de PD e PDE, em comparação ao PC, independente de rotação ou sucessão de culturas.
2. O maior revolvimento do solo no PC demonstrou ser o principal fator responsável pelas modificações na estrutura das comunidades microbianas.
3. A ausência de diferenças entre os sistemas de rotação e sucessão de culturas pode estar ligada ao fato de a mesma sequência de culturas terem sido utilizadas na rotação e sucessão durante o período de 2006/2007 a 2008/2009, diluindo os efeitos da rotação.

## 5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Após 22 anos de experimento, os resultados demonstraram a melhor qualidade estrutural do solo sob PD e PDE, com volumes de solo menos compactos e mais porosos do que os observados no PC, onde há maior mobilização do solo. A escarificação a cada três anos, com o objetivo de romper a camada superficial, mais compacta no PD se mostrou uma prática desnecessária nesse tipo de manejo, uma vez que depois de três anos as estruturas do PDE e PD foram similares. Logo, os gastos com combustível e mão de obra, não compensam o curto efeito dessa prática. Ademais, até que o sistema se estabilize novamente o rompimento da camada superficial por ação do escarificador pode provocar perdas de solo, água e nutrientes devido à desestruturação do mesmo. Dessa forma, fica evidente que desde que levados em consideração os princípios básicos do sistema de PD como o mínimo revolvimento, a presença permanente de cobertura no solo e a diversificação de culturas através de rotação a sustentabilidade do PD está assegurada. Nesse estudo, também se evidenciou que a rotação de culturas contribuiu para a conservação da estrutura do solo, por minimizar os efeitos causados pelo manejo. Os perfis sob rotação apresentam volumes de solo menos compactos que os de sucessão de culturas, com raízes morfológicamente menos deformadas.

As relações observadas entre as estruturas do perfil e os teores de CBM e NBM demonstram que a metodologia do perfil cultural pode ser utilizada na amostragem de solo, por fornecer resultados imediatamente interpretáveis sobre sua estrutura e ter sido capaz de indicar modificações no conteúdo de biomassa microbiana por ação de diferentes práticas agrícolas, como confirmado com as avaliações feitas em profundidade. Os parâmetros CBM, NBM, COT e NT foram superiores no PD e no PDE, em comparação ao PC, sendo o NBM e o NT os parâmetros mais afetados pelo manejo, indicando que a maior perturbação do solo promoveu uma limitação no conteúdo de nitrogênio.

Entretanto, para os parâmetros citados acima, não houve diferenças significativas entre a rotação e sucessão de culturas, o que deve estar ligado ao fato de os esquemas de culturas na rotação e sucessão terem sido com as mesmas espécies vegetais durante os últimos dois anos. Um fator que poderia ter contribuído para ressaltar diferenças entre os sistemas seria o uso de metodologias mais sensíveis e refinadas, capazes de verificar pequenas diferenças entre os

tratamentos. Apesar de nossos resultados não terem apontado diferenças entre os sistemas de manejo de plantas, deve ficar claro que a rotação de culturas é uma prática indispensável nos sistemas produtivos por contribuir com a melhora das características químicas, físicas e biológicas do solo e manter a sustentabilidade desses sistemas.

Considerando que o manejo do solo afeta qualitativamente a diversidade microbiana, pode-se inferir que esta é favorecida em manejos com menor revolvimento do solo, que permite um melhor equilíbrio do sistema, gerando uma condição mais estável, que resulta na preservação e proteção dos nichos ecológicos dos microrganismos. Por outro lado, práticas de revolvimento intensivo do solo podem extinguir vários grupos microbianos, podendo resultar em alterações na sua funcionalidade. O menor revolvimento se mostra fundamental para a manutenção e melhoria da qualidade do solo principalmente em condições tropicais.

## REFERÊNCIAS

- ALBUQUERQUE, J.A.; REINERT, D.J.; FIORIN, J.E.; RUEDELL, J.; PETRERE, C.; FONTIMELLI, F. Rotação de culturas e sistemas de manejo do solo: efeito sobre a forma da estrutura do solo ao final de sete anos. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 19, p. 115-119, 1995.
- ALGUACIL, M. M., LUMINI, E.; ROLDÁN, A.; R. SALINAS-GARCÍA, J.R.; BONFANTE, P.; BIANCIOTTO, V. The impact of tillage practices on arbuscular mycorrhizal fungal diversity in subtropical crops. **Ecological Applications**, v. 18, p.:527–536, 2008.
- ÁLVARO-FUENTES, J.; LÓPEZ, M.V.; ARRUÉ, J.L.; CANTERO-MARTÍNEZ, C. Management effects on soil carbon dioxide fluxes under semiarid Mediterranean conditions. **Soil Science Society of America Journal**, v. 72, p. 194–200, 2008.
- ARSHAD, M.A.; LOWERY, B.; GROSSMAN, B. Physical tests for monitoring soil quality. In: DORAN, J.W.; JONES, A.J. (Ed.). **Methods for assessing soil quality**. Madison: Soil Science Society of America, 1996. p.123-141. (SSSA special publication, 49).
- BABUJIA, L.C.; HUNGRIA, M.; FRANCHINI, J.C.; BROOKES, P.C. Microbial biomass and activity at various soil depths in a Brazilian oxisol after two decades of no-tillage and conventional tillage. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 42, p. 2174-2181, 2010.
- BAKER, J.M.; OCHSNER, T.E.; VENTEREA, R.T.; GRIFFIS, T.J. Tillage and soil carbon sequestration: what do we really know?. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, v. 118, p. 1-5, 2007.
- BALESDENT, J.; CHENU, C.; BALABANE, M. Relationship of soil organic matter dynamics to physical protection and tillage. **Soil & Tillage Research**, v. 53, p. 215–230, 2000.
- BALL, B.C.; BATEY, T.; MUNKHOLM, L.J. Field assessment of soil structural quality – a development of the Peerkamp test. **Soil Use Management**, v. 23, p. 329–337, 2007.
- BALL, B.C.; SCOTT, A.; PARKER, J.P. Field N<sub>2</sub>O, CO<sub>2</sub> and CH<sub>4</sub> fluxes in relation to tillage, compaction and soil quality in Scotland. **Soil & Tillage Research**, v. 53, p. 29-39, 1999.
- BALOTA, E.L.; AULER, P.A.M. Soil microbial biomass under different management and tillage systems of permanent intercropped cover species in an orange orchard. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 35, p. 1873-1883, 2011.
- BALOTA, E.L.; COLOZZI FILHO, A.; ANDRADE, D.S.; DICK, R.P. Long-term tillage and crop rotation effects on microbial biomass and C and N mineralization. **Soil & Tillage Research**, v. 77, p. 137-145, 2004.

- BALOTA, E.L.; COLOZZI-FILHO, A.; ANDRADE, D.S.; DICK, R.P. Microbial biomass in soils under different tillage and crop rotation systems. **Biology and Fertility of Soils**, v. 38, p. 15-20, 2003.
- BANDICK, A.K.; DICK, R.P. Field management effects on soil enzyme activities. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 31, p. 1471–1479, 1999.
- BARRETO, R.C.; MADARI, B.E.; MADDOCK, J.E.L.; MACHADO, P.L.O.A.; TORRES, E.; FRANCHINI, J.C.; COSTA, A.R. The impact of soil management on aggregation, carbon stabilization and carbon loss as CO<sub>2</sub> in the surface layer of a Rhodic Ferralsol in Southern Brazil. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, v. 132, p. 243-251, 2009.
- BARROS, N.; GALLEGO, M.; FEIJÓO, S. Sensitivity of colorimetric indicators of soil microbial activity. **Thermochimica Acta**, Amsterdam, v. 458, p. 18-22, 2007.
- BARTLETT, R.J.; ROSS, D.N. Colorimetric determination of oxidizable carbon in acid soil solutions. **Soil Science Society of America Journal**, v. 52, 1191-1192, 1988.
- BARTHÈS, B.; ROOSE, E. Aggregate stability as an indicator of soil susceptibility to runoff and erosion; validation at several levels. **Catena**, v. 47, p. 133–149, 2002.
- BATEY, T. Soil compaction and soil management—a review. **Soil Use and Management**, v. 25, p. 335–345, 2009.
- BAYER, C.; MIELNICZUK, J.; MARTIN-NETO, L.; ERNANI, P.R. Stocks and humification degree of organic matter fractions as affected by no-tillage on a subtropical soil. **Plant and Soil**, v. 238, p.133-140, 2002.
- BAUSENWEIN, U.; GATTINGER, A.; LANGER, U.; EMBACHER, A.; HARTMANN, H.P.; SOMMER, M.; MUNCH, J.C.; SCHLOTER, M. Exploring soil microbial communities and soil organic matter: variability and interactions in arable soils under minimum tillage practice. **Applied Soil Ecology**, v. 40, p. 67-77, 2008.
- BEARE, M.H.; HENDRIX, P.F.; COLEMAN, D.C. Water-stable aggregates and organic matter fractions in conventional- and no-tillage soils. **Soil Science Society of America Journal**, v. 58, p.777-786, 1994.
- BENGOUGH AG, MCKENZIE BM, HALLETT PD AND VALENTINE TA. 2011. Root elongation, water stress and mechanical impedance: a review of limiting stresses and beneficial root tip traits. **Journal of Experimental Botany**, v. 62, p. 59-68, 2011.
- BERTOL, I.; ALBUQUERQUE, J.A.; LEITE, D.; AMARAL, A.J.; ZOLDAN JR., W.A. Propriedades físicas do solo sob preparo convencional e semeadura direta em rotação e sucessão de culturas, comparadas às do campo nativo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 28, p. 155-163, 2004.
- BERTOL, I.; COGO, N.P.; SCHICK, J.; GUDAGNIN, J.C.; AMARAL, A.J. Aspectos financeiros relacionados às perdas de nutrientes por erosão hídrica em diferentes sistemas de manejo do solo. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, v.31, p. 133-142, 2007.

BEUTLER, A.N.; CENTURION, J.F.; SILVA, A.P. Soil resistance to penetration and least limiting water range for soybean yield in a haplustox from Brazil. **Brazilian Archives of Biology Technology**, v. 48, p. 863-871, 2005.

BODDEY, R.M., JANTALIA, C.P.; CONCEIÇÃO, P.C.; ZANATTA, J.A.; BAYER, C.; MIELNICZUK, J.; DIECKOW, J.; SANTOS, H.P.; DENARDIN, J.E.; AITA, C.; GIACOMINI, S.; ALVES, B.J.R.; URQUIAGA, S. Carbon accumulation at depth in Ferralsols under zero-till subtropical agriculture. **Global Change Biology**, v. 16, p. 784–795, 2010.

BOSSUYT, H., SIX, J., HENDRIX, P.F. Aggregate-protected carbon in no-tillage and conventional tillage agroecosystems using carbon-14 labeled plant residue. **Soil Science Society of America Journal**, v. 66, p. 1965–1973, 2002.

BRAAK, C.J.F.; SMILAUER, P. **CANOCO Reference manual and user's guide to Canoco for Windows: software for canonical community ordination (version 4)**. Microcomputer Power (Ithaca, New York), 1998, 352 p.

BROOKES, P.C.; LANDMAN, A.; PRUDEN, G.; JENKINSON, D.S. Chloroform fumigation and the release of soil nitrogen: a rapid direct extraction method to measure microbial biomass nitrogen in soil. **Soil Biology & Biochemistry**, v.17, p.837-842, 1985.

BUNDT, M.; WIDMER, F.; PESARO, M.; ZEYER, J.; BLASER, P. Preferential flow paths: biological 'hot spots' in soils. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 33, p. 729–738.

BURR, I.W.; FOSTER, L.A. **A test for equality of variances**. University of Purdue, West Lafayette, Indiana (Mimeo series, 282), 1972, 26 p.

BUYER, J.S.; ROBERTS, D.P.; RUSSEK-COHEN, E. Microbial community structure and function in the spermosphere as affected by soil and seed type. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 45, p. 138–144, 1999.

CALDERÓN, F.J.; JACKSON, L.E.; SCOW, K.M.; ROLSTON, D.E. Short-term dynamics of nitrogen, microbial activity, and phospholipid fatty acids after tillage. **Soil Science Society of America Journal**, v. 65, p. 118-126, 2001.

CALEGARI, A.; HARGROVE, W.L.; RHEINHEIMER, D.S.; RALISCH, R.; TESSIER, D.; TOURDONNET, S.; GUIMARÃES, M.F. Impact of long-term no-tillage and cropping system management on soil organic carbon in an oxisol: A model for sustainability. **Agronomy Journal**, v. 100, p. 1013-1019, 2008.

CARDOSO, E.G.; ZOTARELLI, L.; PICCININ, J.L.; TORRES, E.; SARAIVA, O.F.; GUIMARÃES, M.F. Sistema radicular de soja em função da compactação do solo no sistema plantio direto. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 41, p. 493-501, 2006.

CARTER, M.R. Microbial biomass as index for tillage-induced changes in soil biological properties. **Soil & Tillage Research**, v. 7, p. 29-40, 1986.

CARTER, M.R. Characterizing of soil physical condition in reduced tillage systems for winter wheat on a fine sandy loam using small cores. **Canadian Journal of Soil Science**, v. 72, p. 395-402, 1992.

- CHAN, K. Y.; ROBERTS, W. P.; HEENAN, D. P. Organic carbon and associated soil properties of a red earth after 10 years of rotation under different stubble and tillage practices. **Australian Journal of Soil Research**, v. 30, p. 71-83, 1992.
- CHAN, K.Y.; OATES, A.; SWAN, A.D.; HAYES, R.C.; DEAR, B.S.; PEOPLES, M.B. Agronomic consequences of tractor wheel compaction on a clay soil. **Soil Tillage Research**, v. 89, p.13-21, 2006.
- CHAO, A.; LEE, S.M. Estimating the number of classes via sample coverage. **Journal of the American Statistical Association**, v. 87, p. 210-217, 1992.
- CHAO A.; SHEN T.J. Program SPADE (Species Prediction and Diversity Estimation). Program and user's guide; 2009. [accessed 05/2011]. Available from <<http://chao.stat.nthu.edu.tw>>
- CHRISTOPHER, C.; LAL, R. Nitrogen management affects carbon sequestration in North American croplands. **Critical Reviews in Plant Sciences**, v. 26, p. 45–64, 2007.
- COSTA, F.S.; ALBUQUERQUE, J.A.; BAYER, C.; FONTOURA, S.M.V.; WOBETO, C. Propriedades físicas de um Latossolo Bruno afetadas pelos sistemas plantio direto e preparo convencional. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 27, p. 527-535, 2003.
- CRAGG, R.; BARDGETT, R. D. How changes in soil faunal diversity and composition within a trophic group influence decomposition processes. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 33, p. 2073-2081, 2001.
- DE FEDE, K. L.; PANACCIONE, D. G.; SEXTONE, A. J. Characterization of dilution enrichment cultures obtained from size-fractionated soil bacteria by BIOLOG<sup>®</sup> community-level physiological profiles and restriction analysis of 16S rDNA genes. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 33, p. 1555-1562, 2001.
- DE NOBILI, M.; CONTIN, M.; BROOKES, P.C. Microbial biomass dynamics in recently air-dried and rewetted soils compared to others stored air-dry for up to 103 years. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 38, p. 2871-2881, 2006.
- DORAN, J.W.; JONES, A.J. **Methods for assessing soil quality**. Madison, SSSA, 1996. 411p. (SSSA Special Publication, 49).
- DUARTE, G.F.; ROSADO, A.S.; SELDIN, L.; DE ARAUJO, W.; VAN ELSAS, J.D. Analysis of Bacterial community structure in sulfurous-oil-containing soils and detection of species carrying dibenzothiophene desulfurization (dsz) genes. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 67, p. 1052-1062, 2001.
- DRIJBER, R.A.; DORAN, J.W.; PARKHURST, A.M.; LYON, D.J. Changes in soil microbial community structure with tillage under long-term wheat-fallow management. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 32, p. 1419-1430, 2000.
- DRURY, C.F.; YANG, X.M.; REYNOLDS, W.D. & TAN, C.S. Influence of crop rotation and aggregate size on carbon dioxide production and denitrification. **Soil & Tillage Research**, v. 79, p.87- 100, 2004.

EMBRAPA (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária). Serviço Nacional de Levantamento e Conservação do Solo. **Manual de métodos de análises dos solos**. Rio de Janeiro: Embrapa, 1979, 247 p.

EMBRAPA (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária). Serviço Nacional de Levantamento e Conservação do Solo. **Levantamento detalhado dos solos da área experimental do Centro Nacional de Pesquisa de Soja**. Londrina: Embrapa, 1988, 67 p.

FABRIZZI, K.P.; GARCLA, F.O.; COSTA, J.I.; PICONE, L.I. Soil water dynamics, physical properties and corn and wheat responses to minimum and no-tillage systems in the southern pampas of Argentina. **Soil & Tillage Research**, v. 81, p. 57-69, 2005.

FAHAD, A. A.; MIELKE, L. N.; FLOWERDAY, A. D.; SWARTZENDRUBER, D. Soil physical properties as affected by soybean and other cropping sequences. **Soil Science Society of America Journal**, v. 46, p. 377-381, 1982.

FEBRAPDP (Federação Brasileira de Plantio Direto na Palha). **Área de plantio direto no Brasil**. Disponível em: <<http://www.febrapdp.org.br/download/BREvolucaoPD2002a2006.pdf>>. Acesso em: 18/07/12.

FEIGL, B.J.; SPARLING, G.P.; ROSS, D.J.; CERRI, C.C. Soil microbial biomass in Amazonian soils: evaluation of methods and estimates of pool size. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 27, 1467-1472, 1995.

FEIJE, F.; ANGER, V. Spot test in inorganic analysis. **Analytical Chemistry Acta**, v.149, p.363-367, 1972.

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

FIERER, N.; SCHIMEL, J.P.; HOLDEN, P.A. Variations in microbial community composition through two soil depth profiles. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 35, p. 167-176, 2003.

FRANCHINI, J.C.; BORKERT, C.M.; FERREIRA, M.M.; GAUDÊNCIO, G.A. Alterações na fertilidade do solo em sistemas de rotação de culturas em semeadura direta. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 24, p. 459-467, 2000.

FRANCHINI, J.C.; CRISPINO, C.C.; SOUZA, R.A.; TORRES, E.; HUNGRIA, M. Microbiological parameters as indicators of soil quality under various soil management and crop rotation systems in southern Brazil. **Soil & Tillage Research**, v. 92, p. 18-29, 2007.

FRANCHINI, J.C.; DEBIASI, H.; SACOMAN, A.; NEPOMUCENO, A. L.; FARIAS, J. R. B. Manejo do solo para redução das perdas de produtividade pela seca. Londrina: Embrapa Soja, 2009. 39 p. (Embrapa Soja. **Documentos**, 314).

FRANCHINI, J.C.; COSTA, J.M.; DEBIASI, H.; Torres, E. Importância da rotação de culturas para a produção agrícola sustentável no Paraná (Importance of crop rotation to sustainable agricultural production in Paraná), Embrapa Soja, Londrina/PR, Brazil, 2011, p. 52 (**Documentos, 327**).

FRANCHINI, J.C.; DEBIASI, H.; BALBINOT JUNIOR, A.A.; TONON, B.C.; FARIAS, J.R.B.; OLIVEIRA, M.C.N; TORRES, E. Evolution of crop yields in different tillage and cropping systems over two decades in southern Brazil. **Field Crops Research**, v. 137, p. 178–185, 2012.

FRANCIS, G.S.; HAYNES, R.J.; KNIGHT, T.L. An overview of results from the long-term no-tillage trials at Winchmore. In: **Annual Conference of the Agronomy Society of New Zealand**, 1992. Camberra. Proceedings. Camberra, 1992. v.22. p.97-101.

FRANZLUEBBERS, A.J. Water infiltration and soil structure related to soil organic matter and its stratification with depth. **Soil & Tillage Research**, v. 66, p. 197–205, 2002.

FREGONEZI, G.A.F; BROSSARD, M.; GUIMARÃES, M.F.; MEDINA, C.C. Modificações morfológicas e físicas de um latossolo argiloso sob pastagens. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 25, p. 1017-1027, 2001.

FREY, S.D.; ELLIOT, E.T.; PAUSTIAN, K. Bacterial and fungal abundance and biomass in conventional and no-tillage agroecosystems along two climatic gradients, **Soil Biology & Biochemistry**, v. 31, p. 573-585, 1999.

GÁL, A.; VYN, T.J.; MICHÉLI, E.; KLADIVKO, E.J.; MCFEE, W.W. Soil carbon and nitrogen accumulation with long-term no-till versus moldboard plowing overestimated with tilled-zone sampling depths. **Soil & Tillage Research**, v. 96, p. 42–51, 2007.

GAUTRONNEAU, Y.; MANICHON, H. **Guide méthodique du profil cultural**, Lyon, CEREF-GEARA, 1987. 71p.

GIAROLA, N.F.B.; SILVA, A.P.; TORMENA, C.A.; GUIMARÃES, R.M.L.; BALL, B. On the visual evaluation of soil structure: the Brazilian experience in Oxisols under no-tillage, **Soil & Tillage Research**, 2012 (artigo *in press*).

GIL, S.V.; MERILES, J.; CONFORTO, C.; BASANTA, M.; RADL, V.; HAGN, A.; SCHLOTTER, MARCH, G.J. Response of soil microbial communities to different management practices in surface soils of a soybean agroecosystem in Argentina. **European Journal of Soil Biology**, v. 47, p. 55-60, 2011.

GROENIGEN, K.J.; BLOEM, J.; BAATH, E.; BOECKX, P.; ROUSK, J.; BODÉ, S.; FIRRISTAL, D.; JONES, M.B. Abundance, production and stabilization of microbial biomass under conventional and reduced tillage. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 42, p. 48–55, 2010.

GRAYSTON, S. J.; GRIFFITH, G. S.; MAWDESLEY, J. L.; CAMPEBELL, C. D.; BARDGETT, R. D. Accounting of variability in soil microbial communities of temperate upland grassland ecosystem. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 33, p. 533-551, 2001.

GU, Y.; ZHANG, X.; TU, S.; LINDSTRÖM, K. Soil microbial biomass, crop yields, and bacterial community structure as affected by long-term fertilizer treatments under wheat-rice cropping. **European Journal of Soil Biology**, v. 45, p. 239-246, 2009.

GUGGENBERGER, G.; FREY, S.D.; SIX, J.; PAUSTIAN, K.; ELLIOTT, E.T. Bacterial and fungal cell-wall residues in conventional and no-tillage agroecosystems. **Soil Science Society of America Journal**, v. 63, p. 1188–1198, 1999.

HAMZA, M.A.; ANDERSON, W.K. Soil compaction in cropping systems: A review of the nature, causes and possible solutions. **Soil Tillage & Research**, v. 82, p. 121-145, 2005.

HANSEL, C.M.; FENDORF, S.; JARDINE, P.M.; FRANCIS, C.A. Changes in bacterial and archaeal community structure and functional diversity along a geochemically variable soil profile. **Applied & Environmental Microbiology**, v. 74, p. 1620-1633, 2008.

HAYNES, R.J.; BEARE, M.H. Influence of six crop species on aggregate stability and some labile organic matter fractions. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 29, p. 1647–1653, 1997.

HELGASON, B.L.; WALLEY, F.L.; GERMIDA, J.J. No-till soil management increases microbial biomass and alters community profiles in soil aggregates, **Applied Soil Ecology**, v. 46, p. 390–397, 2010.

HENIN, S.; FEODOROFF, A.; GRAS, R.; MONNIER, G. **Le profil cultural: Principes de physique du sol**. Paris, Masson, 1960. 320p.

HENIN, S.; GRAS, R.; MONNIER, G. **Le profil cultural: L'état physique du sol et ses conséquences agronomiques**. 2.ed. Paris, Masson, 1969. 322p.

HERNÁNDEZ-HERNÁNDEZ, R.M.; LOPEZ-HERNÁNDEZ, D. Microbial biomass, mineral nitrogen and carbon content in savanna soil aggregates under conventional and no-tillage. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 34, p. 1563–1570, 2002.

HERNANZ, J.L.; SÁNCHEZ-GIRÓN, V.; NAVARRETE, L. Soil carbon sequestration and stratification in a cereal/leguminous crop rotation with three tillage systems in semiarid conditions. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, v. 113, p. 114–122, 2009.

HEUER, H.; LOTTMANN, J.; BERG, G.; SMALLA, K. Effects of T4 lysozyme release from transgenic potato roots on bacterial rhizosphere communities are negligible relative to natural factors. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 68, p. 1325-1335, 2002.

HOBBS, P.R. Conservation agriculture: What is it and why is it important for future sustainable food production?, **Journal of Agricultural Science**, v. 145, p. 127-137, 2007.

HUHTA, V., HAIMI, J.; SETÄLÄ, H. The role of the fauna in soil processes: Techniques using simulated forest floor. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, v. 34, p.223-229, 1991.

- HUNGRIA, M.; CAMPO, R.J.; MENDES, I.C. Benefits of inoculation of the common bean (*Phaseolus vulgaris*) crop with efficient and competitive *Rhizobium tropici* strains. **Biology and Fertility of Soils**, v. 39, p. 51-61, 2003.
- HUNGRIA, M.; FRANCHINI, J.C.; BRANDÃO-JUNIOR, O.; KASCHUK, G.; SOUZA, R.A. Soil microbial activity and crop sustainability in a long-term experiment with three soil-tillage and two crop-rotation systems. **Applied Soil Ecology**. v. 42, p.288-296, 2009.
- HUNTER-CEVERA, J. C. The value of microbial diversity. **Current Opinion in Microbiology**, Amsterdam, v. 1, p. 278-285, 1998.
- HURISSO, T.T.; DAVIS, J.G.; BRUMMER, J.E.; STROMBERGER, M.E.; MIKHA, M.M.; HADDIX, M.L.; BOOHER, M.R.; PAUL, E.A. Rapid changes in microbial biomass and aggregate size distribution in response to changes in organic matter management in grass pasture. **Geoderma**, v.193-194, 2013.
- IBEKWE, A.M.; KENNEDY, A.C.; HALVORSON, J.J.; YANG, C.H. Characterization of developing microbial communities in Mount St. Helens pyroclastic substrate, **Soil Biology & Biochemistry**, v. 39, p. 2496-2507, 2007.
- JENKINSON, D.S. Studies on the decomposition of plant material in soil. II. Partial sterilisation of soil and the soil biomass. **Journal of Soil Science**, v. 17, p. 280-302, 1966.
- JENKINSON, D.S.; POWLSON, D.S. The effects of biocide treatment on metabolism in soil. A method for measuring soil biomass. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 8, p. 209-213, 1976.
- JENKINSON, D.S.; LADD, J.N. Microbial biomass in soils: measurement and turnover. In: PAUL, E.A.; LADD, J.N. (Eds.). **Soil Biochemistry**, v. 5, p. 415-471, 1981.
- JIANG, X.; WRIGHTB, A.L.; WANGA, X.; LIANGA, F. Tillage-induced changes in fungal and bacterial biomass associated with soil aggregates: A long-term field study in a subtropical rice soil in China. **Applied Soil Ecology**, v. 48, p. 168–173, 2011.
- JIN, H.; HONGWEN, L.; RASAILY, R.G.; QINGJIE, W.; GUOHUA, C.; YANBO, S.; XIAODONG, Q.; LIJIN, L. Soil properties and crop yields after 11 years of no tillage farming in wheat–maize cropping system in North China Plain. **Soil & Tillage Research**, v. 113, 48–54, 2011.
- JOHNSON, M.J.; LEE, K.Y.; SCOW, K.M. DNA fingerprinting reveals links among agricultural crops, soil properties, and the composition of soil microbial communities. **Geoderma**, v. 114, p. 279-303, 2003.
- KASCHUK, G.; ALBERTON, O.; HUNGRIA, M. Three decades of soil microbial biomass studies in Brazilian ecosystems: Lessons learned about soil quality and indications for improving sustainability. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 42, p. 1-13, 2010.

KENNEDY, C.A. Bacterial diversity in agroecosystems. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, v. 74, p. 145-156, 2003.

KENNEDY, A.C.; SMITH, V.L. Soil microbial diversity and the sustainability of agricultural soils. **Plant & Soil**, v. 170, p. 75-86, 1995.

KUSHWAHA, C.P.; TRIPATHI, S.K.; SIGNH, K.P. Soil organic matter and water-stable aggregates under different tillage and residue conditions in a tropical dryland agroecosystem. **Applied Soil Ecology**, v. 16, p. 229–241, 2001.

LAVELLE, P.; SPAIN, A.V. **Soil ecology**. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers; 2001. pp. 211–239.

LOPES, A.R.; FARIA, C.; PRIETO- FERNÁNDEZ, A.; TRASAR-CEPEDA, C.; MANAIA, C.M.; NUNES, O.C. Comparative study of the microbial diversity of bulk paddy soil of two rice fields subjected to organic and conventional farming. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 43, p. 115-125, 2011.

LÓPEZ-FANDO, C.; PARDO, M.T. Soil carbon storage and stratification under different tillage systems in a semi-arid region. **Soil & Tillage Research**, v. 111, p. 224-230, 2011.

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

MAJUMDER, B.; KUZYAKOV, Y. Effect of fertilization on decomposition of <sup>14</sup>C labelled plant residues and their incorporation into soil aggregates. **Soil & Tillage Research**, v. 109, p. 94-102, 2010.

MANICHON, H. **Influence des systèmes de culture sur le profil cultural: élaboration d'une méthode de diagnostic basée sur l'observation morphologique**. (Tese de doutorado). Paris, INA-PG. 1982. 241p.

MARSCHNER, P.; KANDELER, E.; MARSCHNER, B. Structure and function of the soil microbial community in a long-term fertilizer experiment. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 35, p. 453-461, 2003.

MATSUOKA, M.; MENDES, I.C.; LOUREIRO, M.F. Biomassa microbiana e atividade enzimática em solos sob vegetação nativa e sistemas agrícolas anuais e perenes na região de Primavera do Leste (MT). **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 27, p. 425-433, 2003.

MAPA (Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento). **Agronegócio Brasileiro**. Disponível em:

<[http://www.agricultura.gov.br/portal/page?\\_pageid=33,968707&\\_dad=portal&\\_schema=PORTAL](http://www.agricultura.gov.br/portal/page?_pageid=33,968707&_dad=portal&_schema=PORTAL)>. Acesso em 20 de Junho de 2011.

MAPA (Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento). **Programa ABC**.

Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/desenvolvimento-sustentavel/plano-abc>> Acesso em 03 de Março de 2012.

MENDES, I.C.; SOUZA, L.V.; RESCK, D.V.S.; GOMES, A.C. Propriedades biológicas em agregados de um Latossolo Vermelho-Escuro sob plantio convencional e direto no Cerrado. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 27, n.3, p. 435-443, 2003.

MENDONÇA, E.S.; LEITE, L.F.C. Modelagem matemática e simulação da dinâmica da matéria orgânica do solo. In: ROSCOE, R.; MERACNTE, F.M.; SALTON, J.C. (Eds.) **Dinâmica da material orgânica do solo em sistemas conservacionistas**. Dourados: Emprapa Agropecuária Oeste, 2006. p. 75-106.

MIKHA, M.M.; RICE, C.W. Tillage and manure effects on soil aggregate associated carbon and nitrogen. **Soil Science Society of America Journal**, v. 68, p. 809–816, 2004.

MILNE, R.M.; HAYNES, R.J. Comparative effects of annual and permanent dairy pastures on soil physical properties in the Tsitsikamma region of South Africa. **Soil Use & Management**, v. 20, p. 81–88, 2004.

MINOSHIMA, H.; JACKSON, L.E.; CAVAGNARO, T.R.; SÁNCHEZ-MORENO, S.; FERRIS, H.; TEMPLE, S.R.; GOYAL, S.; MITCHELL, J.P. Soil food webs and carbon dynamics in response to conservation tillage in California. **Soil Science Society of America Journal**, v. 71, p. 952-963, 2007.

MORRIS, N.L.; MILLER, P.C.H.; ORSON, J.H.; FROUD-WILLIAMS, R.J. The adoption of non-inversion tillage systems in the United Kingdom and the agronomic impact on soil, crops and the environment. **Soil & Tillage Research**, v. 108, p. 1-15, 2010.

MUNKHOLM, L.J.; HECK, R.J.; DEEN, B. Long-term rotation and tillage effects on soil structure and crop yield, **Soil & Tillage Research**, 2012 (artigo *in press*).

MUNKHOLM, L.J.; HANSEN, E.M.; OLESEN, J.E. The effect of tillage intensity on soil structure and winter wheat root/shoot growth. **Soil Use Management**, v. 24, p. 392-400, 2008.

MUYZER, G.; DE WAAL, E.C.; ULTERRLINDEN, A.G. Profiling of complex microbial populations by denaturing gradient gel electrophoresis analysis of polymerase chain reaction amplified genes coding for 16S rRNA. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 59, p. 695-700, 1993.

NETO, M.S.; SCOPEL, E.; CORBEELS, M.; CARDOSO, A.N.; DOUZET, J.-M.; FELLER, C.; PICCOLO, M.D.C.; CERRI, C.C.; BERNOUX, M. Soil carbon stocks under no-tillage mulchbased cropping systems in the Brazilian Cerrado: an on-farm synchronic assessment. **Soil & Tillage Research**, v. 110, p. 187–195, 2010.

NEVES, C.S.V.J.; FELLER, C.; GUIMARÃES, M.F.; MEDINA, C.C.; TAVARES FILHO, J.; FORTIER, M. Soil bulk density and porosity of homogeneous morphological units by the cropping method in clayey Oxisols in Brazil. **Soil & Tillage Research**, v. 71, p. 109-119, 2003.

NÜBEL U.; ENGELEN B.; FELSKE A.; SNAIDR, J.; WIESHUBER, A.; AMANN, R.I.; LUDWIG, W.; BACKHAUS, H. Sequence heterogeneities of genes encoding 16S

rRNAs in *Paenibacillus polymyxa* detected by temperature gradient gel electrophoresis. **Journal of Bacteriology**, v. 178, p. 5636-5643, 1996.

OLIVEIRA, F.H.T.; NOVAIS, R.F.; ALVAREZ, V.V.H.; CANTARUTTI, R.B.; BARROS, N.D. Fertilidade do solo no sistema de plantio direto. **Tópicos em Ciência do Solo**, Viçosa, v. 2, p. 393-486, 2002.

OLIVEIRA, J.R.A.; MENDES, I.C.; VIVALDI, L. Carbono da biomassa microbiana em solos de cerrado sob vegetação nativa e sob cultivo: avaliação dos métodos fumigação-incubação e fumigação-extração. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 25, p. 863-871, 2001.

OTTO, R.; SILVA, A.P.; FRANCO, H.C.J.; OLIVEIRA, E.C.A.; TRIVELIN, P.C.O. High soil penetration resistance reduces sugarcane root system development. **Soil & Tillage Research**, v. 117, p. 201-210, 2011.

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

PEIXOTO, R.S.; COUTINHO, H.L.C.; MADARI, B.; MACHADO, P.L.O.A.; RUMJANEK, N.G.; van ELSAS, J.D.; SELDIN, L.; ROSADO, A.S. Soil aggregation and bacterial community structure as affected by tillage and cover cropping in Brazilian Cerrados. **Soil & Tillage Research**, v. 90, p. 16-28, 2006.

PEREIRA NETO, O.C.; GUIMARÃES, M.F. Método para quantificar pequenas áreas (perfil do solo) utilizando SIG. R. **Semina Agrícola**, v. 26, p. 495-500, 2005.

PEREIRA NETO, O.C.; GUIMARÃES, M.F.; RALISCH, R. FONSECA, I.C.B. Análise do tempo de consolidação do sistema de plantio direto. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 11, p. 489-496, 2007.

PETERSEN, S.O.; FROHNE, P.S.; KENNEDY, A.C. Dynamics of a soil microbial community under spring wheat. **Soil Science Society of America Journal**, v. 66, p. 826-833, 2002.

PICCININ, J. L. **Modificações no perfil de solo sob plantio direto com intervenções mecânica sob sucessão e rotação de culturas**. (Tese de Doutorado) – Campinas, 2005, 121p.

PLAZA, C.; COUTIER-MURIAS, D.; POLO, A.; SIMPSON, A.J. Physical, chemical, and biochemical mechanisms of soil organic matter stabilization under conservation tillage systems: A central role for microbes and microbial by-products in C sequestration, **Soil Biology & Biochemistry**, v. 39, p. 1-11, 2012.

POWLSON, D.S.; BROOKES, P.C.; CHRISTENSEN, B.T. Measurement of soil microbial biomass provides an early indication of changes in total soil organic matter due to straw incorporation. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 19, p. 159-164, 1987.

RAHMAN, M.H.; OKUBO, A.; SUGIYAMA, S.; MAYLAND, H.F. Physical, chemical and microbiological properties of an Andisol as related to land use and tillage practice, **Soil & Tillage Research**, v. 101, p. 10-19, 2008.

RALISCH, R.; GUIMARÃES, M.F.; MEDINA, C.C.; TAVARES FILHO, J.; DERSIGNY, C.G. & VISINTIN, L.M.B. O método do perfil cultural para auxiliar na avaliação dos efeitos do preparo sobre a estrutura do solo. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA AGRÍCOLA, 20., Londrina, 1991. **Anais**. Londrina, Sociedade Brasileira de Engenharia Agrícola, 1991. p.1374-1382.

RALISCH, R.; MIRANDA, T.M.; OKUMURA, R.S.; BARBOSA, G.M.C.; GUIMARÃES, M.F.; SCOPEL, E.; BALBINO, L.C. Resistência à penetração de um Latossolo Vermelho Amarelo do Cerrado sob diferentes sistemas de manejo. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 12, p. 381- 384, 2008.

RALISCH, R.; ALMEIDA, E.; SILVA, A.P.; PEREIRA NETO, O.C.; GUIMARÃES, M.F. Morphostructural characterization of soil conventionally tilled with mechanized and animal traction with and without cover crop. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 34, p. 1795-1802, 2010.

REBER, H.H. Simultaneous estimates of the diversity and the degradative capability of heavy-metal-affected soil bacterial communities. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v. 13, p. 181-186, 1992.

ROBERTSON, E.B.; SARIG, S.; FIRESTONE, M.K. Cover crop management of polysaccharide- mediated aggregation in an orchard soil, **Soil Science Society of America Journal**, v. 55, p. 734-739, 1991.

ROGER-ESTRADE, J.; RICHARD, G.; CANEILL, J.; BOIZARD, H.; COQUET, Y.; DEFOSSEZ, P.; MANICHON, H. Morphological characterization of soil structure in tilled fields: from a diagnosis method to the modeling of structural changes over time. **Soil & Tillage Research**, v. 79, p. 33-49, 2004.

ROSADO, A.S.; DUARTE, G.F.; SELDIN, L.; VAN ELSAS, J.D. Molecular microbial ecology: A minireview. **Revista de Microbiologia**, v. 28, p. 135-147, 1997.

ROSCOE, R.; MERCANTE, F.M.; MENDES, I.C.; REIS-JÚNIOR, F.B.; SANTOS, J.C.F.; HUNGRIA, M. Biomassa microbiana do solo fração: mais ativa da matéria orgânica. In: ROSCOE, R.; MERCANTE, F.M.; SALTON, J.C., (Eds.). **Dinâmica da matéria orgânica do solo em sistemas conservacionistas**. Dourados: Embrapa Agropecuária Oeste, 2006. p.163-198.

SAS Institute. **Procedure guide for personal computers**. Version 8.2. SAS Institute, Cary, North Carolina, 2001.

SETALA, H.; McLEAN, M.A. Decomposition rate of organic substrates in relation to the species diversity of soil saprophytic fungi. **Oecologia**, v. 139, p. 98-107, 2004.

SHAPIRO, S.S., WILK, M.B. An analysis of variance test for normality. **Biometrika**, v. 52, 591-611, 1965.

SNEATH, P.H.; SOKAL, R.R. **Numerical taxonomy**: The principles and practice of numerical classification. San Francisco: W.H. Freeman, 1973, 573p.

- SILVA, A.P.; BABUJIA, L.C.; FRANCHINI, J.C.; SOUZA, R.A.; HUNGRIA, M. Microbial biomass under various soil- and crop- management systems in short- and long- term experiments in Brazil. **Field Crops Research**, v. 119, p. 20-26, 2010.
- SILVA, A.P.; BABUJIA, L.C.; MATSUMOTO, L.S.; GUIMARÃES, M.F.; HUNGRIA, M. Bacterial Diversity under Different Tillage and Crop Rotation Systems in an Oxisol of Southern Brazil, **The Open Agriculture Journal**, 2012 (aceito para publicação).
- SILVA, I.R.; MENDONÇA, E.S. Matéria orgânica do solo. 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: SBCS, 2007, p. 275-374.
- SILVA, R.F.; BORGES, C.D.; GARIB, D.M.; MERCANTE, F.M. Atributos físicos e teor de matéria orgânica na camada superficial de um Argissolo Vermelho cultivado com mandioca sob diferentes manejos. **Revista Brasileira Ciência Solo**, v. 32, p. 2435-2441, 2008.
- SIMPSON, R.T.; FREY, S.D.; SIX, J.; THIET, R.K. Preferential accumulation of microbial carbon in aggregate structures of no-tillage soils. **Soil Science Society of America Journal**, v. 68, p. 1249–1255, 2004.
- SINGH, S.; SINGH, J.S. Microbial biomass associated with water-stable aggregates in forest, savanna and cropland soils of a seasonally dry tropical region, India. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 27, p. 1027–1033, 1995.
- SIX, J.; BOSSUYT, H.; DEGRYZE, S.; DENEFF, K.A. history of research on the link between (micro)aggregates, soil biota, and soil organic matter dynamics. **Soil & Tillage Research**, v. 79, p. 7–31, 2004.
- SIX, J., ELLIOTT, E.T., PAUSTIAN, K. Soil macroaggregate turnover and microaggregate formation: a mechanism for C sequestration under no-tillage agriculture. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 32, p. 2099–2103, 2000.
- SIX, J.; FELLER, C.; DENEFF, K.; OGLE, S.M.; SÁ, J.C.M.; ALBRECHT, A. Soil organic matter, biota and aggregation in temperate and tropical soils e effects of notillage. **Agronomie**, v. 22, p. 755-775, 2001.
- SMITH, J.L.; PAUL, E.A. The significance of soil microbial biomass estimations. In: BOLLAG, J.; STOTZKY, D.G. (Eds.). **Soil Biochemistry**. New York: M. Dekker, 1990. v. 6, p. 357-396.
- SMIT, E.; LEEFLANG, P.; GLANDORF, B.; VAN ELSAS J.D.; WERNARS, K. Analysis of fungal diversity in the wheat rhizosphere by sequencing of cloned PCR-amplified genes encoding 18S rRNA and temperature gradient gel electrophoresis, **Applied and Environmental Microbiology**, v.65, p.2614–2621 , 1999.
- SOARES, J.L.N.; ESPINDOLA, C.R. Atributos físicos de um argissolo sob mata nativa (Bariri, SP). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA DO SOLO. Fator de Produtividade Competitiva com Sustentabilidade, 28., 2001, Londrina. **Anais**. Londrina: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2001. p. 18.

SOUZA, Z.M.; ALVES, M.C. Movimento de água e resistência à penetração em um Latossolo Vermelho distrófico de Cerrado, sob diferentes usos e manejos. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 7, p. 18-23, 2003.

SOUZA, R.A.; HUNGRIA, M.; FRANCHINI, J.C.; CHUEIRE, L.M.O.; BARCELLOS, F.G.; CAMPO, R.J. Avaliação qualitativa e quantitativa da microbiota do solo e da fixação biológica do nitrogênio pela soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 43, p. 71-82, 2008a.

SOUZA, R.A.; HUNGRIA, M.; FRANCHINI, J.C.; MACIEL, C.D.; CAMPO R.J.; ZAIA, D.A.M. Conjunto mínimo de parâmetros para avaliação da microbiota do solo e da fixação biológica do nitrogênio pela soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 43, p. 83-91, 2008b.

SPARLING, G. P. Soil microbial biomass, activity and nutrient cycling as indicators of soil health. In: PANKHURST, C.; DOUBE, B. M.; GUPTA, V. V. S. R. (Eds.). **Biological indicators of soil health**. Cambridge: CAB International, 1997. p. 97-120.

SPEEDING, T.A.; HAMEL, C.; MEHUYS, G.R.; MADRAMOOTOO, C.A. Soil microbial dynamics in maize-growing soil under different tillage and residue management systems, **Soil Biology & Biochemistry**, v. 36, p. 499-512, 2004.

STARK, C.H.; CONDRON, L.M.; O'CALLAGHAN, M.; STEWART, A.; DI, H.J. Differences in soil enzyme activities, microbial community structure and short-term nitrogen mineralisation resulting from farm management history and organic matter amendments. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 40, p. 1352–1363, 2008.

STRUDLEY, M.W.; GREEN, T.R. & ASCOUGH II, J.C. Tillage effects on soil hydraulic properties in space and time: State of the science. **Soil & Tillage Research**, v. 99, p. 4-48, 2008.

TAMIA, A.; MOREAU, R.; FORTIER, M.; YORO, G. Influence du travail du sol sur l'évolution physique d'un sol forestier ferrallitique après défrichement motorisé. **Étude et Gestion des Soils**, v. 6, p. 27-29, 1999.

TAVARES FILHO, J.; RALISCH, R.; GUIMARÃES, M.F.; MEDINA, C.C.; BALBINO, L.C.; NEVES, C.S.V.J. Método do perfil cultural para avaliações do estado físico de solos em condições tropicais. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 23, p. 393-399, 1999.

TAVARES FILHO, J.; BARBOSA, G. M. C.; GUIMARÃES, M. F.; FONSECA, I. C. B. Resistência do solo à penetração e desenvolvimento do sistema radicular do milho (*Zea mays*) sob diferentes sistemas de manejo em um Latossolo Roxo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.25, p.725-730, 2001.

THOMAS, G.A.; DALAL, R.C.; STANDLEY, J. No-till effects on organic matter, pH, cation exchange capacity and nutrient distribution in a Luvisol in the semi-arid subtropics. **Soil Tillage & Research**, v. 94, p. 295–304, 2007.

TIEDJE, J. M.; CHO, J. C.; MURRAY, A.; TREVES, D.; XIA, B.; AHOU, J. Soil teeming with life: new frontiers for soil science. In: REES, R. M.; BALL, B. C.;

CAMPEBELL, C. D.; WATSON, C. A. (Org.). **Sustainable management of soil organic matter**. Wallingford: CAB International, 2001. p. 393-412.

TÓTOLA, M.R.; CHAER, G.M. Microrganismos e processos microbiológicos como indicadores da qualidade dos solos. In: ALVAREZ, 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, v.2, 2002. p.195-276.

TREONIS, A.M.; AUSTIN, E.E.; JEFFREY, S.; BUYER, S.; MAUL, J.E.; SPICER, L.; ZASADA, I.A. Effects of organic amendment and tillage on soil microorganisms and microfauna, **Applied Soil Ecology**, v 46, p. 103-110, 2010.

TUKEY, J.W. One degree of freedom for non-additivity. **Biometrics**, v. 5, 232-242, 1949.

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

VARGAS, L.K.; SCHOLLES, D. Nitrogênio da biomassa microbiana, em solo sob diferentes sistemas de manejo, estimado por métodos de fumigação. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 22, p. 411-417, 1998.

VEIGA, M.; HORN, R.; REINERT, D.J.; REICHERT, J.M. Soil compressibility and penetrability of an Oxisol from southern Brazil, as affected by long-term tillage systems. **Soil & Tillage Research**, v. 92, p.104-113, 2007.

VIEIRA, S.R. Variabilidade espacial de argila, silte e atributos químicos em uma parcela experimental de um Latossolo Roxo de Campinas, SP. **Bragantia**, v. 56, p. 181-190, 1997.

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

WANG, Y.; KE, X.; WU, L.; LU, Y. Community composition of ammonia-oxidizing bacteria and archaea in rice field soil as affected by nitrogen fertilization. **Systematic & Applied Microbiology**, v. 32, p. 27-36, 2009.

WANG, Y.; TU, C.; CHENG, L.; LI, C.; GENTRY, L.F.; HOYT, G.D.; ZHANG, X.; HU, S. Long-term impact of farming practices on soil organic carbon and nitrogen pools and microbial biomass and activity. **Soil & Tillage Research**, v. 117, p. 8-16, 2011.

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

WARDLE, D.A. Impacts of disturbance on detritus food webs in agro-ecosystems of contrasting tillage and weed management practices. In: BEGON, M.; FITTER, A.H., eds. **Advances in ecological research**. London: Academic Press, 1995. p. 105-185.

WARDLE, D.A.; LAVELLE, P. Linkages between soil biota, plant litter quality and decomposition. In: CADISCH, G.; GILLER, K.E. (Ed.). **Driven by nature: plant litter quality and decomposition**. Wallingford: CAB International, 1997. p. 107-124.

WARDLE, D.A.; HUNGRIA, M. A biomassa microbiana do solo e sua importância nos ecossistemas terrestres. In: ARAÚJO, R.S.; HUNGRIA, M., (Eds.) **Microrganismos de importância agrícola**. Brasília: EMBRAPA-SPI, 1994. p. 195-216.

WEISBURG W.G.; BARNS S.M.; PELLETIER D.A.; LANE D.J. 16S ribosomal DNA amplification for phylogenetic study, **Journal of Bacteriology**, v. 173, p. 697-703, 1991.

WHITE, P.M., RICE, C.W. Tillage effects on microbial and carbon dynamics during plant residue decomposition. **Soil Science Society of America Journal**, v. 73, p. 138-145, 2009.

WHITE, T.J.; BRUNS, T.D.; LEE, S.; TAYLOR, J. Analysis of phylogenetic relationships by amplification and direct sequencing of ribosomal RNA genes. In: INNIS, M.A.; GELFAND, D.H.; SNINSKY, J.J.; WHITE, T.J. (Eds). **PCR protocols: a guide to methods and applications**. New York: Academic Press, 1990. p.315–322.

WITHMAN, W.B.; COLEMAN, D.C.; WIEBE, W.J. Prokaryotes: the unseen majority. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington, v.95, p.6578-6583, 1998.

WRIGHT, S.F., GREEN, V.S., CAVIGELLI, M.A. Glomalin in aggregate size classes from three different farming systems. **Soil & Tillage Research**, v. 94, p. 546–549, 2007.

YIN, C.; JONES K.L.; PETERSON, D.E.; GARRETT, K.A.; HULBERT, S.H.; PAULITZ, T.C. Members of soil bacterial communities sensitive to tillage and crop rotation. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 42, p. 2111-2118, 2010.

ZILLI, J.E.; RUMJANEK, N.G.; XAVIER, G.R.; COUTINHO, H.L.C.; NEVES, M.C.P. Diversidade microbiana como indicador de qualidade do solo. **Cadernos de Ciência e Tecnologia**, v. 20, p. 391-411, 2003.

ZOTARELLI, L.; ZATORRE, N.; BODDEY, R.M.; URQUIAGA, S.; JANTALIA, C.P.; FRANCHINI, J.C.; ALVES, B.J.R. Influence of no-tillage and frequency of a green manure legume in crop rotations for balancing N outputs and preserving soil organic C stocks, **Field Crop Research**, v.132, p. 185–195, 2012.

**ANEXO**

**Quadro 1** – Distribuição anual das espécies vegetais de inverno e verão no sistema de rotação de culturas desde a implantação do experimento, na safra 1988/89, até os dias atuais.

Ciclo da rotação	Safra	Cultura	
		Inverno	Verão
1º	1988/1989	-	Soja
	1989/1990	Aveia preta	Soja
	1990/1991	Tremoço branco	Milho
	1991/1992	Trigo	Soja
	1992/1993	Trigo	Soja
2º	1993/1994	Nabo forrageiro	Milho
	1994/1995	Aveia preta	Soja
	1995/1996	Trigo	Soja
	1996/1997	Trigo	Soja
3º	1997/1998	Tremoço branco	Milho
	1998/1999	Aveia preta	Soja
	1999/2000	Trigo	Soja
	2000/2001	Trigo	Soja
4º	2001/2002	Tremoço branco	Milho
	2002/2003	Aveia preta	Soja
	2003/2004	Trigo	Soja
	2004/2005	Trigo	Soja
5º	2005/2006	Tremoço branco	Milho
	2006/2007	Aveia preta	Soja
	2007/2008	Trigo	Soja
	2008/2009	Trigo	Soja

6º	2009/2010	Tremoço branco	Milho
	2010/2011	Aveia preta	Soja
	2011/2012	Trigo	Soja
	2012/2013	Trigo	Soja

Carbono da biomassa microbiana (CBM) nas estruturas dos perfis culturais de um Latossolo Vermelho distroférico após 22 anos sob plantio direto (PD), plantio direto escarificado (PDE) e plantio convencional (PC) em rotação (R) e sucessão (S) de culturas.

Manejos	Estruturas do Perfil Cultural								
	L $\Delta\mu$ pt mt	F $\mu\Delta$ pt mt	F $\Delta\mu$ gt	F $\Delta$ gt	C $\mu\Delta$	C $\mu\Delta/\Delta\mu$	C $\Delta\mu$	C $\Delta$	C $\mu$
PD-R <sup>1</sup>					702,9	665,3			557,1
PD-R					690,7	662,1			577
PD-S		627,80			610,1	659	602,1		545,7
PD-S		647,52			613,2	673	616,1		563,8
PDE-R		620,54	602,1		631,80	653,9			543,4
PDE-R		617,39	588,1		633,9	634,8			472,3
PDE-S		687,27			621,3	627,9		301,8	460,9
PDE-S		693,61			623,2	633,00		309,9	468,8
PC-R	367,43				413,2		489,10		361,6
PC-R	373,50				417,2		487,6		363,8
PC-S	350,45			347,7			372,9	261,8	291,9
PC-S	356,96			353,2			377,2	263,5	287,6

Modo de organização dos torrões: C, volume de solo contínuo; F, volume de solo fissurado; pt, pequenos torrões; mt, médios torrões; Estado interno dos torrões:  $\mu$ , poroso;  $\mu\Delta$ , poroso com indícios de compactação;  $\mu\Delta/\Delta\mu$ , porosidade intermediária;  $\Delta\mu$ , compacto com presença de alguma porosidade;  $\Delta$ , compacto sem porosidade visível a olho nú.

<sup>1</sup>Dados referentes a abertura de dois perfis de culturais por manejo.

Nitrogênio da biomassa microbiana (NBM) nas estruturas dos perfis culturais de um Latossolo Vermelho distroférico após 22 anos sob plantio direto (PD), plantio direto escarificado (PDE) e plantio convencional (PC) em rotação (R) e sucessão (S) de culturas.

Manejos	Estruturas do Perfil Cultural								
	L $\Delta\mu$ pt mt	F $\mu\Delta$ pt mt	F $\Delta\mu$ gt	F $\Delta$ gt	C $\mu\Delta$	C $\mu\Delta/\Delta\mu$	C $\Delta\mu$	C $\Delta$	C $\mu$
PD-R <sup>1</sup>					67,54	66,04			38,86
PD-R					71,53	64,00			42,82
PD-S		60,69			76,90	62,37	65,33		42,08
PD-S		64,65			70,98	68,69	61,84		40,00
PDE-R		57,62	60,34		64,48	56,2			43,62
PDE-R		61,68	56,02		68,00	58,01			39,00
PDE-S		59,86			67,84	58,47		35,10	40,93
PDE-S		55,78			63,47	59,37		39,19	38,83
PC-R	28,85				31,82		33,48		19,36
PC-R	26,93				29,56		32,57		21,36
PC-S	23,89			26,84			27,86	17,80	19,62
PC-S	21,87			22,64			25,98	23,60	23,05

Modo de organização dos torrões: C, volume de solo contínuo; F, volume de solo fissurado; pt, pequenos torrões; mt, médios torrões; Estado interno dos torrões:  $\mu$ , poroso;  $\mu\Delta$ , poroso com indícios de compactação;  $\mu\Delta/\Delta\mu$ , porosidade intermediária;  $\Delta\mu$ , compacto com presença de alguma porosidade;  $\Delta$ , compacto sem porosidade visível a olho nú.

<sup>1</sup>Dados referentes a abertura de dois perfis de culturais por manejo.

Área das estruturas (cm<sup>2</sup>) dos perfis culturais de um Latossolo Vermelho distroférico após 22 anos sob plantio direto (PD), plantio direto escarificado (PDE) e plantio convencional (PC) em rotação (R) e sucessão (S) de culturas.

Manejos	Estruturas do Perfil Cultural								
	LΔμ pt mt	FμΔ pt mt	FΔμ gt	FΔ gt	CμΔ	CμΔ/Δμ	CΔμ	CΔ	Cμ
PD-R <sup>1</sup>					911,66	2184,87			7284,60
PD-R					615,61	2242,19			7056,09
PD-S		107,37				2729,34			6637,39
PD-S					443,62	2845,55	382,30		6561,16
PDE-R		1088,98	364,13			2598,55			6513,17
PDE-R		952,17	228,76		391,22	2644,36			6688,63
PDE-S		367,14			304,91	2213,52			6287,47
PDE-S					582,87	1798,11		185,63	6658,12
PC-R	1370,71						2352,37		5694,95
PC-R	1196,27				605,81		2091,63		5524,74
PC-S	1280,19			784,67			1810,22	470,22	5546,76
PC-S	1327,81			808,31			1917,08		5437,19

Modo de organização dos torrões: C, volume de solo contínuo; F, volume de solo fissurado; pt, pequenos torrões; mt, médios torrões; Estado interno dos torrões: μ, poroso; μΔ, poroso com indícios de compactação; μΔ/Δμ, porosidade intermediária; Δμ, compacto com presença de alguma porosidade; Δ, compacto sem porosidade visível a olho nú.

<sup>1</sup>Dados referentes a abertura de dois perfis de culturais por manejo.

**Figura 3.1** – Perfis culturais de um Latossolo Vermelho distroférico após 22 anos sob plantio direto (PD), plantio direto escarificado (PDE) e plantio convencional (PC) em rotação (R) e sucessão (S) de culturas. Modo de organização dos torrões: C, volume de solo contínuo; F, volume de solo fissurado; L, volume de solo livre; pt, pequenos torrões; mt, médios torrões; Estado interno dos torrões:  $\mu$ , poroso;  $\mu\Delta$ , poroso com indícios de compactação;  $\mu\Delta/\Delta\mu$ , porosidade intermediária;  $\Delta\mu$ , compacto com presença de alguma porosidade;  $\Delta$ , compacto sem porosidade visível a olho nú; Estrutura resultante da atividade da macrofauna: G, galeria (3 a 10 cm Ø); C, câmara (> 10 cm Ø); Rotação: tremoço/milho/aveia preta/soja/trigo/soja/trigo/soja; Sucessão: soja /trigo.

