



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

GABRIELA MACHINESKI DA SILVA

**ATRIBUTOS QUÍMICOS E MICROBIOLÓGICOS DE UM
LATOSSOLO VERMELHO EUTROFÉRICO COM
APLICAÇÃO DE DEJETOS DE SUÍNOS**

Londrina
2019

GABRIELA MACHINESKI DA SILVA

**ATRIBUTOS QUÍMICOS E MICROBIOLÓGICOS DE UM
LATOSSOLO VERMELHO EUTROFERRICO COM
APLICAÇÃO DE DEJETOS DE SUÍNOS**

Tese de Doutorado apresentado à
Universidade Estadual de Londrina - UEL,
como requisito para a obtenção do título de
Doutora em Agronomia.

Orientador: Prof. Dra. Maria de Fátima
Guimarães

Co-orientador: Dr. Arnaldo Colozzi Filho

Londrina
2019

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UEL

S586a Silva, Gabriela Machineski da.
Atributos químicos e microbiológicos de um latossolo vermelho eutroférrico com aplicação de dejetos de suínos. / Gabriela Machineski da Silva. - Londrina, 2019.
103 f. : il.

Orientador: Maria de Fátima Guimarães.
Coorientador: Arnaldo Colozzi Filho.
Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Agronomia, 2019.
Inclui bibliografia.

1. Indicadores da qualidade do solo - Tese. 2. Aplicação de dejetos de suínos ao solo - Tese. 3. Sequenciamento metagenômico - Tese. 4. Biomassa e atividade microbiana - Tese. I. Guimarães, Maria de Fátima. II. Colozzi Filho, Arnaldo. III. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Agronomia. IV. Título.

CDU 63

GABRIELA MACHINESKI DA SILVA

**ATRIBUTOS QUÍMICOS E MICROBIOLÓGICOS DE UM LATOSSOLO
VERMELHO EUTROFÉRICO COM APLICAÇÃO DE DEJETOS DE
SUÍNOS**

Tese de Doutorado apresentado à
Universidade Estadual de Londrina - UEL,
como requisito para a obtenção do título de
Doutor em Agronomia.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dra. Maria de Fátima Guimarães
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Prof. Dr. Ricardo Ralisch
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Prof. Dr. João Tavares Filho
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Prof. Dr. Osmar Rodrigues Brito
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Dra. Krisle da Silva
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Londrina, 18 de dezembro de 2019.

AGRADECIMENTOS

À Deus por tudo!

À professora e orientadora Maria de Fátima Guimarães, meu muito obrigado pela confiança, paciência e orientação nessa etapa de crescimento profissional e pessoal.

Ao pesquisador e co-orientador Arnaldo Colozzi Filho, agradeço imensamente a oportunidade de realizar esse trabalho, à confiança, à busca de recursos que tornou possível a execução das análises e as orientações com importantes e enriquecedoras sugestões.

À UEL em particular o programa de Pós-graduação em Agronomia pela oportunidade, qualidade e formação profissional. Ao IAPAR pela estrutura e apoio técnico.

À CAPES e IAPAR pelo auxílio financeiro.

À todos os colegas do Laboratório de Microbiologia do Solo do IAPAR que estiveram no lab entre os anos de 2016 e 2019 e contribuíram com as análises, pela alegre convivência, companheirismo e conhecimento compartilhado. Agradeço o apoio técnico e científico da pesquisadora Diva Andrade, dos analistas Maria Matos e Oswaldo Machineski e dos técnicos Antônio Rosa, Ayrton Maia e Paulo Sérgio. Em especial, agradeço às amigas Andrea, Amanda e Júlia pela ajuda nas análises e discussões.

À equipe do IAPAR – Palotina e a pesquisadora coordenadora do projeto Graziela Barbosa pela condução do experimento e auxílio na coleta.

Ao Laboratório de Solos do IAPAR pela colaboração na análise química das amostras.

Ao professor Dr. Fernando D. Andreote da ESALQ/USP pela colaboração no sequenciamento das amostras.

À minha preciosa família: aos meus queridos pais, Oswaldo e Rute, pelo incentivo e amor dedicados a mim; meu esposo e companheiro Fábio, pelo inestimável apoio, amor e tolerância durante esses anos; minha irmã Izabella pelo amor e amizade; ao meu filho Lucas, que chegou no meio do doutorado e me fez enxergar um novo mundo e me faz querer batalhar em prol de sua felicidade. Vocês são essenciais.

Aos amigos pós-graduandos do programa de Pós-graduação em Agronomia da UEL e professores e amigos da UNOPAR.

É com muita satisfação que expresso aqui o meu mais profundo agradecimento a todos aqueles que tornaram a realização deste trabalho possível.

*“What is essential is invisible to the eye”
(Antoine de Saint-Exupéry)*

MACHINESKI DA SILVA, Gabriela. **Atributos químicos e microbiológicos de um latossolo vermelho eutroférrico com aplicação de dejetos de suínos.** 2019. 103 f. Tese de doutorado em Agronomia – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2019.

RESUMO

A utilização de dejetos de animais na agricultura como fertilizante orgânico visa suprir elementos essenciais para a nutrição das plantas, dispensa as fertilizações químicas, além de melhorar as qualidades físico-química e aumentar a biomassa microbiana do solo. Contudo, aplicações por longo período podem ocasionar desequilíbrio na disponibilidade de nutrientes no solo e até resultar em contaminação ambiental. Para monitorar essas mudanças, as avaliações da atividade biológica e da biomassa microbiana têm sido frequentemente utilizadas por serem mais sensíveis e eficientes para aferir, em curto e longo prazo, variações nas propriedades do solo. O presente estudo teve por finalidade avaliar os efeitos da aplicação contínua e por longo período de dejetos de suínos nos atributos químicos e na composição taxonômica e atividade enzimática dos micro-organismos em solos agrícolas do Estado do Paraná. Assim sendo, o estudo foi dividido em duas partes com os seguintes objetivos: i) avaliar as alterações dos bioindicadores microbianos e estabelecer sua correlação com a produtividade da soja em solos com aplicações anuais contínuas por 20 anos de diferentes doses de dejetos de suíno (0, 30, 60, 90 e 120 m³ ha⁻¹ ano⁻¹) e diferentes sistemas de preparos de solo (plantio direto, escarificação e preparo convencional); ii) avaliar as alterações nos indicadores químicos e biológicos e na estrutura da comunidade microbiana do solo após 20 anos de aplicação de diferentes doses de dejetos de suínos e comparar com as alterações causadas no primeiro ano de aplicação. Os resultados obtidos indicam que a aplicação contínua de dejetos suínos e os diferentes sistemas de preparo de solo interferem nos atributos químicos e microbiológicos do solo, aumentando a disponibilidade de nutrientes, a biomassa microbiana e a atividade biológica do solo, principalmente nas áreas manejadas sob sistema de plantio direto. O aumento das doses de dejetos também proporcionou aumento nos teores de nutriente, principalmente fósforo, na biomassa microbiana e na produtividade da soja. A produtividade da cultura de soja correlacionou-se positivamente apenas com a atividade da enzima arilsulfatase do solo. Na segunda parte do estudo foi possível observar que no primeiro ano da aplicação de dejetos de suínos ocorreu aumento na disponibilidade de nutrientes, porém ocorreu também um grande distúrbio na comunidade microbiana do solo, com aumento da taxa de liberação de CO₂ e do quociente metabólico, mas sem alterar significativamente os grupos taxonômicos que compõem a comunidade microbiana do solo. Após 20 anos de aplicação anual contínua de dejetos de suínos no solo, principalmente nas doses igual ou maior que 90 m³ ha⁻¹ ano⁻¹, ocorreu aumento excessivo nos teores de alguns nutrientes, principalmente os teores de fósforo do solo, e causou alterações na composição da comunidade microbiana, aumentando a ocorrência dos filos *Firmicutes* e *Acidobacteria* que compõem a comunidade dos dejetos. Embora essa composição da comunidade microbiana tenha sido alterada, os resultados da atividade enzimática mostraram uma redundância metabólica, principalmente na atividade da enzima fosfatase no solo. Assim, com este estudo entende-se que as doses de

dejetos de suínos aplicadas continuamente no solo por longos períodos devem ser ponderadas para evitar alterações negativas na qualidade química e biológica do solo e ocasionar contaminações ambientais.

Palavras-chave: Atividade enzimática. Bioindicadores. Chorume. Diversidade taxonômica. Diversidade funcional.

MACHINESKI DA SILVA, Gabriela. **Microbial and chemical attributes of a red eutrophic Oxisoil under swine slurry application**. 2019. 103 f. Tese de Doutorado em Agronomia – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2019.

ABSTRACT

The use of animal waste in agriculture as organic fertilizer aims to supply essential elements for plant nutrition, spares chemical fertilization, in addition to improving the physical-chemical qualities and increasing the soil's microbial biomass. However, long-term applications can cause imbalance in the availability of nutrients in the soil and, even, result in environmental contamination. To monitor these changes, assessments of biological activity and microbial biomass have often been used as they are more sensitive and efficient to measure, in the short and long term, variations in soil properties. This study aimed to evaluate the effects of continuous and long-term application of swine slurry on chemical attributes and taxonomic composition and enzymatic activity of microorganisms in agricultural soils in the State of Paraná. Therefore, the study was divided into two parts with the following objectives: i) to assess changes in microbial bioindicators and to establish their correlation with soybean productivity in soils with continuous annual applications for 20 years of different doses of swine slurry (0, 30, 60, 90 and 120 m³ ha⁻¹ year⁻¹) and different soil tillage systems (no-tillage, scarification and conventional tillage); ii) to evaluate changes in chemical and biological indicators and in the structure of the soil microbial community after 20 years of application of different doses of swine slurry and compare with the changes caused in the first year of application. The results obtained indicate that the continuous application of swine slurry and the different soil tillage systems interfere with the chemical and microbiological attributes of the soil, increasing the availability of nutrients, the microbial biomass and the biological activity of the soil, especially in the areas managed under no-tillage system. The increase in swine slurry doses also provided an increase in nutrient contents, mainly phosphorus, in microbial biomass and in soybean productivity. The productivity of the soybean culture was positively correlated only with the activity of the arylsulfatase enzyme in the soil. In the second part of the study, it was possible to observe that in the first year of the application of swine manure there was an increase in the availability of nutrients, but there was also a major disturbance in the soil microbial community, with an increase in the rate of CO₂ release and the metabolic quotient, but without significantly altering the taxonomic groups of soil microbial community. After 20 years of continuous annual application of swine slurry to the soil, mainly at doses equal to or greater than 90 m³ ha⁻¹ year⁻¹, some nutrients content of the soil, mainly the phosphorus levels, increase excessively and causes changes in the composition of the microbial community, increasing the occurrence of *Firmicutes* and *Acidobacteria* phyla founded composing the slurry community. Although this composition of the microbial community has been altered, the results of the enzymatic activity showed a metabolic redundancy, mainly in the activity of the phosphatase enzyme in the soil. Thus, with this study it is understood that the doses of swine manure applied continuously to the soil for long periods should be considered to avoid negative changes in the chemical and biological quality of the soil and cause environmental contamination.

Key-words: Enzyme activity. Bioindicator. Manure. Taxonomic diversity. Functional Diversity.

LISTA DE FIGURAS

| | |
|---|----|
| Figura 2.1 Linha do tempo e principais países das publicações relacionadas ao uso de dejetos de suínos na agricultura..... | 21 |
| Figura 2.2 <i>Network</i> baseada nos termos de maior ocorrência no metadado avaliado pelo agrupamento VOS..... | 22 |
| Figura 2.3 <i>Network</i> baseada nos termos de menor ocorrência no metadado avaliado pelo agrupamento VOS..... | 23 |
| Figura 3.1 Atributos químicos em relação aos diferentes sistemas de preparo do solo. Palotina, PR. Plantio Convencional (aração e gradagem), Escarificação e Plantio direto. Letras iguais não se diferem pelo teste de Tukey. | 47 |
| Figura 3.2 Variações dos atributos químicos do solo em função aplicação de dejetos suínos. Palotina, PR..... | 48 |
| Figura 3.3 Variações dos teores de Carbono da Biomassa Microbiana (CBM) e da atividade da enzima fosfatase ácida (liberação de p-Nitrofenol) no solo submetido a diferentes preparos: Plantio Convencional (aração e gradagem), Escarificação e Plantio direto. Letras iguais não se diferem pelo teste de Tukey ($p < 0,05$)..... | 51 |
| Figura 3.4 Ajuste da variação dos valores de Carbono da Biomassa Microbiana (CBM) do solo em função das doses de dejetos de suíno. | 51 |
| Figura 3.5 Ajuste das variações de produtividade da cultura da soja em função das doses de dejetos suínos na safra 2016. Palotina, PR..... | 52 |
| Figura 3.6 Relação entre a atividade da enzima arilsulfatase e a produtividade da soja na safra de 2016 em Palotina-PR. Dados coletados em experimento sob diferentes preparos de solo (Plantio direto, escarificação e plantio convencional) e cinco doses de dejetos de suínos ($0, 30, 60, 90$ e $120 \text{ m}^3 \text{ ha}^{-1} \text{ ano}^{-1}$)..... | 53 |
| Figura 4.1 Atributos químicos do solo influenciados pelos diferentes tempos de aplicação de dejetos de suínos (Aplicações consecutivas por 20 anos e primeiro ano de aplicação). Letras iguais não se diferem pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$)..... | 64 |
| Figura 4.2 Modelo de regressão ajustadas para explicar o magnésio e pH do solo nas diferentes doses de dejetos de suínos ($0, 30, 60, 90$ e $120 \text{ m}^3 \text{ ha}^{-1} \text{ ano}^{-1}$). | 64 |
| Figura 4.3 Desdobramento da interação entre os períodos de aplicação dentro das doses de dejetos de suínos, referente ao fósforo no solo na profundidade de 0-10cm. Médias com letras iguais não se diferem pelo Teste Tukey ($p \leq 0,05$). ns= não significativo..... | 65 |
| Figura 4.4 Modelo de regressão para explicar o desdobramento da interação doses de dejetos de suínos dentro dos períodos de aplicação (A: primeiro ano de aplicação; B: aplicações consecutivas por 20 anos), referente ao fósforo no solo na profundidade de 0-10 cm. ns= não significativo | 65 |
| Figura 4.5 Desdobramento da interação entre períodos de aplicação dentro das doses de dejetos de suínos, referente ao alumínio no solo na profundidade de 0-10 cm. Médias com letras iguais não se diferem pelo Teste Tukey ($p \leq 0,05$). ns= não significativo..... | 66 |
| Figura 4.6 Modelo de regressão não linear para explicar o desdobramento da interação doses de dejetos de suínos dentro dos períodos de aplicação (A: aplicações consecutivas por 20 anos; B: primeiro ano de aplicação), referente ao alumínio no solo na profundidade de 0-10 cm. ns= não significativo. | 66 |
| Figura 4.7 Atributos microbianos do solo (RM: respiração microbiana; $q\text{CO}_2$: quociente metabólico; NBM: nitrogênio da biomassa microbiana; atividade das enzimas fosfatase básica e arilsulfatase) com diferença significativa nos diferentes | |

| | |
|--|----|
| ptempos de aplicação de dejetos de suínos (Aplicações consecutivas por 20 anos e primeiro ano de aplicação). Letras iguais não se diferem pelo teste de Tukey. | 67 |
| Figura 4.8 Desdobramento da interação entre os períodos de aplicação dentro das doses de dejetos de suínos, referente à atividade da enzima fosfatase ácida no solo na profundidade de 0-10cm. Médias com letras iguais não se diferem pelo Teste Tukey ($p < 0,05$). ns= não significativo. | 67 |
| Figura 4.9 Análise de componentes principais das áreas com diferentes tempos de aplicação de dejetos de suínos (Aplicações consecutivas por 20 anos-AC e primeiro ano de aplicação-PA) e diferentes doses de dejetos de suínos (0, 30, 60, 90 e 120 m ³ ha ⁻¹ ano ⁻¹) com base nos atributos químicos (A) e microbiológicos (B)..... | 69 |
| Figura 4.10 Frequência dos diferentes filos microbianos de áreas com diferentes tempos de aplicação de dejetos de suínos (Aplicações consecutivas por 20 anos-AC e primeiro ano de aplicação-PA) e diferentes doses de dejetos de suínos (30, 60, 90 e 120 m ³ ha ⁻¹ ano ⁻¹), área sem aplicação-D0, amostra do dejetos de suíno e de uma mata sem perturbações como referência. | 71 |
| Figura 4.11 Análise de componentes principais (PCA) pelo Tukey-Kramer ($p < 0,05$) com base na frequência de filos encontradas nas amostras de solo e do dejetos de suíno. | 71 |
| Figura 4.12 PCA baseada no desdobramento de doses de dejetos dentro dos diferentes tempos de aplicação de dejetos (A: primeira aplicação, B: aplicações contínuas por 20 anos), com a frequência de filos observados nas amostras pelo método Tukey-Kramer ($p \leq 0,05$). | 71 |
| Figura 4.13 Comparação do perfil taxonômico entre os diferentes tempos de aplicação de dejetos, PA (primeira aplicação) e AC (aplicações contínuas por 20 anos), baseado na frequência de filos observados nas amostras. p -valores foram corrigidos pelo método de Benjamini-Hochberg..... | 72 |
| Figura 4.14 Comparação do perfil taxonômico no desdobramento dos diferentes tempos de aplicação de dejetos, PA (primeira aplicação) e AC (aplicações contínuas por 20 anos) dentro das doses de dejetos, baseado na frequência de filos observados nas amostras. p -valores foram corrigidos pelo método de Benjamini-Hochberg..... | 72 |

LISTA DE TABELAS

| | |
|---|----|
| Tabela 2.1 Levantamento bibliográfico de doses de dejetos usadas na agricultura e os indicadores avaliados..... | 24 |
| Tabela 3.1 Análise química do dejetos de suíno aplicado no solo como fertilizante para produção de soja em Palotina-PR..... | 43 |
| Tabela 3.2 Análise química do solo de Palotina-PR após 20 anos com diferentes manejos (Plantio direto, escarificação e plantio convencional) e cinco doses de dejetos (0, 30, 60, 90 e 120 m ³ ha ⁻¹ ano ⁻¹) de suíno na profundidade de 0-10 cm..... | 44 |
| Tabela 3.3 Análise de variância dos atributos químicos: fósforo (P), carbono (C), pH, alumínio (Al), acidez potencial (H+Al), cálcio (Ca), magnésio (Mg), potássio (K), enxofre (S), capacidade de troca de cátions a pH 7 (T) e saturação por bases (V) de solos com diferentes preparos (Plantio direto, escarificação e plantio convencional) e cinco doses de dejetos de suínos (0, 30, 60, 90 e 120 m ³ ha ⁻¹ ano ⁻¹) na safra verão para cultivo de soja. | 47 |
| Tabela 3.4 Análise de variância dos indicadores microbianos: Respiração microbiana (RM), Carbono da Biomassa Microbiana (CBM), quociente metabólico (qCO ₂), atividade das enzimas β-glucosidase, fosfatase ácida, fosfatase básica e arilsulfatase de solos com diferentes preparos (Plantio direto, escarificação e plantio convencional) e cinco doses de dejetos de suínos (0, 30, 60, 90 e 120 m ³ ha ⁻¹ ano ⁻¹) na safra verão para cultivo de soja..... | 49 |
| Tabela 3.5 Análise de variância da produtividade da soja em diferentes preparos de solo (Plantio direto, escarificação e plantio convencional) e cinco doses de dejetos de suínos (0, 30, 60, 90 e 120 m ³ ha ⁻¹ ano ⁻¹) em Palotina-PR. | 52 |
| Tabela 3.6 Correlação de Pearson dos atributos microbianos Respiração microbiana (RM), Carbono da Biomassa Microbiana (CBM), quociente metabólico (qCO ₂), atividade das enzimas β-glucosidase, fosfatase ácida, fosfatase básica e arilsulfatase com a produtividade da Soja na safra de 2016 em Palotina-PR. | 53 |
| Tabela 4.1 Análise química do solo de Palotina-PR após diferentes tempos de aplicação (20 anos e 1 ano) e cinco doses de dejetos de suínos (0, 30, 60, 90 e 120 m ³ ha ⁻¹ ano ⁻¹) na profundidade de 0-10 cm utilizados para cultivo de soja na safra de 2016. | 61 |
| Tabela 4.2 Análise química do dejetos de suíno aplicado no solo como fertilizante para produção de soja em Palotina-PR..... | 62 |
| Tabela 4.3 Análise de variância dos atributos químicos: fósforo (P), carbono (C), pH, alumínio (Al), acidez potencial (H+Al), cálcio (Ca), magnésio (Mg), potássio (K), enxofre (S), capacidade de troca de cátions a pH 7 (T) e saturação por bases (V) de solos sob diferentes tempos de aplicação (20 anos consecutivos e primeiro ano) e cinco doses de dejetos de suínos (0, 30, 60, 90 e 120 m ³ ha ⁻¹ ano ⁻¹) na safra verão para cultivo de soja na profundidade de 0-10 cm..... | 63 |
| Tabela 4.4 Análise de variância dos indicadores microbianos: Respiração microbiana (RM), Carbono da Biomassa Microbiana (CBM), quociente metabólico (qCO ₂), Nitrogênio da Biomassa Microbiana (NBM), atividade das enzimas β-glucosidase, fosfatase ácida, fosfatase básica e arilsulfatase de solos com diferentes tempos de aplicação de dejetos de suínos (Aplicações consecutivas por 20 anos e primeiro ano | |

de aplicação) e cinco doses de dejetos de suínos (0, 30, 60, 90 e 120 m³ ha⁻¹ ano⁻¹)
na safra verão para cultivo de soja.....67

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

| | |
|------------------|---|
| AC | Aplicações consecutivas |
| Al | Alumínio |
| Ca | Cálcio |
| CBM | Carbono da Biomassa Microbiana |
| DLS | Dejeto Líquido de Suíno |
| H+Al | Acidez potencial |
| K | Potássio |
| Mg | Magnésio |
| N | Nitrogênio |
| NBM | Nitrogênio da Biomassa Microbiana |
| ns | Não significativo |
| P | Fósforo |
| PA | Primeira aplicação |
| PC | Plantio Convencional |
| PD | Plantio Direto |
| RM | Respiração Microbiana |
| S | Soma de bases |
| T | Capacidade de troca de cátions (pH 7,0) |
| V | Saturação por bases |
| qCO ₂ | Quociente metabólico |

SUMÁRIO

| | | |
|-------|--|----|
| 1 | INTRODUÇÃO | 14 |
| 1.1 | Objetivos | 15 |
| 1.1.1 | Objetivo Geral | 15 |
| 1.1.2 | Objetivos Específicos..... | 15 |
| 2 | Revisão de literatura..... | 17 |
| 2.1 | Resíduos Orgânicos na Agricultura..... | 17 |
| 2.1.1 | Dejetos de Suínos..... | 18 |
| 2.1.2 | Análise bibliométrica do uso de dejetos de suínos na agricultura | 19 |
| 2.1.3 | Dose de dejetos de suínos na agricultura..... | 24 |
| 2.1.4 | Manejo do solo e aplicação de dejetos de suínos..... | 26 |
| 2.2 | Qualidade do Solo..... | 29 |
| 2.2.1 | Indicadores da Qualidade do Solo | 30 |
| 2.2.2 | Alterações nos atributos físicos e químicos do solo com aplicação de dejetos de suínos..... | 31 |
| 2.3 | Diversidade e Atividade Microbiana do Solo..... | 33 |
| 2.3.1 | Diversidade Microbiana Genética e Funcional..... | 34 |
| 2.3.2 | Biomassa e Atividade Microbiana Solo..... | 35 |
| 2.3.3 | Diversidade microbiana em solos com aplicação de dejetos de suínos..... | 38 |
| 3 | Artigo A – Sistemas de preparo do solo e aplicação de dejetos de suínos por longos períodos modificam atributos químicos e microbiológicos do solo e a produtividade da soja | 40 |
| 3.1 | Resumo..... | 40 |
| 3.2 | Abstract..... | 40 |
| 3.3 | Introdução..... | 41 |
| 3.4 | Material e métodos..... | 42 |
| 3.4.1 | Delineamento Experimental e Coleta das Amostras..... | 42 |
| 3.4.2 | Atributos Químicos do Solo | 43 |
| 3.4.3 | Biomassa e Atividade Microbiana | 43 |
| 3.4.4 | Produtividade da Soja..... | 44 |
| 3.4.5 | Análises estatísticas | 44 |
| 3.5 | Resultados e Discussão..... | 44 |
| 3.6 | Conclusões | 55 |
| 4 | Artigo B – Atributos químicos e composição e atividade da comunidade microbiana do solo em função do tempo e doses de aplicação de dejetos de suínos..... | 56 |
| 4.1 | Resumo..... | 56 |
| 4.2 | Abstract..... | 56 |
| 4.3 | Introdução..... | 57 |
| 4.4 | MATERIAL E MÉTODOS..... | 58 |
| 4.4.1 | Delineamento Experimental e Coleta das Amostras..... | 58 |
| 4.4.2 | Atributos Químicos do Solo e dos Dejetos de Suínos..... | 59 |
| 4.4.3 | Biomassa e atividade microbiana | 59 |
| 4.4.4 | Extração e sequenciamento de DNA metagenômico..... | 60 |
| 4.4.5 | Análises estatísticas | 61 |
| 4.5 | Resultados e Discussão..... | 61 |
| 4.5.1 | Resultados..... | 61 |

| | | |
|-------|----------------------------|----|
| 4.5.2 | Discussão | 73 |
| 4.6 | Conclusões | 78 |
| 5 | CONSIDERAÇÕES FINAIS | 79 |
| 6 | REFERÊNCIAS | 81 |

1 INTRODUÇÃO

O aumento da produção animal nas atividades agropecuárias apresenta um gargalo a ser solucionado que é o descarte da grande quantidade de dejetos gerados. Esses dejetos animais são constituídos de restos de alimentos, fezes, urinas entre outros compostos, e dependendo da forma de disposição final no ambiente podem ocasionar contaminação ambiental.

Atualmente, a forma de disposição final indicada para os dejetos é a utilização na agricultura como adubo orgânico, pois contêm um estoque de elementos essenciais que podem ser disponibilizados para as plantas. Os efeitos positivos da aplicação desses dejetos em solos agrícolas vêm sendo reportados em numerosos estudos, pois sua aplicação na lavoura pode dispensar parte das onerosas aplicações de fertilizantes industrializados, agir como condicionador do solo, devido ao seu alto teor de matéria orgânica, e melhorar seus atributos físicos, químicos e microbiológicos.

Todavia, embora seja uma prática há muito usada na agricultura, ainda persistem alguns problemas decorrentes da aplicação de dejetos no solo que precisam ser solucionados. As aplicações de dejetos por longo período podem ocasionar desequilíbrio na disponibilidade de nutrientes no solo. Esses excedentes podem promover a eutrofização de corpos hídricos e poluir o ar atmosférico, causando chuva ácida. Assim, são cada vez mais necessários estudos de monitoramento do impacto ambiental causado pela utilização desses dejetos no ambiente.

Em áreas que recebem aplicações de dejetos animais, os processos microbianos e a atividade biológica no solo têm se mostrado indicadores sensíveis de curto e longo prazo para aferir mudanças nas propriedades do solo. Alterações na comunidade microbiana podem ocorrer mais rapidamente do que nas características químicas ou físicas do solo, o que as tornam bons indicadores para monitorar a qualidade do solo. Todavia, pouco se conhece sobre os efeitos da deposição de dejetos animais na composição da microbiota do solo.

Estudos relacionados à compreensão dos efeitos dessas ações sobre a estrutura da comunidade microbiana são essenciais, pois os microorganismos desempenham papel relevante para a biosfera, catalisando processos bioquímicos responsáveis pela mineralização dos compostos orgânicos presentes

nos dejetos animais e disponibilizando para as plantas diferentes nutrientes.

Embora admitida a relevância dos estudos microbiológicos, como análises de diversidade e atividade microbiana, como ferramentas úteis para determinar como certos ambientes respondem a manejos distintos e estratégias de fertilização, ainda é necessário elucidar quais as alterações causadas na composição da comunidade do solo com aplicações por longo período de dejetos animais como fertilizantes.

Assim, o presente estudo pode ampliar o conhecimento sobre os efeitos de aplicações contínuas de dejetos animais, em particular o dejetos de suínos, utilizados como fertilizantes orgânicos nos atributos químicos e biológicos do solo, apontar diretrizes para a prática de aplicação de dejetos no solo com base nos resultados obtidos e identificar novos gargalos ainda a serem elucidados.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo Geral

Avaliar os efeitos da aplicação contínua de dejetos de suínos nos atributos químicos e microbiológicos em um Latossolo Vermelho eutrófico no Estado do Paraná.

1.1.2 Objetivos Específicos

- Avaliar as características químicas do solo com adição de diferentes doses de dejetos de suínos e a diferentes sistemas de preparo de solo.
- Avaliar e analisar as alterações na biomassa e na atividade microbiana no solo com a adição de diferentes doses de dejetos de suínos e diferentes sistemas de preparo de solo.
- Correlacionar os bioindicadores da qualidade do solo com a produtividade da cultura da soja.
- Avaliar a composição química e microbiológica do solo e do dejetos e analisar as alterações do solo com aplicação de diferentes doses de dejetos a

curto (primeira aplicação) e longo prazo (aplicação por 20 anos).

- Acessar, por meio do sequenciamento metagenômico, a composição e estrutura da comunidade microbiana dos dejetos de suínos e do solo, após aplicações a curto (primeira aplicação) e longo prazo (aplicação por 20 anos), em área de cultivo de soja.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 RESÍDUOS ORGÂNICOS NA AGRICULTURA

O uso de resíduos orgânicos na agricultura é uma forma de disposição que minimiza os problemas decorrentes de seu descarte ambientalmente inadequado em aterros sanitário ou corpos hídricos (Bertoncini, 2014). Esses resíduos quando adicionados ao solo trazem benefícios com o aproveitamento do material orgânico e retorno de vários elementos químicos ao seu ciclo biogeoquímico.

A utilização dos resíduos orgânicos na agricultura é uma alternativa muito utilizada em vários países, como Estados Unidos, Holanda, Austrália, entre outros. É mundialmente difundido o uso de resíduos orgânicos urbanos como fertilizantes e/ou condicionadores do solo, destacando-se o composto de lixo e o lodo de esgoto. Entre os resíduos orgânicos, também merecem destaque os oriundos da agroindústria (Pires; Mattiazzo, 2007), pois, em função da sua origem, a probabilidade destes apresentarem contaminantes em sua composição é pequena, e os dejetos animais.

No Brasil, a lei 12.305/2010 que dispõe a respeito da Política Nacional de Resíduos Sólidos em seu artigo 47 proíbe o descarte de resíduos orgânicos em quaisquer corpos hídricos, lançamento in natura a céu aberto e a queima a céu aberto ou em recipientes, instalações e equipamentos não licenciados para essa finalidade (BRASIL, 2010). Ainda, a resolução do CONAMA n. 375/2006 define os critérios e procedimentos para o uso de resíduos orgânicos na agricultura (CONAMA, 2006).

Dentre os resíduos orgânicos encontram-se aqueles gerados pelas atividades agropecuárias, denominados dejetos animais. Na composição dos dejetos animais são encontrados restos de alimentos, fezes, urinas entre outros componentes provenientes da granja. Quando utilizados na agricultura, podem disponibilizar, através da mineralização de seus compostos orgânicos, elementos essenciais para as plantas como: N, P, K, Ca, Mg, S, Cu, Zn e B (Wander, 2015). Alguns estudos mostram que o uso de dejetos traz benefícios aos solos agrícolas, pois podem suprir as necessidades nutricionais das plantas, principalmente com o aumento da disponibilidade de nitrogênio e fósforo no solo (Bonten et al., 2014) e

reduzir o custo de produção relacionado às onerosas aplicações de fertilizantes industrializados; melhorar a qualidade físico-química do solo (Scheid et al., 2020); suprimir doenças de plantas (Hoitink; Boehm, 1999) e aumentar a biomassa microbiana (Jedidi et al., 2004).

No entanto, quando se pretende viabilizar o uso de dejetos na agricultura, vários aspectos devem ser observados: aplicações por longos períodos podem levar a um aumento excessivo de alguns nutrientes no solo, dependendo da composição química do dejetos considerado, uma vez que, nem todos e nem a quantidade total de um determinado nutriente são absorvidos pelas plantas (Diesel et al., 2002). Nesse sentido, os excedentes de nutrientes no solo, principalmente fósforo e nitrogênio, podem causar contaminação tanto na atmosfera como em corpos hídricos (e.g. eutrofização, volatilização de NH_3 e chuvas ácidas) (FAO, 2005). Assim, a adequação das doses de dejetos animais a utilizar na exploração agrícola, visando o seu aproveitamento racional, deve ser precedida de estudos periódicos para avaliação das alterações dos atributos físicos, químicos e biológicos do solo para se evitar danos ambientais.

2.1.1 Dejetos de Suínos

A suinocultura é um setor de grande importância para o agronegócio no Brasil e vem crescendo a cada ano. Segundo dados divulgados pela EMBRAPA (2019) o Brasil produziu 3,97 milhões de toneladas de carne suína em 2018, ocupando a quarta posição mundial (atrás da China, União Europeia e Estados Unidos), com 5,75% de aumento na produção nacional em relação a 2017 e a expectativa é que esses números cresçam ainda mais nos próximos anos. Arelada à crescente produção de carne suína está a geração de uma grande quantidade de dejetos. De maneira geral, cada suíno produz em média 8,6 litros de dejetos por dia. Assim, uma criação com 1000 suínos pode produzir cerca de 8600 litros de dejetos em um dia (Dartora et al., 1998) o que remete à importância do manejo e disposição desses resíduos.

O uso de dejetos de suínos no solo é uma prática relativamente comum, principalmente, para fertilização de várias culturas de interesse econômico como forrageiras, frutíferas, cafezais, podendo assim, reduzir o potencial poluidor desses resíduos (Sediyama et al., 2000). Não há um consenso sobre a composição

química desses dejetos pois esta pode ser influenciada por vários fatores como a raça e idade do animal, o tipo e quantidade de alimentação utilizada, o material utilizado como cama, entre outros fatores relacionados ao manejo animal (Miyazawa; Barbosa, 2015; Tedesco et al., 1999).

O uso de dejetos de suínos nos solos agrícolas pode melhorar a disponibilidade de nutrientes por sua capacidade fertilizante. Entretanto, representa um potencial poluente para o ambiente, e pode comprometer a qualidade do solo e água se usado de forma excessiva e inadequada (Palhares, 2007; Ceretta et al., 2003).

O nitrogênio (N) é um dos principais constituintes do dejetos suíno e na sua forma mineral pode suprir as necessidades das plantas, entretanto, o escoamento superficial das águas de chuva ou irrigação, e a lixiviação N na forma de nitratos no perfil do solo podem contaminar mananciais de água e o lençol freático (FAO, 2005). De acordo com Barcellos (1992), a maior parte de fósforo (P) presente nos dejetos suínos está na forma não solúvel em água, o que propicia seu efeito residual. Há muito se comprovou que aplicações sucessivas destes dejetos podem causar acúmulo de P no solo, conforme observou Pratt em 1979, atrelado ao escoamento superficial e lixiviação aumentam o risco de causar eutrofização de corpos hídricos. Uma opção de tecnologia atual é a compostagem dos dejetos de suínos que aumenta a concentração de nutrientes e reduz significativamente o volume de resíduo gerado (Silva et al., 2016). Com a compostagem, a mineralização do N orgânico, por exemplo, ocorre de forma lenta e gradual, e pode aumentar o sincronismo da demanda de N pelas culturas e sua disponibilidade (Silva et al., 2016).

Devido à aplicação inadequada de dejetos suínos na agricultura, principalmente no Brasil, que diferentemente de países europeus não possui normas e limitações para seu uso, surge a busca por alternativas para evitar ou reduzir esses impactos negativos.

2.1.2 Análise bibliométrica do uso de dejetos de suínos na agricultura

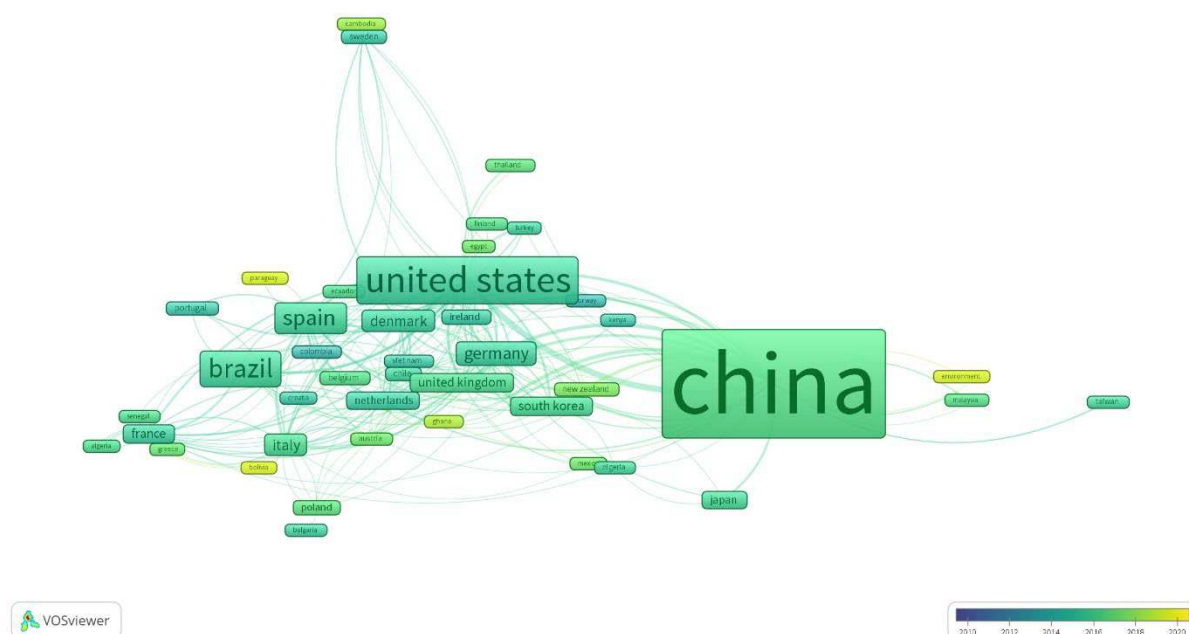
A bibliometria é entendida como a análise estatística de trabalhos publicados (Sancho, 1990) e permite medir índices de produção bibliográfica, acompanhar os atuais cenários da pesquisa científica e traçar metas para solucionar

gargalos ainda existentes. A avaliação das publicações científicas é o primeiro passo para a realização de qualquer trabalho, porém em diversas áreas do conhecimento o grande número de publicações existentes dificulta a leitura e o acesso aos resultados científicos já obtidos, o que compromete conhecer o estado da arte para determinar os estudos futuros (Costa et al., 2012). Assim, pesquisas recentes têm usado ferramentas para compilar e correlacionar metadados. O acesso a conjuntos de dados bibliométricos, quase exaustivos, em combinação com a análise de *networks*, permitiu aos pesquisadores investigar questões anteriormente inacessíveis sobre como os campos científicos são estruturados (Youngblood; Lahti, 2018).

Para melhor entender o atual cenário da pesquisa científica sobre o uso de dejetos de suínos na agricultura, foi realizada uma análise bibliométrica com os artigos obtidos na base de dados “Scopus” (<https://www.scopus.com/>) com os termos “swine” OR “pig”, “slurry” OR “manure”, “application” OR “soil”. Foram selecionados 2000 artigos publicados entre 1960 e 2020, compilados em 12 de novembro de 2019. Foi utilizado o *software* VosViewer 1.6.13 (<https://www.vosviewer.com/>) para análise de *network* e bibliométrica, baseada na co-ocorrência de termos dos dados obtidos no texto. O método de contagem utilizado foi o *full counting* e ocorrência mínima do termo de 50 no metadado. A normalização dos dados foi realizada pelo método *Association strength* usando os valores padrões do *software* (*default*) para as análises de agrupamento.

Os trabalhos relacionados ao uso de dejetos de suínos na agricultura são recentes, sendo a maior concentração das publicações entre os anos de 2012/2018 (Figura 2.1). Os principais países com pesquisas científicas com uso de dejetos de suínos são China (n=785), Estados Unidos (n=293), Brasil (n=197) e Espanha (n=152). É interessante notar que o maior investimento e número de publicações nessa área está nos principais países produtores, como citado anteriormente (p. 24). Isso ressalta a intenção da pesquisa científica de resolver questões que afetam uma atividade econômica tão importante para os países relacionados.

Figura 2.1 Linha do tempo e principais países das publicações relacionadas ao uso de dejetos de suínos na agricultura.



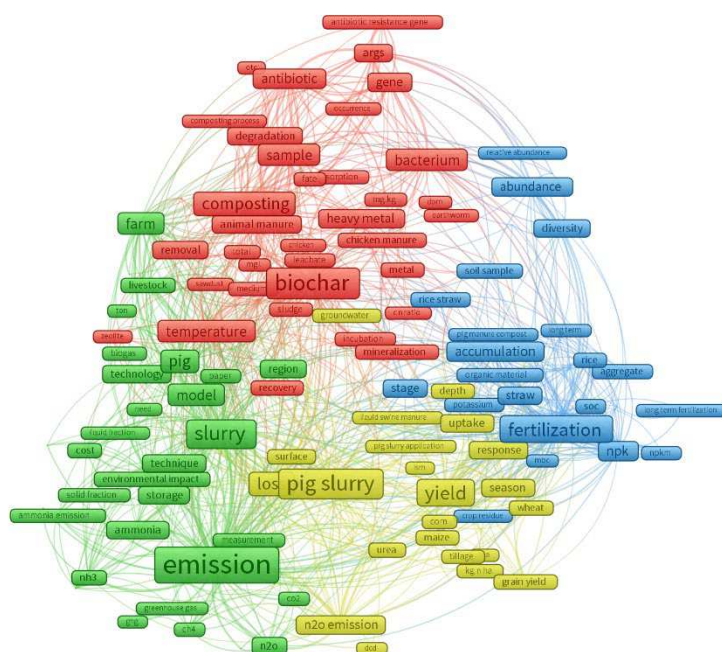
A avaliação dos metadados contendo 2000 artigos e considerando as maiores co-ocorrências nos artigos, identificou 195 termos e formou 4 agrupamentos com 14430 conexões entre eles (Figura 2.2). Muitos termos foram arbitrariamente excluídos da figura pelo algoritmo de visualização no VOSviewer para maximizar a legibilidade. É possível observar que os principais termos das pesquisas relacionadas à utilização de dejetos na agricultura foram: emissão (*emission*) links=189, fertilização (*fertilization*) links=189, *biochar* (biocarvão) links=169, produtividade (*yield*) links=185 e compostagem (*composting*) links=167.

O agrupamento dos termos co-ocorrentes com maior frequência nos artigos avaliados permitiu a identificação das principais linhas de pesquisas relacionadas ao uso de dejetos de suínos na agricultura. O grupo vermelho agrupou termos relacionados à biodegradação do dejetos, incluindo diferentes compostos, grupos e genes microbianos envolvidos e liberação no ambiente de compostos provenientes do dejetos. O grupo azul agrupou termos relacionados ao uso de dejetos de suínos como fertilizantes, incluindo indicadores físicos, químicos e microbiológicos do solo, aplicações por longo períodos e acúmulos de nutrientes. No grupo amarelo foram incluídos os termos relacionados à componentes da produção

agrícola, sendo as culturas de maior ocorrência nas pesquisas a soja e o milho. Por fim, no grupo verde estão os termos relacionados a contaminações ambientais, incluindo emissão de gases poluentes, impactos ambientais e desenvolvimento de novas tecnologias.

Esses agrupamentos (linhas de pesquisa) apresentam uma grande quantidade de publicações, o que auxilia nas discussões e desenvolvimento de práticas e tecnologias a serem adotadas.

Figura 2.2 Network baseada nos termos de maior ocorrência no metadado avaliado pelo agrupamento VOS.



VOSviewer

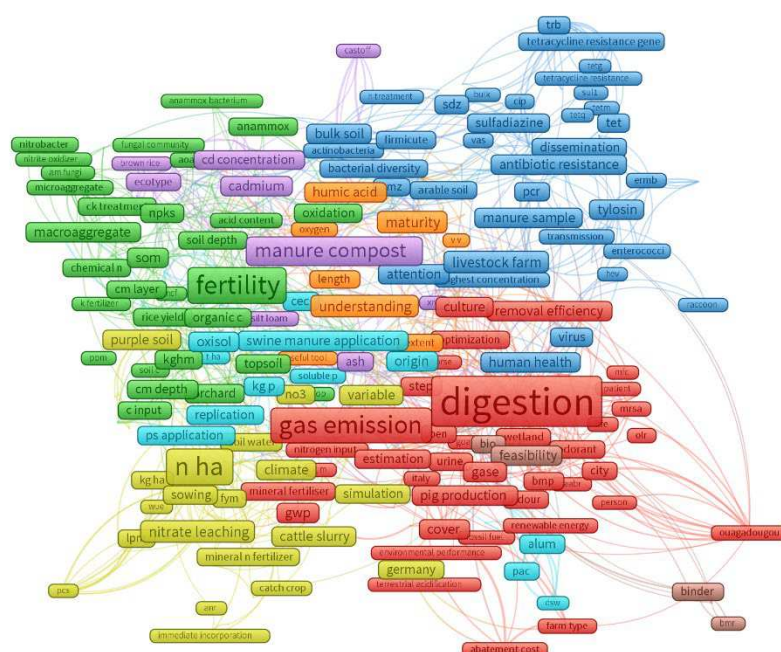
Legenda: Vermelho: termos relacionados à degradação de compostos do dejetos. Azul: termos relacionados à fertilização e componentes do solo. Amarelo: termos relacionados à componentes da produção agrícola. Verde: termos relacionados à contaminações ambientais. Muitos termos foram arbitrariamente excluídos da figura pelo algoritmo de visualização no VOSviewer para maximizar a legibilidade.

Contudo, um importante passo na pesquisa científica é identificar os nichos de pesquisa ainda pouco explorados e com poucos resultados concretos. Para isso, foi realizada a mesma análise *network* com os termos de menor ocorrência (10 a 49 co-ocorrência). Desta forma, pôde-se identificar a formação de 6 agrupamentos e perceber que ainda são necessários diversos estudos para melhor

compreender os efeitos e o comportamento dos dejetos na agricultura (Figura 2.3). O grupo vermelho agrupou termos relacionados à digestão do dejetos e produção de gases contaminantes; azul: termos sobre a resistência antibiótica das bactérias provenientes do dejetos e a ligação com a saúde humana; amarelo: termos relacionados ao comportamento do nitrogênio e suas transformações no ambiente; laranja: termos que abrangem a composição e degradabilidade de compostos do dejetos; verde: termos relacionados à fertilidade do solo principalmente indicadores físicos e grupos bacterianos do solo relacionados à transformação do nitrogênio e fungos micorrízicos e, por fim, roxo: termos relacionados à concentração de metais pesados no solo, com ênfase para o cádmio.

Esses agrupamentos permitiram identificar que essas linhas de pesquisa apresentam poucas publicações, evidenciando a limitação de dados e informação para tomadas de decisão quanto ao uso dos dejetos suínos na agricultura, bem como a necessidade da realização de mais estudos nessas áreas.

Figura 2.3 Network baseada nos termos de menor ocorrência no metadado avaliado pelo agrupamento VOS.



Legenda: Vermelho: relacionado à digestão do dejetos, grupo azul à resistência antibiótica.

Amarelo: à comportamento do nitrogênio. Laranja: à composição e degradabilidade de compostos do dejetos. Verde: à fertilidade do solo. Roxo: contaminação com metais pesados. Muitos termos foram arbitrariamente excluídos da figura pelo algoritmo de visualização no VOSviewer para maximizar a legibilidade.

2.1.3 Dose de dejetos de suínos na agricultura

O uso de dejetos animais na agricultura como fertilizantes é o principal destino dado mundialmente ao material (Aita et al., 2014). Os dejetos contêm altos teores nutricionais e podem suprir as necessidades das plantas. Embora os teores de nutrientes entre as amostras de dejetos variem devido à fatores como manejo na granja, tempo de estabilização e teores de massa seca, em média, os dejetos apresentam 3% de nitrogênio, 4% de fósforo e 4 % de potássio (Miyazawa, Barbosa, 2015). Assim, estudos são realizados, com base nas necessidades nutricionais da cultura, para estabelecer as doses corretas a serem utilizadas.

A determinação da dose de dejetos líquido de suínos (DLS) a ser usado na agricultura para suprir a demanda de nutrientes das plantas, ainda é uma questão a ser considerada pelos pesquisadores da área. Além disso, diversos autores usam diferentes doses e avaliam diferentes indicadores da qualidade do solo, o que dificulta ainda mais o estabelecimento das doses adequadas para cada cultura (Tabela 2.1).

Tabela 2.1 Levantamento bibliográfico de doses de dejetos usadas na agricultura e os indicadores avaliados.

| Dose | Local | Cultura | Indicadores | Fonte |
|---|----------------------------|-------------------------|--|-----------------------|
| DLS: 50, 100 e 150 m ³ ha ⁻¹ | Espanha | Milho | Produção | Daudén; Quílez, 2004 |
| DLS: 25 e 50 m ³ ha ⁻¹ | Espanha | Alfafa | Produção Q: Rotina* | Lloveras et al., 2004 |
| DLS: 30, 60, 90, 120 e 150 m ³ ha ⁻¹ ano ⁻¹ | Região semi-árida, Espanha | Cevada | Q: pH, C _{org} N, P, K. B: CBM, RM, atividade enzimática | Plaza et al., 2004 |
| DLS: 50, 100 e 150 m ³ ha ⁻¹ | Goiânia, GO, Brasil | Pastagem Braquiária | Produção | Barnabé et al., 2007 |
| DLS: 100 e 150 m ³ (10 e 15 cm) ha ⁻¹ ano ⁻¹ | Crawford, Mississippi, EUA | Gramíneas/ forragens | Q: Rotina, NO ₃ ⁻ , NH ₃ B: CBM, NBM | Adeli et al., 2008 |
| DLS: 0, 40, 80 e 160 | Sudoeste do PR, | Gramma | Produção | Vielmo et al., 2011 |

| | | | | |
|---|------------------------------|----------------------------|--|-----------------------|
| $m^3 ha^{-1}$ | Brasil | Tifton | | |
| DLS: 0, 20, 40 e 80 $m^3 ha^{-1}$ | Santa Maria, RS, Brasil | Rotação de culturas anuais | <u>Q</u> : MO, pH, H+Al, P, K, Ca, Mg. | Lourenzi et al., 2013 |
| DLS: 0, 30, 60, 90 e 120 $m^3 ha^{-1} ano^{-1}$ | Palotina, PR, Brasil | Milho | <u>Q</u> : Rotina, C_{org} . <u>B</u> : CBM, NBM, qCO_2 , $qMic$, atividade enzimática, Polissacarídeos | Balota et al., 2014 |
| DLS: 0, 20, 40 e 80 $m^3 ha^{-1}$ | Taquaruçu do Sul, RS, Brasil | Milho | Produção | Pinto et al., 2014 |
| DLS: 50, 100 e 200 $m^3 ha^{-1} ano^{-1}$ | Campos ovos, SC, Brasil | Aveia | <u>F</u> : Densidade, porosidade, agregados, resistência à penetração. <u>Q</u> : pH, N, P, K, MO. <u>B</u> : CBM, 16S rRNA. | Oliveira et al., 2014 |
| DLS: 60, 120 e 180 $m^3 ha^{-1}$ | Uberlândia, Brasil | MG, Pastagem Braquiária | <u>Q</u> : P, K, Ca e Mg, MO Produção | Silva et al., 2015 |
| CDS: 4, 8 e 12 $Mg ha^{-1}$ | Frederico Westphalen, Brasil | RS, Milho | Produção | Silva et al., 2016 |
| DLS: 12 e 29 $Mg ha^{-1}$ | Qiyang, China | Trigo | <u>Q</u> : pH, N, P, K, MO. <u>B</u> : CBM, 16S rRNA. | Xun et al., 2016 |
| DLS: 5 a 7 $m^3 ha^{-1}$ | Irati, PR, Brasil | Soja | <u>F</u> : Densidade, porosidade, agregados, resistência à penetração. <u>Q</u> : pH, K, Ca, Mg, Al, MO Produção | Antoneli et al., 2019 |
| DLS: 46.800 L ha^{-1} | Lincoln, USA | Nebraska, Milho | <u>Q</u> : Rotina <u>B</u> : diversidade de Artrópodes | Schuster et al., 2019 |

*Rotina: macro e micronutrientes, pH, CTC. DLS: Dejeito Líquido de Suíno. CDS: Composto de Dejeito de Suíno. Q: indicadores químicos. B: indicadores biológicos. CBM: Carbono da biomassa microbiana. RM: respiração microbiana. NBM: Nitrogênio da biomassa microbiana. qCO_2 : quociente metabólico. $qMic$: quociente microbiano.

Miyazawa e Barbosa (2015) consideram que o estabelecimento da dose correta a ser utilizada deverá levar em consideração as análises químicas e os teores de massa seca do DLS, bem como as necessidades nutricionais das culturas.

Embora diversos estudos demonstrem que a fertilização do solo com dejetos de suínos pode substituir a fertilização mineral, por se tratar de um composto orgânico, a liberação dos nutrientes para as culturas é mais demorada devido ao tempo de mineralização da matéria orgânica e os fatores que a afetam (e.g. Relação C:N, C:P, C:S; temperatura, umidade, oxigênio, substâncias tóxicas) (Moreira; Siqueira 2006; Scherer et al., 1996).

Todavia, Medeiros et al., (2007) observaram que aplicações de composto de dejetos de suíno em *Brachiaria bizantha* cv. 'Marandu' resultou num rendimento de matéria seca semelhante ao obtido com fertilizantes minerais. Ainda, após a mineralização da matéria orgânica e disponibilização dos nutrientes provenientes do dejetos, Silva et al., (2015) verificam que a produção de Braquiária fertilizada com dejetos pode ultrapassar àquela obtida com a fertilização mineral. Além do tempo necessário para a disponibilização dos nutrientes, outro fator ainda a ser elucidado é a definição da dose de dejetos a ser utilizada. Silva et al., (2015) observaram que a dose de $60 \text{ m}^3 \text{ ha}^{-1}$ é suficiente para uma boa produção da pastagem, não apresentando diferenças para as doses de 120 e $180 \text{ m}^3 \text{ ha}^{-1}$. Por outro lado, os resultados de Barnabé et al., (2007) indicam a necessidade de $150 \text{ m}^3 \text{ ha}^{-1}$ para uma boa produção de braquiária. Embora trabalhando com a mesma cultura, as pesquisas foram realizadas em estados diferentes, sendo então a distribuição geográfica e as características edafoclimáticas de cada local outro fator a ser considerado na determinação da dose adequada para cada cultura.

2.1.4 Manejo do solo e aplicação de dejetos de suínos

O sistema convencional de manejo do solo é caracterizado pelo revolvimento da camada superficial do solo antes da semeadura visando melhores condições para o estabelecimento do sistema radicular das culturas agrícolas (Donagemma et al., 2008). Para cultivos anuais de grãos, geralmente são realizadas operações de aração e gradagem, em que a aração tem por finalidade o revolvimento, geralmente da camada de 15-20 cm, e a gradagem destorroa o solo e nivela a área (Silva et al., 2012a). Esse sistema de preparo intensivo do solo é baseado no manejo de climas temperados, no qual é necessária a exposição do solo à raios solares, visando o degelo e aquecimento (Bullock; Kemper; Nelson, 1988).

Todavia, em condições tropicais como no Brasil, podem propiciar a erosão e consequente perda de solo, podem reduzir a produtividade e resultar em impactos ambientais negativos (i.a. assoreamento de corpos hídricos, lixiviação e eutrofização) (Debiasi et al., 2013).

Uma alternativa ao sistema convencional, é o preparo reduzido que diminui uma ou mais operações de preparo do solo. Nesse sistema, são realizadas operações de escarificação e nivelamento da área (Denardin, 1984). Em áreas com solo muito compactado que prejudiquem o desenvolvimento radicular das culturas, a escarificação tem por objetivo romper a crosta superficial do solo, o que melhora a rugosidade da superfície trazendo benefícios ao crescimento radicular (Camara; Klein, 2005). Ainda, a escarificação com implementos providos de hastes causam menos danos à estrutura do solo que implementos de discos usados no sistema convencional (Boller; Klein; Dallmeyer, 1998).

O plantio direto, por sua vez, é caracterizado pelo revolvimento mínimo do solo, realizando-se a semeadura sobre a palhada deixada pela cultura anterior (Casão Júnior; Araújo; Llanillo, 2012). O revolvimento mínimo do solo tem como finalidade manter ou modificar minimamente a estrutura do solo, e a permanência da palhada auxilia a reduzir o impacto da gota da chuva na desagregação do solo e consequente erosão, protege a superfície do solo contra a ação direta de raios solares e reduz as amplitudes hídrica e térmica, aumenta o teor de matéria orgânica no solo, o que melhora os atributos físicos, químicos e biológicos, e auxilia no controle de plantas daninhas agindo como barreira física para sua emergência (CRUZ et al., 2006).

O manejo do solo influencia a sustentabilidade dos sistemas agrícolas. Assim, busca-se entender o efeito dos diferentes manejos, não apenas buscando altas produções, mas para otimizar o uso das áreas agrícolas. Embora muitos trabalhos estudem os efeitos da adição de dejetos de suínos ao solo, poucos têm estudado o impacto dos diferentes manejos do solo juntamente com o uso de dejetos de suínos a fim de monitorar as alterações nos atributos físicos, químicos e biológicos do solo.

Balota et al., (2014), comparando, plantio convencional e plantio direto com aplicações de diferentes doses de dejetos de suínos no solo em um Latossolo vermelho eutroférico no oeste do Paraná, observaram que no plantio direto aumentou os indicadores microbianos da qualidade do solo e, consideraram

esses indicadores mais sensíveis as mudanças decorrentes da aplicação que os indicadores químicos. Os mesmos autores observaram que a diminuição da perturbação do solo, como no plantio direto, melhorou a atividade microbiana. Um dos principais objetivos do plantio direto é manter os resíduos culturais no solo, o que garante acúmulo de matéria orgânica na superfície do solo. Assim, atrelado à aplicação de dejetos, o aumento da matéria orgânica aumenta a atividade microbiana por prover fontes energéticas na forma de compostos de carbono para os microorganismos do solo (Kaschuk; Alberton; Hungria, 2010).

Com relação à disponibilidade de nutrientes para a produção, Pinto et al., (2014) observaram que em doses mais altas de aplicação de dejetos líquidos de suíno, para suprir as necessidades nutricionais do milho, houve maior produtividade quando o solo foi escarificado, do que nos demais manejos. Os autores consideram que esse aumento na produtividade está relacionado à compactação da área experimental, onde a escarificação pode ter descompactado o solo, o que permite melhor desenvolvimento e exploração do sistema radicular do milho e aproveitamento dos nutrientes aplicados via dejetos. Ainda, os autores observaram menores perdas de nitrogênio com a incorporação dos dejetos ao solo no preparo convencional.

Rochette et al., (2001) também relatam menores perdas de N por volatilização quando os dejetos aplicados ao solo são incorporados. Todavia, Giacomini et al., (2009a) não relataram diferenças no acúmulo de N na planta do milho provenientes de dejetos líquidos de suínos nos diferentes preparos do solo. Os autores consideram que, independentemente do manejo do solo, metade do N amoniacal proveniente dos dejetos é perdida no sistema solo-planta. Assim, a perturbação do solo causada pelas operações de incorporação dos dejetos no solo, causam degradação e não reduzem as perdas de nutrientes.

No processo de imobilização do nitrogênio proveniente do dejetos no solo, Giacomini et al., (2009b) relatam que, independente da incorporação ou não pelos manejos do solo, o que influencia o processo é a relação C:N do material orgânico do solo. Assim sendo, a aplicação dos dejetos podem suprir o N de resíduos vegetais com alta relação C:N e auxiliar no processo de sua mineralização.

2.2 QUALIDADE DO SOLO

O termo qualidade do solo, embora ainda sem padrões e regulamentações para sua aferência, é um tema bem conhecido pela comunidade científica, que é consciente da importância do solo para o ecossistema e das consequências do uso inadequado desse recurso para a saúde humana e para o ambiente (Araújo et al., 2012). Embora há muito se reconheça a importância do solo para a humanidade como base para todo o sistema de produção alimentar, de fibras e de agroenergia, o interesse pelo tema “Qualidade de solo” teve início no fim da década de 1980 e início da década de 1990 (Mendes et al., 2009).

Ainda não existe um consenso sobre a definição do termo “Qualidade do Solo” mas Doran e Parkin (1994), foram os primeiros a propor uma definição mais abrangente sobre o termo. Esses autores consideram a qualidade do solo como a capacidade deste de funcionar dentro dos limites do ecossistema para sustentar a produtividade biológica, manter a qualidade ambiental e promover a saúde de plantas, animais e humana. Esta abordagem leva em consideração não apenas o papel do solo na produção agrícola, mas também a sua participação em funções específicas no ecossistema, compreendendo a sustentabilidade do sistema agrícola a longo prazo. A sustentabilidade agrícola, por sua vez, pode ser conceituada como a capacidade de um sistema agrícola produzir sem comprometer as condições que viabilizam esse processo de produção (Gliessman, 2000).

Há um consenso entre a comunidade científica e os agricultores de que a manutenção e melhoria da qualidade do solo é um elemento-chave para a sustentabilidade dos sistemas agrícolas, mas, a avaliação dessa “qualidade” não é uma tarefa fácil (Mendes et al., 2011). Isso ocorre em virtude da multiplicidade de fatores químicos, físicos e biológicos que controlam os processos biogeoquímicos e suas variações em escala temporal e espacial aliados à complexidade dos solos. Desta forma, para melhor inferir sobre a qualidade do solo definiu-se entre os estudiosos da área, a necessidade do uso de um conjunto mínimo de indicadores para serem empregados nas diferentes análises (Doran; Parkin, 1994; Mendes et al., 2009; Nogueira; Hungria, 2013).

2.2.1 Indicadores da Qualidade do Solo

A qualidade do solo não pode ser mensurada diretamente devido à complexidade de percepção de qualidade e à dificuldade de correlacionar todos os fatores que influenciam ou alteram o solo impostos pelo meio (Araújo et al., 2012). Assim, há esforços para se obter indicadores de qualidade, que possam monitorar impactos e que respondam às práticas de manejo do solo (Vezzani; Mielniczuk., 2009).

Os indicadores de qualidade do solo para serem definidos, do ponto de vista do desenvolvimento ecológico, econômico e social, devem levar em consideração as propriedades do solo ou culturas associadas que podem ser medidas em resposta às mudanças impostas aos agroecossistemas. (Martinez-Salgado, 2010).

De acordo com a USDA, os indicadores de qualidade do solo podem ser classificados como visuais, físicos, químicos e biológicos. Indicadores visuais podem ser obtidos por meio de visitas de campo, pela percepção dos agricultores e conhecimento local. O monitoramento de alterações nesses indicadores se dá por evidências visuais do solo. A exemplo destes têm-se a exposição do subsolo, processos de erosão, a presença de plantas daninhas, alterações na cor do solo, respostas fisiológicas das plantas instaladas, entre outras alterações (Martinez-Salgado, 2010).

Dentre os indicadores físicos tem-se a estrutura do solo que está diretamente relacionada com os espaços porosos do solo (tipo, tamanho e forma dos poros) que influenciam diretamente a capacidade de retenção e transporte de água e nutrientes e afeta o desenvolvimento das plantas e a vida no solo (Stefanoski et al., 2013). Os indicadores físicos mais usados para mensurar a qualidade do solo são: taxa infiltração de água no solo, densidade e porosidade do solo, capacidade de retenção da água, estabilidade dos agregados do solo e resistência à penetração (Doran e Parkin, 1994; Stefanoski et al., 2013).

Em paralelo, Doran e Parkin (1994) citam como indicadores químicos o pH, a condutividade elétrica, a matéria orgânica, a acidez do solo e os nutrientes como de N, P e K. Esses indicadores além de mensurados individualmente, também são empregados para mensurar os níveis nutricionais do solo, a disponibilidade de nutrientes para as plantas e, conseqüentemente, o

crescimento e desenvolvimento vegetal e a atividade biológica do solo.

Como indicadores biológicos da qualidade do solo, os micro-organismos, juntamente com a fauna e as raízes de plantas, constituem a fração viva da matéria orgânica do solo e são responsáveis por serviços ambientais de fundamental importância, por isso, podem ser utilizados, uma vez que estão intimamente relacionados ao funcionamento e à qualidade do solo (Mendes et al., 2009). O uso de bioindicadores para avaliar a qualidade do solo tem trazido mudanças na forma e tempo de interpretação dessa qualidade pois os micro-organismos expressam respostas rápidas às mudanças ocorridas no solo, característica que não é observada nos indicadores químicos ou físicos (Vasconcelos, 2015)

A percepção da qualidade do solo evoluiu. Antes se classificava um solo como sendo de alta qualidade apenas considerando-se o atributo fertilidade. No entanto, nas últimas décadas percebeu-se que um solo de alta qualidade possui também como indicadores boa estruturação e abriga uma alta diversidade de organismos (Geisen et al., 2019).

Bünnemann et al. (2018) realizaram uma revisão sobre os conceitos e os indicadores mais comuns a respeito da qualidade do solo e observaram que os indicadores mais comumente avaliados são matéria orgânica, pH, P disponível e armazenamento de água; os indicadores biológicos e bioquímicos, por sua vez, estão sub-representados, mas apresentam grande potencial. Os autores ainda identificam que um índice geral de qualidade do solo é frequentemente desejado, mas na verdade não é muito significativo, pois a qualidade do solo é melhor avaliada em relação a funções específicas do solo. Assim, a avaliação da qualidade do solo deve especificar quão bem um determinado solo cumpre suas várias funções, identificando ameaças direcionadas ao solo, funções e serviços do ecossistema. Portanto, diferentes conjuntos de indicadores devem ser utilizados com diferentes ponderações de modo a formar uma visão mais sólida da qualidade do solo individualmente, permitindo resultados mais precisos.

2.2.2 Alterações nos atributos físicos e químicos do solo com aplicação de dejetos de suínos

A incorporação de matéria orgânica nos solos, na forma de esterco

animal ou de compostos orgânicos, pode melhorar alguns de seus atributos físicos e químicos, e melhorar sua qualidade. Tal prática, além de incrementar a quantidade de elementos essenciais no solo para as plantas, pode proporcionar melhoria na estrutura física do solo.

A qualidade física do solo é um importante elemento a ser avaliado, já que as propriedades físicas e os processos do solo estão envolvidos no suporte ao crescimento radicular, armazenagem e suprimento de água e nutrientes, trocas gasosas e atividade biológica (Lapaz et al., 2019). A compreensão do comportamento físico do solo (arranjo de partículas e poros, densidade do solo, estrutura de agregação, resistência mecânica à penetração, infiltração de água no solo, disponibilidade de água para as plantas) é de extrema importância, uma vez que orienta as atividades apropriadas que devem ser executadas no sistema para um desenvolvimento adequado das culturas (Lapaz et al., 2019).

Estudos com solos que receberam dejetos animais como métodos de adubação mostraram que suas propriedades físicas, como densidade de partícula e limites de plasticidade, foram significativamente influenciadas pelos diferentes níveis de matéria orgânica aplicados (Schjønning et al., 1994). Além disso, os dejetos promovem o aumento da capacidade de armazenamento de água e diminui os riscos de encrostamento superficial (Grebus et al., 1994; Maynard, 1994), proporciona melhoria na estrutura, caracterizada pela diminuição da densidade do solo, aumento da porosidade total e da taxa de infiltração de água (Kiehl, 1985) e aumenta o volume de macro e mesoporos do solo (Li et al., 2011).

Ainda, a degradação física dos solos é sempre associada a perdas na quantidade de matéria orgânica (MO). Perda de MO acarreta diminuição da porosidade total e estabilidade dos agregados em condições úmidas, aumento nos índices de resistência do solo e de argila dispersa. A longo prazo, Adesanya et al., (2016) observaram que dejetos de suínos, após 5 anos de uso, têm potencial como aditivo orgânico para melhorar as propriedades físicas do solo, como diminuir a densidade total, melhorar a condutividade elétrica, aumentar a estabilidade dos agregados e a capacidade de retenção de água.

A qualidade química do solo normalmente está relacionada com o teor de matéria orgânica, a acidez e o teor de nutrientes (Araújo et al., 2012). Em curto prazo, o dejetos de suínos aplicado ao solo melhora a concentração de nutrientes e a fertilidade do solo (Xun et al., 2016). A aplicação de biochar

(biocarvão) no solo feito a partir da queima de dejetos suínos como fonte alternativa de fósforo, incrementa o teor total de P, em particular ortofosfato e pirofosfato, aumenta os valores de pH do solo, e a capacidade de troca de cátions, além de ativar a atividade enzimática de fosfatase alcalina, disponibilizando maior quantidade de P para as plantas (Jin et al., 2016).

Todavia, os cuidados com o uso de dejetos animais no solo está no aumento demasiado e acúmulo de elementos químicos no solo após aplicações contínuas em longo prazo: aplicações sucessivas de dejetos de suínos por dez anos aumentam o teor de cobre e zinco nos solos e podem causar toxicidade às plantas (Benedet et al., 2019); aumentos excessivos de P, Cu e Zn no solo com aplicações sucessivas de dejetos de suínos devem ser cuidadosamente monitorados para minimizar os riscos de contaminação do solo, do solo e das águas superficiais (Scheid et al., 2020) e aplicações sucessivas de dejetos de suínos na agricultura por 35 e 45 anos causam excesso de fósforo e podem contribuir para a contaminação ambiental (Oliveira Filho et al., 2020).

2.3 DIVERSIDADE E ATIVIDADE MICROBIANA DO SOLO

Os micro-organismos são os seres mais diversos e abundantes na Terra e possuem papel relevante para a biosfera, pois catalisam parte de todos os processos bioquímicos responsáveis pela manutenção da vida no planeta (Torsvik et al., 2002). Existem representantes de micro-organismos nos três domínios da vida, Bacteria, Archaea e Eukarya. Os pertencentes ao domínio Bacteria são os maiores constituintes da biota terrestre e, ainda assim, os menos conhecidos em termos de diversidade (Atlas; Bartha, 1997).

A avaliação desses organismos no solo como indicadores precoces de eventuais efeitos adversos do manejo sobre a qualidade do solo é considerada de grande importância (Chaer; Tótola, 2007). Confirmando isso, Giacomettia (2013) afirma que uma variedade de atributos microbiológicos e bioquímicos deve ser usada quando se quer avaliar o impacto do uso e manejo na qualidade do solo.

As atividades biológicas acontecem com maior frequência e abundância nas primeiras camadas do solo (até 30 cm de profundidade) e é nesta parte do solo que a rizosfera se estabelece (região do solo ao redor das raízes) (Moreira; Siqueira, 2006). Nessa área, as raízes das plantas sintetizam uma gama

variada de compostos (geralmente chamados de exsudatos radiculares) que estimulam a proliferação das comunidades microbianas (Walker et al., 2003). As relações e interações metabólicas entre essas comunidades microscópicas interferem diretamente nos ciclos biogeoquímicos do planeta porque são considerados os principais responsáveis pela degradação enzimática de resíduos orgânicos para posterior decomposição, transformação e mineralização de nutrientes no solo (Pulrolnik, 2009; Silva et al., 2012b; Oliveira et al., 2014).

Diversos outros processos, além da decomposição da matéria orgânica, são realizados pelos micro-organismos do solo. Eles também atuam através de processos diretos de promoção de crescimento vegetal (e.g. solubilização de fosfatos inorgânicos, produção de fitormônios, fixação de nitrogênio, produção de sideróforos) e também por processos indiretos como, por exemplo, o controle biológico de fitopatógenos e insetos, o aumento da resistência a estresses bióticos e abióticos, entre outros (Kan et al., 2007; Oliveira-Longatti et al., 2013; Bulgarelli et al., 2013). Neste contexto, fica explícito que, a fração biológica do solo exerce grande influência no potencial de uso, na produtividade e na sustentabilidade global dos sistemas naturais bem como dos agroecossistemas.

2.3.1 Diversidade Microbiana Genética e Funcional

A diversidade microbiana pode ser definida como a gama de diferentes tipos de micro-organismos e sua abundância relativa em uma comunidade, podendo ser acessada utilizando-se vários critérios, como a filogenia, fisiologia, metabolismo e genômica (Keller; Zengler, 2004). Estudar os micro-organismos, sua distribuição no espaço e tempo e sua relação com fatores abióticos são pontos cruciais para a compreensão da dinâmica de funcionamento dos ecossistemas naturais e agrícolas.

O solo comporta uma alta diversidade genética de organismos que possuem funções ecológicas específicas e uma vez percebida a importância dos micro-organismos, pesquisadores concentraram esforços no desenvolvimento de técnicas para isolar, cultivar e identificar em laboratório e classificar esses organismos, muitas das quais ainda em uso (Vaz, et al., 2015). No entanto, essas técnicas ofereciam uma visão limitada da comunidade microbiana.

O uso de técnicas moleculares nos últimos vinte anos tem fornecido

métodos para identificação de indivíduos de comunidades microbianas revelando uma importante e inexplorada diversidade a ser estudada (Hugenholtz et al., 1998). A cada ano, uma média de 1700 novas espécies de fungos e 120 de bactérias têm sido descritas. Contudo, alguns especialistas consideram que conhecemos menos de 10 % do total de espécies existentes no ambiente (Coutinho et al., 2001). As avaliações da diversidade microbiana fornecem indicativos ecológicos de riqueza (número de espécies), abundância (equitatividade), e diversidade em um determinado solo (Mendes et al., 2011).

Diferentemente da composição taxonômica, que reflete quais organismos estão presentes no solo, na maioria dos modelos de ecossistemas terrestres existe a capacidade de diferentes grupos microbianos realizarem um determinado processo funcional a uma taxa semelhante, independentemente de diferenças na sua diversidade taxonômica (Allison; Martiny, 2008). Assim, torna-se essencial, além de elucidar a composição microbiana do solo, entender como as atividades destas comunidades respondem a mudanças provocadas pela agricultura para prever o funcionamento de cada ambiente (Keiser et al., 2011).

A diversidade taxonômica e funcional pode ser acessada via abordagens metagenômicas, baseada no sequenciamento em larga escala do DNA microbiano extraído diretamente de amostras de solo. Combinada com ferramentas de bioinformática, essa abordagem permite resumir o mapa genético dos organismos em uma determinada comunidade (Riesenfeld et al., 2004). Assim, propicia além do acesso à diversidade microbiana de um ambiente, informações relacionadas à composição e potencial funcional, possibilitando identificar numericamente os organismos dominantes naquele ambiente, obter informações sobre a sua distribuição no tempo e no espaço e avaliar a contribuição microbiana nos ciclos biogeoquímicos dos elementos, assim como sobre seu metabolismo.

2.3.2 Biomassa e Atividade Microbiana Solo

A biomassa e a atividade microbiana do solo estão entre os parâmetros microbianos mais usados pela comunidade científica e que também apresentam maior sensibilidade para serem utilizados como bioindicadores da qualidade do solo. Dentre os atributos microbiológicos mais analisados estão: a diversidade microbiana, o carbono da biomassa microbiana, a respiração

microbioana, os quocientes microbiano (qMIC) e metabólico (qCO₂) e as atividades enzimáticas (Pankhurst et al., 1997; Nogueira; Hungria, 2013; Vasconcelos, 2015).

2.3.2.1 Carbono da biomassa microbiana

A biomassa microbiana do solo, constituída por fungos, bactérias e arqueias, está entre os atributos biológicos mais relevantes em estudos acerca da qualidade do solo, pois representa o dorso central dos ciclos do carbono, nitrogênio e fósforo que atua como compartimento de reserva destes nutrientes no solo (Souza et al., 2010). Esta fração é considerada a parte viva e mais ativa da matéria orgânica.

Correlações positivas entre o teor de matéria orgânica (propriedade do solo essencial para a fertilidade do ecossistema) e a biomassa microbiana mostram uma relação bastante estreita, uma vez que alterações significativas na biomassa microbiana podem ser detectadas com antecedência quando comparadas às mudanças na matéria orgânica (Roscoe et al., 2006). Isto porque 95% a 99% da matéria orgânica é constituída por frações não vivas, relativamente estáveis e resistentes a alterações. Assim, mudanças significativas nessas frações podem levar anos para serem detectadas (Rice et al., 1996).

O carbono da biomassa microbiana representa a quantidade de carbono que a comunidade microbiana do solo imobiliza em suas células (Insam, 2001), e, portanto, pode permitir uma estimativa da quantidade de micro-organismos presentes no mesmo. Todavia, apenas as determinações da biomassa microbiana não fornecem indicações sobre os níveis de atividade das comunidades microbianas, ou seja, pode haver no solo elevadas quantidades de biomassa inativa justificando a importância das análises que medem a atividade microbiana ou o estado metabólico atual e potencial dessas comunidades (Tótola; Chaer, 2002; Mendes et al., 2009).

2.3.2.2 Respiração microbiana do solo

A respiração microbiana é um atributo bastante utilizado para avaliar a atividade biológica a partir da quantidade de CO₂ liberada pela respiração dos micro-organismos, tanto aeróbios quanto anaeróbios (Parkin et al., 1996). É um dos

métodos mais tradicionais e mais utilizados para avaliar a atividade metabólica da comunidade microbiana do solo (Zibilske, 1994). Em definição, a respiração microbiana do solo é a soma total das funções metabólicas nas quais o CO_2 é produzido e esta medida possui uma estreita relação com as condições abióticas do solo, entre elas umidade, temperatura e aeração (Cattelan; Vidor, 1990), as quais influenciam o estado fisiológico das células, interferindo na eficiência da atividade metabólica pelos micro-organismos (Reis Junior; Mendes, 2007). Bactérias e fungos são os principais responsáveis pela liberação de CO_2 via degradação da matéria orgânica.

2.3.2.3 Quocientes metabólico ($q\text{CO}_2$) e microbiano ($q\text{MIC}$)

O valor de carbono da biomassa microbiana em associação com a respiração microbiana permite calcular o quociente metabólico ($q\text{CO}_2$). Pela razão matemática entre a respiração por unidade de carbono da biomassa e tempo, é possível estimar a eficiência do uso de substrato pelos micro-organismos do solo. O $q\text{CO}_2$ é um índice que expressa a taxa de respiração por unidade microbiana (Anderson; Domsch, 1993). Ainda, a fim de avaliar-se a atividade metabólica microbiana de um solo em relação a sua eficiência biológica, outros cálculos podem ser desenvolvidos para ampliar os parâmetros de avaliação. Dentre eles encontra-se o quociente microbiano ($q\text{MIC}$) que é o valor obtido através da relação entre o carbono da biomassa microbiana e o carbono orgânico total do solo. O $q\text{MIC}$ é um índice utilizado para fornecer indicações sobre a qualidade da matéria orgânica e suas transformações. Em condições estressantes para os micro-organismos (extremos de pH, deficiências nutricionais, excesso metais pesados, etc), pode haver redução na taxa de multiplicação das células microbianas e aumento da mortalidade dessas células, conduzindo ao decréscimo do $q\text{MIC}$ (Wardle, 1994), refletindo assim desequilíbrios ambientais e degradação do ecossistema.

2.3.2.4 Atividade enzimática do solo

As enzimas do solo participam de reações metabólicas responsáveis pelo funcionamento e pela manutenção dos seres vivos e também desempenham papel fundamental atuando como catalizadoras de várias reações que resultam na

decomposição de resíduos orgânicos, ciclagem de nutrientes e formação da matéria orgânica (Mendes, et al., 2011). Dentre as enzimas que podem ser encontradas no solo destacam-se as hidrolases (α e β -glicosidases, ureases, desaminases, sulfatases, amidases, proteases, celulasas) e oxidorreduções (polifenol oxidases, peroxidases), muitas destas disponibilizando minerais para a solução do solo (Ajwa et al., 1999). Por serem muito sensíveis às mudanças ambientais, as enzimas podem ser mais adequadas como bioindicadores do que os micro-organismos (Torsvik; Ovreas, 2002). Muitos trabalhos têm demonstrado o grande potencial das análises enzimáticas como indicadores sensíveis para detectar diferenças entre solos e mudanças que variam em função da influência antrópica nos mesmos (Dick, 1994, Trasar-Cépeda et al., 1998, Mendes et al., 2003).

2.3.3 Diversidade microbiana em solos com aplicação de dejetos de suínos

Em áreas sob aplicações de dejetos animais como fertilizantes orgânicos, processos microbianos no solo em geral, têm se mostrado indicadores sensíveis de curto e longo prazo para relatar as mudanças nas propriedades do solo (Abubaker et al., 2015). Alterações na comunidade microbiana podem ocorrer mais rapidamente do que nos atributos químicos ou físicos do solo, o que as tornam indicadores sensíveis para monitorar a qualidade do solo (Odlare et al., 2008). Todavia, pouco se conhece sobre os efeitos da deposição de dejetos animais na composição da microbiota do solo.

A compreensão da composição da comunidade microbiana e dos processos metabólicos realizados pelos micro-organismos em dejetos de suínos ainda não estão elucidadas. Apesar do uso de dejetos de suínos ser considerado uma importante fonte de nutrientes e condicionador do solo, aplicações por longo período, além de ocasionarem desequilíbrio de nutrientes no solo e risco de contaminação de corpos hídricos (Diesel et al., 2002) ainda podem trazer contaminação por micro-organismos patogênicos (Hong et al., 2013). Kumari et al., (2015) observaram os filos bacterianos *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Proteobacteria*, *Spirochaetes* e *Tenericutes* como predominantes na comunidade bacteriana do dejetos de suínos e atribuíram ao pH dos dejetos o principal fator que modula sua composição e a diversidade bacteriana.

A adição de dejetos de suínos ao solo aumenta a concentração de

nutrientes, o que aumenta a abundância relativa de grupos copiotróficos (adaptados a alta concentração de nutrientes) e diminui os oligotróficos. Xun e colaboradores (2016) observaram correlação positiva dos filos bacterianos *Actinobacteria*, *Gemmatimonadetes*, *Planctomycetes*, *Firmicutes*, *Alphaproteobacteria*, *Betaproteobacteria* e *Deltaproteobacteria*, conhecidos como copiotróficos, com as concentrações de nutrientes, enquanto os filos *Acidobacteria*, *Armatimonadetes*, *Chloroflexi* e *TM7*, conhecidos como oligotróficos, apresentaram correlação negativa. O solo rico em nutrientes proporciona o estabelecimento de culturas agrícolas e os micro-organismos do solo controlam a maior parte dos processos de ciclagem desses nutrientes. Assim, impactos causados na comunidade microbiana são importantes para prever o potencial produtivo do solo (Xun et al., 2015).

3 ARTIGO A – SISTEMAS DE PREPARO DO SOLO E APLICAÇÃO DE DEJETOS DE SUÍNOS POR LONGOS PERÍODOS MODIFICAM ATRIBUTOS QUÍMICOS E MICROBIOLÓGICOS DO SOLO E A PRODUTIVIDADE DA SOJA

3.1 RESUMO

Este estudo teve como objetivo aferir as alterações dos indicadores químicos e microbianos e na produtividade da soja em solos com aplicações contínuas por 20 anos de diferentes doses de dejetos de suíno (0, 30, 60, 90 e 120 m³ ha⁻¹ ano⁻¹) e diferentes preparos de solo (plantio direto, escarificação e preparo convencional), e estabelecer uma correlação dos bioindicadores e com a produção da soja. O plantio direto proporcionou aumentos no carbono da biomassa microbiana (CBM) e na fosfatase ácida. Houve aumento crescente no CBM e na produtividade da soja com o aumento das doses de dejetos de suínos. Apenas o bioindicador arilsulfatase apresentou correlação positiva com a produtividade da soja.

Palavras-chave: Chorume, *Glycine max*, Indicador da Qualidade do Solo.

3.2 ABSTRACT

This study aimed to assess changes in chemical and microbial indicators and in soybean productivity in soils with continuous applications for 20 years of different doses of swine manure (0, 30, 60, 90 and 120 m³ ha⁻¹ year⁻¹) and different soil tillage (no-tillage, scarification and conventional tillage), and establish a correlation between bioindicators and soybean production. No-tillage provided increases in the carbon of microbial biomass (CBM) and acid phosphatase. There was an increasing increase in CBM and soybean productivity with the increase in swine manure doses. Only the arylsulfatase bioindicator showed a positive correlation with soybean yield.

Key-words: Slurry, *Glycine max*, Soil Quality Indicator

3.3 INTRODUÇÃO

A qualidade do solo é avaliada a partir de indicadores que permitam monitorar suas variações em função das práticas de manejo (Vezzani; Mielniczuk., 2009). A biomassa e a atividade microbiana do solo estão entre os parâmetros mais usados pela comunidade científica e que também apresentam maior sensibilidade para serem utilizados como bioindicadores da qualidade do solo (Pankhurst et al., 1997; Nogueira; Hungria, 2013; Vasconcelos, 2015). Embora vários estudos acerca desses bioindicadores já tenham sido realizados, a interpretação dos valores obtidos para cada um deles e suas correlações com a produção agrícola ainda é um dos principais desafios a ser vencido pelos pesquisadores para uma correta avaliação da qualidade do solo (Lopes et al., 2018).

A comunidade microbiana do solo pode ser diretamente afetada pelos sistemas de preparo do solo que modificam os habitats e nichos ecológicos (Smith et al., 2016) e pela forma de disponibilização de nutrientes, em particular, com o uso de dejetos animais (Xun et al., 2016). Alterações na comunidade microbiana podem ocorrer mais rapidamente do que nas características químicas ou físicas do solo, o que permite considerá-las como adequados indicadores para monitorar a qualidade do solo (Odlare et al., 2008).

Um adequado manejo de solo proporciona o ambiente favorável para o desenvolvimento de culturas agrícolas e dos micro-organismos que participam efetivamente dos processos relacionados à ciclagem de nutrientes que, por sua vez, influencia o desempenho das lavouras cultivadas e exploradas economicamente. Assim, como indicam Xun et al. (2015), as alterações causadas na comunidade microbiana do solo correlacionam-se positivamente com seu potencial produtivo. Todavia, poucos estudos realizados no Cerrado do Brasil têm estabelecido correlações entre os valores obtidos para estes indicadores microbianos no solo e a produtividade agrícola das culturas (Lopes et al., 2018; Mendes et al., 2018).

Considerando a situação anteriormente apresentada, este estudo foi conduzido com o objetivo de avaliar as alterações dos indicadores químicos e microbiológicos de um Latossolo Vermelho eutrófico com diferentes sistemas de preparos de solo e aplicações contínuas de dejetos de suíno e estabelecer a correlação dos bioindicadores com a produtividade da soja.

3.4 MATERIAL E MÉTODOS

3.4.1 Delineamento Experimental e Coleta das Amostras

O experimento utilizado neste estudo foi instalado em 1996, a campo, na estação experimental do Instituto Agronômico do Paraná (IAPAR) situada no município de Palotina, Paraná (24°17' S, 53°50' W, altitude de 308 m), com clima subtropical úmido (Cfa), segundo a classificação de Köppen (CAVIGLIONE et al., 2000). O solo da estação experimental é classificado como Latossolo Vermelho Eutroférico de acordo com a descrição da Embrapa (2013), com uma composição de 60% de argila, 16% de silte e 24% de areia.

O delineamento experimental empregado foi em blocos ao acaso com parcelas subdivididas e quatro repetições, com o preparo do solo na parcela principal em três níveis (plantio direto, escarificação e plantio convencional) e doses de dejetos de suíno na sub-parcela em cinco níveis (0, 30, 60, 90 e 120 m³ ha⁻¹ ano⁻¹). As sub-parcelas experimentais foram estabelecidas com as dimensões de 5 x 10 m (50 m²). O preparo convencional foi realizado com uma aração na profundidade de 30 cm e seguido de uma gradagem. A escarificação foi realizada a 30 cm de profundidade seguida de uma gradagem. O plantio direto realizado sem revolvimento do solo.

As características físico-químicas do dejetos de suíno aplicado ao solo no ano de realização deste estudo estão apresentadas na Tabela 3.1. A aplicação do dejetos foi fracionada, sendo que a metade da dose foi aplicada antes da safra de verão (novembro) e a outra metade antes da safra de inverno (junho), cerca de 10 a 15 dias antes de implantar a cultura agrícola. O dejetos aplicado na área experimental é sempre coletado na mesma granja de suínos, que emprega um mesmo sistema de produção, para evitar grandes variações na composição. O campo experimental é conduzido com aplicação de dejetos de suínos desde 1996 como única fonte de nutrientes para as plantas (Balota et al., 2014). A área é sempre cultivada com soja (*Glycine max* L.) ou milho (*Zea mays* L.) no verão e trigo (*Triticum aestivum* L.) ou de aveia (*Avena sativa* L.) no inverno em sistema de rotação de culturas.

Tabela 3.1 Análise química dos dejetos de suínos aplicado ao solo como fertilizante para produção de soja, Palotina-PR.

| Amostra | Densidade | Massa seca | N | P | K ⁺ | Ca ²⁺ | Mg ²⁺ | Cu ²⁺ | Zn ²⁺ | Mn ²⁺ | Na ⁺ |
|-------------------------|------------------------|------------|------|------|----------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|-----------------|
| |g L ⁻¹ | | | | | | | | | | |
| | 1 | | | | | | | | | | |
| Dejeto líquido de suíno | 17,17 | 19,75 | 2,70 | 2,11 | 1,30 | 3,3 | 2,1 | 0,01 | 0,23 | 0,06 | 0,6 |

Densidade Bouyoucus. Massa seca: 60 °C por balão volumétrico.

O solo foi coletado na implantação da safra da soja em outubro de 2016, totalizando 20 anos de aplicação exclusiva de dejetos de suínos como fonte exclusiva de fertilizante. A amostragem foi realizada dez dias após a aplicação do dejetos no solo. Três sub-amostras de solo foram coletadas aleatoriamente na camada superficial de 0 a 10 cm, formando uma amostra composta e representativa de cada sub-parcela. No Laboratório de Microbiologia de Solos do IAPAR, as amostras foram homogeneizadas, peneiradas e armazenadas a temperatura de 7°C ± 3°C. A determinação da umidade foi efetuada pelo método gravimétrico, em estufa a 100 °C por 24 horas.

3.4.2 Atributos Químicos do Solo

Os procedimentos para as determinações analíticas de pH, H+Al, Al₃⁺, Ca₂⁺, Mg₂⁺, P e K⁺ foram realizadas de acordo com metodologias descritas por Pavan et al., (1992) no Laboratório de Solos do IAPAR (Londrina, PR). O pH foi determinado em água. O fósforo e potássio foram extraídos com a solução de Mehlich 1 (HCl a 0,5 mol L⁻¹ + H₂SO₄ a 0,05 mol L⁻¹) e determinados em colorímetro e fotômetro de chama, respectivamente. O Ca₂⁺ e o Mg₂⁺ foram extraídos em KCl a 1 mol L⁻¹ e determinados por titulação de EDTA. O H⁺ + Al₃⁺ foi determinado por titulometria, usando solução de acetato de cálcio 1 mol L⁻¹ a pH 7 para sua extração.

3.4.3 Biomassa e Atividade Microbiana

Para acessar os bioindicadores da qualidade do solo foram analisados o carbono da biomassa microbiana (CBM) (Vance et al., 1987) e a respiração microbiana (Jenkinson, Powlson, 1976). A relação C-CO₂/CBM foi utilizada para calcular o quociente metabólico qCO₂ (Anderson e Domsch, 1990).

Também foram determinadas as atividades das enzimas fosfatase ácida, fosfatase básica, arilsulfatase e β -glucosidase, conforme descrito por Tabatabai (1994).

3.4.4 Produtividade da Soja

A produtividade da soja foi estimada coletando-se as vagens produzidas no centro de cada parcela, em aproximadamente 22 m². Os grãos foram debulhados, pesados e na sequência determinado o teor de umidade. A umidade foi corrigida para 13% para calcular a produtividade (kg ha⁻¹) da soja.

3.4.5 Análises estatísticas

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste Tukey utilizando o R-Software (R Core Team, 2008). As variáveis microbiológicas e a produtividade da soja foram submetidas a análises de correlação de Pearson e a significância da correlação avaliada pelo teste t de Student (R-Software: R Core Team, 2008).

3.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados das análises químicas do solo estão apresentados na tabela 3.2.

Tabela 3.2 Análise química do solo de Palotina-PR após 20 anos com diferentes manejos (Plantio direto, escarificação e plantio convencional) e cinco doses de dejetos (0, 30, 60, 90 e 120 m³ ha⁻¹ ano⁻¹) de suíno na profundidade de 0-10 cm.

| Dose dejetos $\text{m}^3 \text{ha}^{-1} \text{ano}^{-1}$ | P mg dm^{-3} | C g dm^{-3} | pH | Al | H+Al | Ca | Mg $\text{cmol}_c \text{dm}^{-3}$ | K | S | T | V % |
|---|--------------------------|-------------------------|------|------|------|------|--------------------------------------|------|------|-------|--------|
| Preparo convencional | | | | | | | | | | | |
| 0 | 10,40 | 16,87 | 4,68 | 0,23 | 5,78 | 3,14 | 1,20 | 0,63 | 4,98 | 10,76 | 46,15 |
| 30 | 23,83 | 17,12 | 4,68 | 0,22 | 6,17 | 3,29 | 1,47 | 0,87 | 5,62 | 11,79 | 47,58 |
| 60 | 57,83 | 17,61 | 4,63 | 0,25 | 6,21 | 3,26 | 1,68 | 1,14 | 6,08 | 12,29 | 48,71 |
| 90 | 58,18 | 18,16 | 4,65 | 0,30 | 6,24 | 3,57 | 1,62 | 1,07 | 6,26 | 12,49 | 49,67 |
| 120 | 94,70 | 16,82 | 4,65 | 0,17 | 6,57 | 3,79 | 1,92 | 1,32 | 7,03 | 13,60 | 51,64 |
| Escarificação | | | | | | | | | | | |
| 0 | 9,55 | 17,31 | 4,73 | 0,25 | 5,80 | 3,69 | 1,18 | 0,91 | 5,77 | 11,57 | 48,97 |
| 30 | 29,40 | 17,52 | 4,80 | 0,18 | 5,90 | 3,83 | 1,68 | 1,23 | 6,75 | 12,65 | 52,52 |
| 60 | 30,18 | 17,38 | 4,98 | 0,04 | 5,27 | 4,54 | 1,91 | 1,24 | 7,68 | 12,95 | 59,21 |
| 90 | 48,00 | 16,55 | 4,73 | 0,23 | 6,33 | 3,99 | 1,80 | 1,11 | 6,89 | 13,22 | 50,99 |
| 120 | 51,48 | 15,09 | 4,70 | 0,31 | 6,01 | 3,33 | 1,71 | 1,12 | 6,15 | 12,17 | 51,02 |
| Plantio Direto | | | | | | | | | | | |
| 0 | 11,65 | 17,56 | 4,65 | 0,25 | 6,33 | 3,84 | 1,13 | 0,88 | 5,84 | 12,17 | 47,70 |
| 30 | 50,33 | 18,56 | 5,03 | 0,10 | 5,69 | 4,27 | 1,60 | 0,99 | 6,86 | 12,55 | 54,04 |
| 60 | 100,40 | 20,17 | 4,73 | 0,19 | 6,35 | 3,92 | 1,90 | 1,11 | 6,93 | 13,28 | 52,03 |
| 90 | 141,88 | 19,83 | 4,23 | 0,60 | 8,08 | 2,46 | 1,69 | 0,96 | 5,12 | 13,19 | 38,75 |
| 120 | 143,83 | 21,10 | 4,60 | 0,25 | 7,25 | 3,54 | 1,80 | 1,00 | 6,34 | 13,59 | 47,63 |

P e K (Mehlich I), C (Walkley-Black), pH (CaCl_2), Ca e Mg (KCl).

Os diferentes preparos do solo alteraram significativamente os teores de fósforo, carbono, a soma de bases (S), o pH, a acidez potencial (H+Al), a CTC pH 7 (T) e a saturação por bases (V) do solo. As doses de dejetos, por sua vez, alteraram significativamente os teores de fósforo, alumínio, magnésio, potássio, H+Al e T (Tabela 3.3). Não houve efeito significativo da interação preparo do solo x doses de dejetos, para nenhum dos atributos avaliados. O sistema plantio direto (PD) proporcionou aumento nos teores de fósforo, carbono, H+Al e T do solo em comparação com o plantio convencional (PC) (Figura 3.1). Os valores de pH, V e S foram maiores no preparo com escarificação (PE).

Em sistema de PD, Rheinheimer et al. (1998), estudaram as modificações dos atributos químicos de um solo arenoso sob plantio direto e também observaram maiores teores de carbono e fósforo, T e H+Al, quando comparados ao PC.

O aumento do fósforo no PD em comparação ao PC já foi relatado em outros estudos de solo (Anghinoni 2007; Rodrigues et al., 2016; Santos et al., 2017; Santana et al., 2018). Anghinoni (2007) considera que no PD o pouco revolvimento do solo reduz a exposição das formas de fósforo do solo aos colóides,

o que reduz à adsorção, pois os sítios de adsorção da camada superficial do solo se saturam rapidamente, deixando o P disponível na solução do solo. Ainda, as reações de dessorção do fósforo nas camadas superficiais do solo foram comprovadas serem maiores em PD, sem revolvimento do solo, que em PC (Rheinheimer et al., 2003), permanecendo assim em formas mais disponíveis na superfície de solo sob PD.

Ainda, a baixa mobilidade de P no solo também é um fator que pode estar relacionado ao aumento do elemento nas camadas superficiais do solo em áreas de plantio direto, sem revolvimento do solo (Nascimento et al., 2018). Em áreas sob sistema de plantio convencional, o revolvimento da camada superficial proporciona a distribuição e homogeneização do P. Essa distribuição do P a um maior volume de solo, principalmente em Latossolos em condições tropicais com altos teores de óxidos de Fe e Al, propiciam maior adsorção do P aos colóides do solo, o que resulta menores teores nas análises químicas (Santos; Gatiboni; Kaminski, 2008). Ainda, neste estudo com experimento de 20 anos, há adição frequente de P pela aplicação dos dejetos de suínos em quantidade maior ao absorvido pelas culturas.

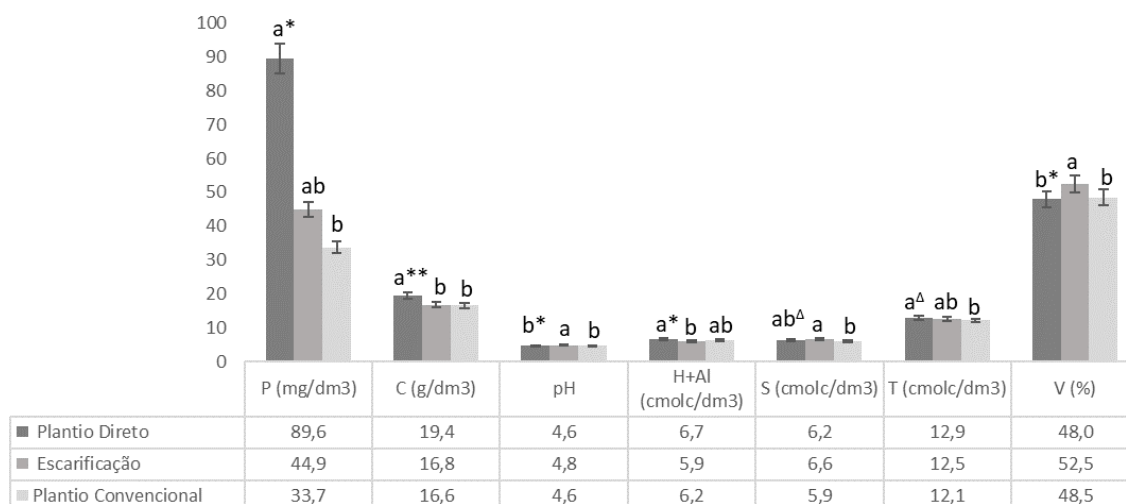
Em ecossistemas agrícolas, o teor de carbono do solo é influenciado pelo manejo adotado (Pereira et al., 2013). Em sistemas de PD, o aumento de carbono nas camadas superficiais do solo, como neste estudo (0-10 cm), já foi relatado em outros estudos devido à manutenção, decomposição e mineralização da palhada das culturas na superfície do solo (Pereira et al., 2013; Sá et al., 2014) e, particularmente no caso deste estudo, à manutenção do dejetos aplicado como fonte de carbono também na superfície do solo. Em sistemas de PC, com intensas práticas de revolvimento do solo, a exposição do solo favorece a oxidação da matéria orgânica (Castro Filho et al., 1998), desestrutura agregados do solo e modifica nichos microbianos e conseqüentemente resultar em redução do C. Embora no sistema de PD houve aumento de H+Al, não houve diferença no teor de alumínio entre os diferentes sistemas de preparo do solo, o que pode indicar que a maior parte dessa acidez esteja relacionada à liberação de íons de H⁺. Rheinheimer et al. (1998) atribuíram o aumento de H+Al no PD com o aumento de carbono no solo, o que promove maior atividade microbiana com conseqüente liberação de íons de hidrogênio.

Tabela 3.3 Análise de variância dos dados obtidos dos atributos químicos: fósforo (P), carbono (C), pH, alumínio (Al), acidez potencial (H+Al), cálcio (Ca), magnésio (Mg), potássio (K), soma de bases (S), capacidade de troca de cátions a pH 7 (T) e saturação por bases (V) de solos com diferentes preparos (Plantio direto, escarificação e plantio convencional) e cinco doses de dejetos de suínos (0, 30, 60, 90 e 120 m³ ha⁻¹ ano⁻¹) na safra verão para cultivo de soja.

| F.V. | G.L. | Quadrados médios | | | | | | | | | | |
|-----------------------|------|--------------------|---------------------|---------------------|----------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| | | P | C | pH | Al | H+Al | Ca | Mg | K | S | T | V |
| Preparo do Solo (PS) | 2 | 48,60* | 50,36** | 0,126* | 0,005 ^{ns} | 3,91* | 1,23 ^{ns} | 0,06 ^{ns} | 0,11 ^{ns} | 2,69 ^Δ | 3,57 ^Δ | 122,9* |
| Bloco | 3 | 20,29 ^Δ | 148,75*** | 0,482** | 0,038** | 3,37* | 6,35** | 0,25 ^{ns} | 0,29* | 7,50** | 7,79** | 228,9* |
| Erro a | 1 | 5,84 ^{ns} | 2,74 ^{ns} | 0,023 ^{ns} | 0,0033 ^{ns} | 0,60 ^{ns} | 0,46 ^{ns} | 0,09 ^{ns} | 0,05 ^{ns} | 0,64 ^{ns} | 0,74 ^{ns} | 23,6 ^{ns} |
| Doses de dejetos (Dd) | 4 | 65,62*** | 1,86 ^{ns} | 0,158 ^{ns} | 0,017* | 2,43* | 0,53 ^{ns} | 0,82*** | 0,23* | 2,73 ^{ns} | 5,02* | 84,3 ^{ns} |
| Int. PS x Dd | 8 | 6,54 ^{ns} | 9,41 ^{ns} | 0,113 ^{ns} | 0,010 ^Δ | 0,98 ^{ns} | 1,26 ^{ns} | 0,06 ^{ns} | 0,07 ^{ns} | 2,04 ^{ns} | 1,19 ^{ns} | 67,4 ^{ns} |
| Erro b | 36 | 4,69 ^{ns} | 10,74 ^{ns} | 0,079 ^{ns} | 0,005 ^{ns} | 0,75 ^{ns} | 0,98 ^{ns} | 0,06 ^{ns} | 0,06 ^{ns} | 1,68 ^{ns} | 1,80 ^{ns} | 47,6 ^{ns} |
| CV 1 % | | 35,7 ^{dt} | 9,4 | 3,2 | 5,2 ^{dt} | 12,4 | 18,7 | 19,1 | 21,0 | 12,8 | 6,8 | 9,8 |
| CV 2 % | | 32,0 ^{dt} | 18,6 | 6,0 | 6,5 ^{dt} | 13,9 | 27,4 | 15,8 | 24,0 | 20,7 | 10,7 | 13,9 |

****p*-valor<0,000; ***p*-valor<0,01; **p*-valor<0,05 e ^Δ*p*-valor<0,1. ns= não significativo. dt= dados transformados (x+1)^{0,5}.

Figura 3.1 Atributos químicos em relação aos diferentes sistemas de preparo do solo. Palotina, PR. Plantio Convencional (aração e gradagem), Escarificação e Plantio direto. Letras iguais não se diferem pelo teste de Tukey.



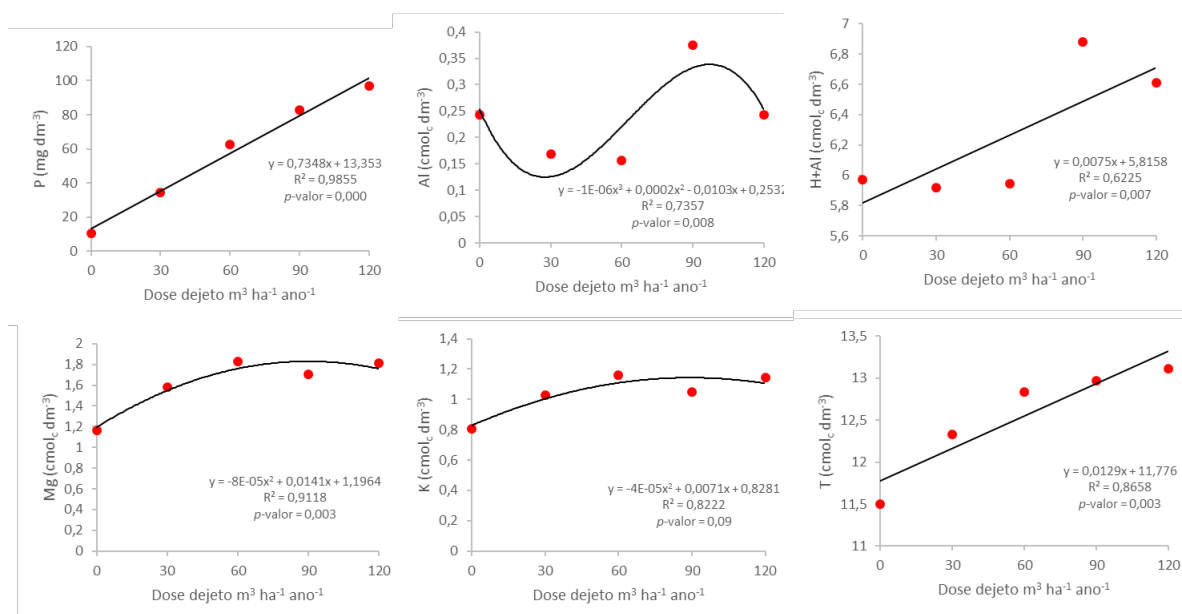
***p*-valor<0,01; **p*-valor<0,05 e ^Δ*p*-valor<0,1.

A aplicação de dejetos de suínos proporcionou aumentos progressivos (lineares ou quadráticos) dos teores de fósforo, magnésio, potássio, H+Al e T (Figura 3.2). Isso se deveu aos aumentos sucessivos e proporcionais das quantidades de nutrientes adicionados ao solo em função do aumento das doses aplicadas do dejetos. A variação dos teores de alumínio trocável do solo apresentou

comportamento irregular, ajustando-se a um modelo de terceiro grau. Reduziu com as primeiras doses, voltando a aumentar com as doses subsequentemente maiores. Todavia, não foi possível encontrar uma explicação lógica para esse comportamento, apesar da manutenção dos valores de pH do solo abaixo de 5,0 nos diferentes sistemas de preparo, independentemente das doses de dejetos aplicadas.

Após 20 anos de experimento, foi possível verificar que mesmo para a menor dose de dejetos ($30 \text{ m}^3 \text{ ha}^{-1} \text{ ano}^{-1}$) os teores de fósforo foram classificados entre médio e alto (Moreira et al., 2017), o que otimiza o rendimento das culturas anuais, como a soja utilizada nesse estudo. As maiores doses apresentam teores muito altos ($> 60 \text{ mg dm}^{-3}$) o que além de não trazer incrementos na produção, fica sujeito a lavagem pelas águas das chuvas podendo causar contaminação ambiental, principalmente dos reservatórios d'água. Pode-se então considerar que o sistema de plantio direto com aplicação de $30 \text{ m}^3 \text{ ha}^{-1} \text{ ano}^{-1}$ de dejetos de suínos potencializa os atributos químicos do solo melhorando sua qualidade para o cultivo da soja.

Figura 3.2 Variações dos atributos químicos do solo em função aplicação de dejetos suínos. Palotina, PR.



Os atributos microbiológicos como carbono da biomassa microbiana (CBM) e atividade da enzima fosfatase ácida refletiram diferenças entre os diferentes preparos de solo (Tabela 3.4).

Tabela 3.4 Análise de variância dos dados obtidos com para indicadores microbianos: Respiração microbiana (RM), Carbono da Biomassa Microbiana (CBM), quociente metabólico (qCO_2), atividade das enzimas β -glucosidase, fosfatase ácida, fosfatase básica e arilsulfatase de solos com diferentes preparos (Plantio direto, escarificação e plantio convencional) e cinco doses de dejetos de suínos (0, 30, 60, 90 e $120\text{ m}^3\text{ ha}^{-1}\text{ ano}^{-1}$) na safra verão para cultivo de soja.

| F.V. | G.L. | Quadrados médios | | | | | | |
|-----------------------|------|---------------------|--------------------|---------------------|----------------------|--------------------|----------------------|---------------------|
| | | RM | CBM | qCO_2 | β -glucosidase | Fosfatase Ácida | Fosfatase básica | Arilsulfatase |
| Preparo do Solo (PS) | 2 | 0,036 ^{ns} | 24999* | 1,753 ^{ns} | 35,083 ^{ns} | 47689** | 14,778 ^{ns} | 0,273 ^{ns} |
| Bloco | 3 | 4,196 ^{ns} | 99255* | 39,469** | 17,681 ^{ns} | 7426 ^{ns} | 129,211* | 0,183 ^{ns} |
| Erro a | 1 | 0,024 ^{ns} | 415 ^{ns} | 0,004 ^{ns} | 0,584 ^{ns} | 1093 ^{ns} | 0,001 ^{ns} | 0,004 ^{ns} |
| Doses de dejetos (Dd) | 4 | 0,095 ^{ns} | 11583** | 0,913 ^{ns} | 11,961 ^{ns} | 983 ^{ns} | 2,99 ^{ns} | 0,066 ^{ns} |
| Int. PS x Dd | 8 | 0,325 ^{ns} | 4635 ^{ns} | 1,667 ^{ns} | 11,150 ^{ns} | 5415 ^{ns} | 5,85 ^{ns} | 0,033 ^{ns} |
| Erro b | 36 | 0,302 ^{ns} | 2950 ^{ns} | 1,428 ^{ns} | 6,782 ^{ns} | 2837 ^{ns} | 4,094 ^{ns} | 0,066 ^{ns} |
| CV 1 % | | 5,82 ^{dt} | 6,45 | 1,30 ^{dt} | 7,2 | 15,27 | 0,32 ^{dt} | 4,39 ^{dt} |
| CV 2 % | | 20,53 ^{dt} | 17,19 | 25,00 ^{dt} | 24,52 | 24,6 | 20,32 ^{dt} | 16,92 ^{dt} |

*** p -valor<0,000; ** p -valor<0,01; * p -valor<0,05. ns= não significativo. dt= dados transformados $(x+1)^{0,5}$.

A biomassa microbiana (CBM) foi maior nos sistemas de plantio direto e preparo com escarificação comparados ao sistema de plantio convencional (Figura 3.3). O sistema de plantio direto (PD) frequentemente têm resultado em aumentos do CBM do solo em relação ao plantio convencional, como indicado em diversos estudos em variados ecossistemas (Alvarez et al., 1997; Balota et al., 1998; Guggenberger et al., 1999, Ferreira et al., 2007). Esse aumento pode estar relacionado com a manutenção da palhada na superfície do solo que proporciona uma maior quantidade de C-orgânico e um microclima favorável para o desenvolvimento microbiano (i.e. temperatura, umidade, matéria orgânica). Juntos esses fatores garantem maior integridade das células microbianas e como consequência da maior disponibilidade de C-orgânico aumentos das comunidades microbianas e consequentemente dos valores de CBM.

Ainda, o aumento do CBM em PD corrobora o aumento do carbono no solo obtido na análise química (Tabela 3.2). Os resultados obtidos estão de acordo com Eekeren et al. (2008) que relataram que após vários anos consecutivos de PD o carbono da biomassa microbiana é aumentado, ocorrendo simultaneamente reduções dos valores do quociente metabólico na camada superficial do solo em comparação ao solo sob plantio convencional (PC). Isso indica que no solo sob PD ocorreu uma maior eficiência energética para a microbiota, caracterizando esse sistema mais eficiente em sequestro de C, devido às menores perdas de carbono total. Diferentemente do que foi observado no sistema de plantio convencional, onde

o intenso revolvimento do solo pode ter proporcionado um ambiente desfavorável aos micro-organismos, pois os expõe à maior variações de temperatura e umidade (TerAvest et al., 2015), comprometendo o estabelecimento da comunidade microbiana na camada superficial do solo.

A adição de dejetos de suínos, por sua vez, alterou significativamente apenas o CBM (Tabela 3.4), que aumentou linearmente com as doses de dejetos aplicadas ao solo (Figura 3.4). Balota et al., (2014) também observaram que a aplicação de dejetos de suínos e o plantio direto aumentam os valores dos indicadores microbianos de qualidade do solo em comparação com a ausência de aplicações de dejetos e o preparo convencional. Igualmente, Matos et al., (2016) observaram aumentos no CBM com o aumento da dose de dejetos de suínos aplicados. O conteúdo de nutrientes de um solo influencia diretamente a abundância e a diversidade dos micro-organismos do solo (Kooren, 2014). Logo, pode-se entender que o aumento da biomassa microbiana solo seja uma resposta aos aumentos da disponibilidade de nutrientes no solo decorrentes das aplicações dos dejetos.

A atividade da enzima fosfatase ácida (liberação de p-Nitrofenol) também foi maior no sistema plantio direto (Figura 3.3). A maior atividade da enzima fosfatase ácida em sistema de PD, quando comparados ao PC, também já foi relatado em outros estudos (Carneiro et al., 2004; Mendes; Reis Júnior, 2004). A fosfatase ácida é uma enzima produzida por bactérias, fungos e plantas que mineralizam o P orgânico e disponibiliza P inorgânico no solo através de hidrólise enzimática (Kedi et al., 2012).

Neste estudo, nas áreas sob sistema de PD onde não há revolvimento do solo, o P orgânico proveniente dos dejetos suínos ficou nas camadas superficiais (0-10 cm), favorecendo a ocorrência de maior atividade da fosfatase ácida nesta camada. Além disso, o sistema de PD preserva as estruturas dos agregados quando comparadas ao PC (Barreto et al., 2009; Schimiguel et al., 2014), garantindo assim a manutenção dos principais nichos da atividade microbiológica que ocorrem nos agregados (Mendes et al., 2003; Bronic; Lal, 2005). Outro fator que corrobora essa assertiva é o alto teor de P na caracterização química do solo sob plantio direto nas maiores doses do dejetos aplicado (Tabela 3.2). Esses resultados também demonstram que os atributos químicos e biológicos do solo respondem de forma interligada, e, assim, a qualidade do solo é melhor refletida

quando esses indicadores são avaliados em conjunto.

Não houve diferença significativa nos bioindicadores avaliados na interação entre os níveis preparo do solo e doses de dejetos.

Figura 3.3 Variações dos teores de Carbono da Biomassa Microbiana (CBM) e da atividade da enzima fosfatase ácida (liberação de p-Nitrofenol) no solo submetido a diferentes preparos: Plantio Convencional (aração e gradagem), Escarificação e Plantio direto. Letras iguais não se diferem pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

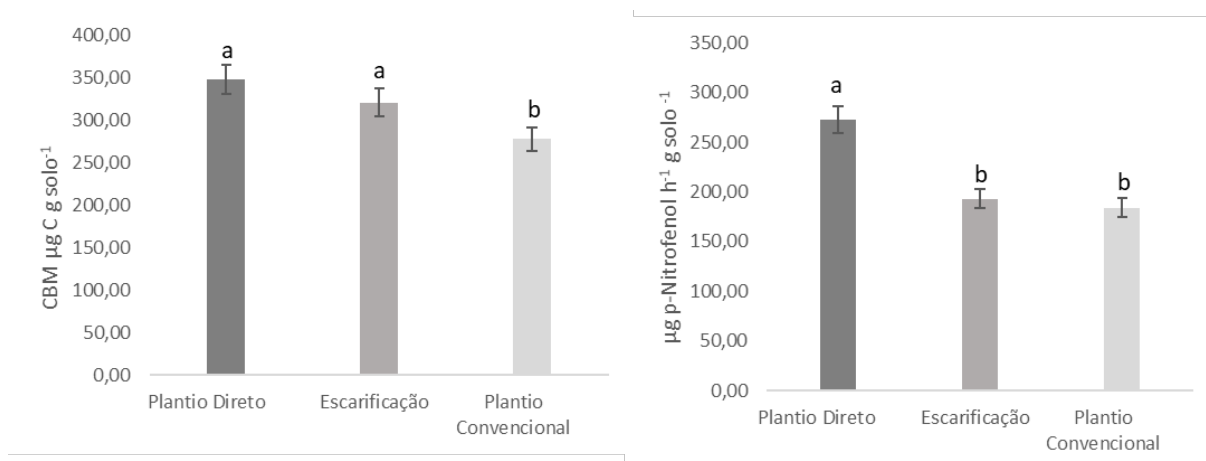
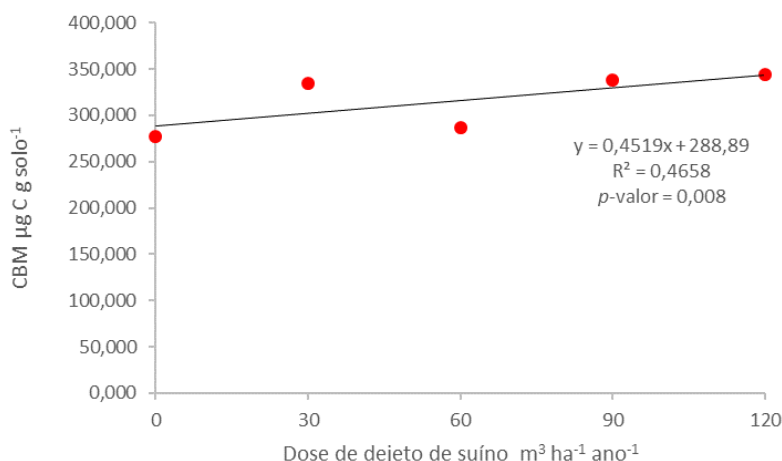


Figura 3.4 Ajuste da variação dos valores de Carbono da Biomassa Microbiana (CBM) do solo em função das doses de dejetos de suíno.



A produtividade da soja também respondeu à adição de dejetos de suíno no solo (Tabela 3.5). Foram observados aumentos progressivos na produtividade da soja em função das doses de dejetos utilizada (Figura 3.5). Isso pode ser explicado pelo suprimento de diferentes nutrientes contidos nos dejetos suínos, que contribuiu significativamente para o suprimento da demanda nutricional da cultura de soja, ao longo do período experimental (20 anos). Embora o aumento

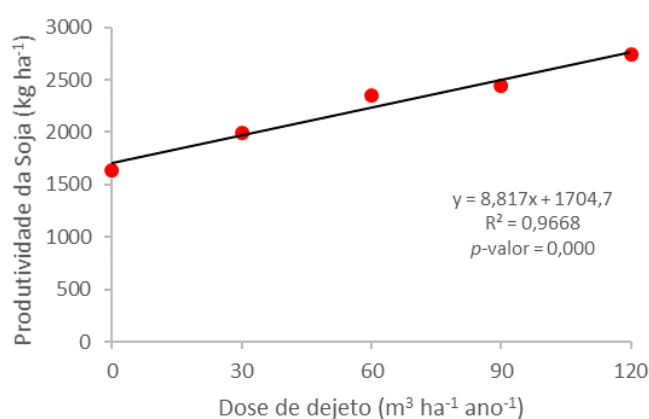
das doses tenha aumentado apenas alguns nutrientes avaliados (i.e. P, Mg e K) como descrito anteriormente, os teores dos demais nutrientes avaliados foram classificados como adequado e suficientes para atender as exigências da cultura da soja (Moreira et al., 2017). Todavia, embora os diferentes tipos de preparo do solo tenham alterado os atributos químicos e microbiológicos do solo, a produtividade da soja não foi alterada significativamente pelos diferentes preparos.

Tabela 3.5 Análise de variância da produtividade da soja em diferentes preparos de solo (Plantio direto, escarificação e plantio convencional) e cinco doses de dejetos de suínos (0, 30, 60, 90 e 120 m³ ha⁻¹ ano⁻¹) em Palotina-PR.

| F.V. | G.L. | Quadrado médio |
|-----------------------|------|--------------------------------------|
| | | Produtividade (kg ha ⁻¹) |
| Preparo do Solo (OS) | 2 | 551175 ^{ns} |
| Bloco | 3 | 313665 ^{ns} |
| Erro a | 1 | 5196 ^{ns} |
| Doses de dejetos (Dd) | 4 | 2188813 ^{***} |
| Int. PS x Dd | 8 | 121775 ^{ns} |
| Erro b | 36 | 157350 ^{ns} |
| CV 1 % | | 3,23 |
| CV 2 % | | 17,76 |

****p*-valor<0,000; ***p*-valor<0,01; **p*-valor<0,05. ns= não significativo.

Figura 3.5 Ajuste das variações de produtividade da cultura da soja em função das doses de dejetos suínos na safra 2016. Palotina, PR.



Na análise de correlação entre os bioindicadores avaliados e a produtividade da cultura da soja, só foi observada correlação positiva significativa para a atividade da enzima arilsulfatase (Tabela 3.6).

Tabela 3.6 Correlações de Pearson entre os atributos microbianos: Respiração microbiana (RM), Carbono da Biomassa Microbiana (CBM), quociente metabólico (qCO₂), atividade das enzimas β-glucosidase, fosfatase ácida, fosfatase básica e arilsulfatase e a produtividade da Soja na safra de 2016 em Palotina-PR.

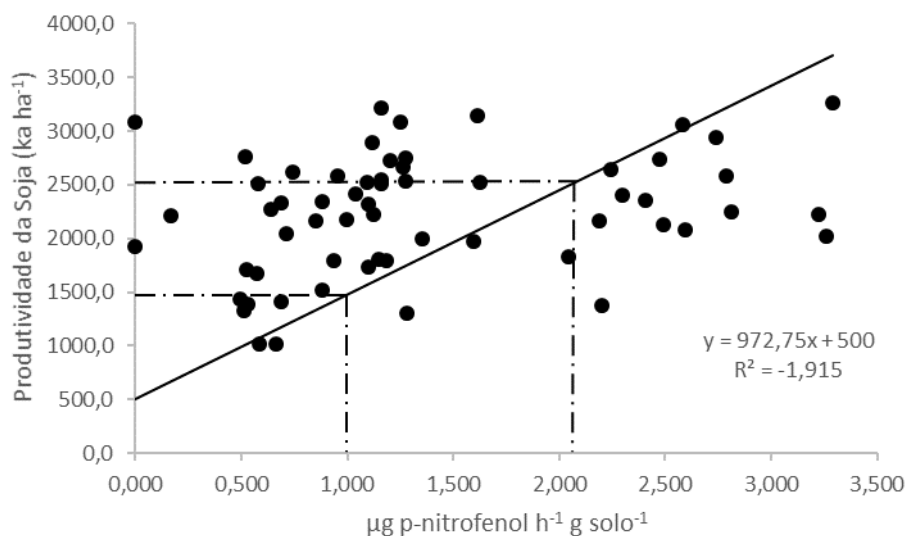
| Atributos analisados | Correlação | p-valor |
|----------------------------------|------------|--------------------|
| RM x Produtividade | -0,1 | 0,44 ^{ns} |
| CBM x Produtividade | 0,07 | 0,58 ^{ns} |
| qCO ₂ x Produtividade | -0,14 | 0,28 ^{ns} |
| β-glucosidase x Produtividade | 0,13 | 0,33 ^{ns} |
| Arilsulfatase x Produtividade | 0,28 | 0,03 [*] |
| Fosfatase ácida x Produtividade | -0,16 | 0,22 ^{ns} |
| Fosfatase básica x Produtividade | 0,06 | 0,67 ^{ns} |

***p-valor<0,000; **p-valor<0,01; *p-valor<0,05 e ^Δp-valor<0,1; ns= não significativo pelo teste t de Student.

Embora já existam níveis críticos estabelecidos para a interpretação alguns atributos físicos e bem estabelecidos para interpretação dos atributos químicos do solo (Sobral et al., 2015; Reichert et al., 2007; Lopes 1998), ainda são poucas as informações disponíveis para interpretação dos valores analíticos obtidos para os bioindicadores. Devido à heterogeneidade dos solos e a rápida alteração dos bioindicadores em resposta às mudanças do clima, tipo de solo, manejo e uso da terra, parece adequado o estabelecimento de níveis críticos locais ou regionais, que possam ser utilizados para comparações com outros estudos (Lopes et al., 2013). Neste estudo, foi possível sugerir o estabelecimento de faixas de interpretação da atividade da enzima arilsulfatase, considerando as sugestões de Lopes et al., (2013) e Mendes et al., (2018), como apresentados na Figura 3.6. Os critérios utilizado para definição das faixas de interpretação foram os seguintes: Para baixas produtividades (até 1500 kg ha⁻¹), a atividade da enzima arilsulfatase foi até 1 µg de p-Nitrofenol h⁻¹ g solo⁻¹, para produtividades moderadas de soja (1500 – 2500 kg ha⁻¹) a atividade da enzima arilsulfatase variou de 1 a 2 µg de p-Nitrofenol h⁻¹ g solo⁻¹ e para produtividades mais altas (acima de 2500 kg ha⁻¹) a atividade da enzima arilsulfatase foi superior a 2 µg de p-Nitrofenol h⁻¹ g solo⁻¹ (Figura 3.6).

Figura 3.6 Relação entre a atividade da enzima arilsulfatase e a produtividade da soja na safra de 2016 em Palotina-PR. Dados coletados em experimento sob diferentes preparos de solo (Plantio direto, escarificação e plantio convencional) e

cinco doses de dejetos de suínos (0, 30, 60, 90 e 120 m³ ha⁻¹ ano⁻¹).



Linhas tracejadas representam limites das classes interpretativas para Arilsulfatase: Produtividade < 1500 kg ha⁻¹: níveis baixos; 1500 – 2500 kg ha⁻¹: níveis moderados; >2500 kg ha⁻¹: níveis altos.

A arilsulfatase é uma enzima relacionada à ciclagem do enxofre no solo, que hidrolisa S-orgânico e disponibiliza íons sulfato ao solo (Kertesz; Mirleau, 2004) formas absorvidas pelas plantas (Sfredo; Lantmann, 2007). O enxofre é um elemento essencial ao metabolismo das plantas, pois é constituinte de aminoácidos essenciais que formam as proteínas, e em particular na soja, é necessário para formação da nitrogenase e promove a nodulação (Sfredo; Lantmann, 2007). O desenvolvimento da soja e a produção de grãos são altamente dependentes da absorção de enxofre (Vitti et al., 2007). Em áreas com quantidade expressivas de enxofre orgânico, a absorção deste nutriente pela soja é influenciada pela atividade da enzima arilsulfatase (Nogueira, Melo, 2003). A atividade dessa enzima tem sido considerada um ótimo bioindicador da qualidade do solo por participar ativamente do ciclo biogeoquímico do enxofre.

Diferentes estudos indicam que o aumento da atividade da arilsulfatase está correlacionado com o aumento da produção de grãos pela cultura da soja. Lopes et al., (2018) citam a arilsulfatase como um indicador microbiano estável para ser utilizado nas análises de qualidade do solo. Mendes et al., (2018), avaliando um conjunto de dados de bioindicadores nos solos do Cerrado brasileiro, também consideraram a arilsulfatase, juntamente com a β -glucosidase, enzimas

sensíveis para detectar alterações nos sistemas de manejo do solo. Lopes et al., (2013) também obtiveram correlações positivas entre a arilsulfatase e o rendimento de grãos da cultura da soja.

Todavia, ainda são poucos os trabalhos que buscam estabelecer valores de referência para interpretação dos bioindicadores da qualidade do solo. Embora sejam estudos pioneiros, e que precisam de maiores comprovações e sistematizações de análise para o estabelecimento de critérios de aferição e níveis críticos, os valores encontrados de arilsulfatase correlacionados à produtividade da soja neste estudo, juntamente aos já obtidos no Cerrado do Brasil, podem auxiliar pesquisas futuras a estabelecer limites a serem atingidos para uma boa qualidade do solo e boa produtividade.

Os atributos químicos e microbiológicos do solo são dependentes de fatores edafoclimáticos e respondem aos sistemas de manejos que mantenham o solo com boa qualidade. Neste estudo foram obtidos resultados que indicam que o sistema de preparo interfere na dinâmica da fertilidade do solo, sendo que a adoção do sistema de plantio direto associado à aplicação de dejetos de suínos elevam os teores de nutrientes e incrementam a biomassa e atividade microbiana no solo, aumentando a produtividade da cultura da soja.

3.6 CONCLUSÕES

Os diferentes sistemas de preparo do solo interferem nos indicadores químicos e microbiológicos da qualidade do solo, sendo que o plantio direto melhora os teores de nutrientes e aumenta o teor de Carbono da Biomassa microbiana e a atividade da enzima fosfatase ácida no solo.

Os nutrientes P, Mg e K, a saturação por bases e a capacidade de troca de cátions, o Carbono da Biomassa microbiana e a produtividade da soja aumentam com o acréscimo das doses de dejetos de suínos aplicadas no solo.

Dos bioindicadores da qualidade do solo analisados neste estudo, apenas a atividade da enzima arilsulfatase correlacionou-se positiva e significativamente com a produtividade da cultura da soja, permitindo estabelecer níveis críticos dos resultados analíticos para a atividade desta enzima no solo.

4 ARTIGO B – ATRIBUTOS QUÍMICOS E COMPOSIÇÃO E ATIVIDADE DA COMUNIDADE MICROBIANA DO SOLO EM FUNÇÃO DO TEMPO E DOSES DE APLICAÇÃO DE DEJETO DE SUÍNOS

4.1 RESUMO

O objetivo deste estudo foi avaliar as alterações nos indicadores químicos e biológicos e na estrutura da comunidade microbiana do solo sob plantio direto após 20 anos de aplicação de diferentes doses de dejetos de suínos e comparar com as alterações causadas no primeiro ano de aplicação. Aplicações de dejetos de suínos no primeiro ano disponibilizam teores de nutrientes suficientes para o cultivo da soja, porém causou um grande estresse na comunidade microbiana, com aumento da respiração e quociente metabólico, mas não alterou os grupos taxonômicos do solo. Já as aplicações contínuas de dejetos de suínos por 20 anos, principalmente para doses igual ou acima de $90 \text{ m}^3 \text{ ha}^{-1} \text{ ano}^{-1}$, causaram aumento excessivo dos teores de fósforo no solo. Embora a comunidade microbiana do solo reestabeleça sua atividade, vista como uma homeostase estequiométrica, ocorreu uma mudança na sua composição e funcionalidade, aumentando os filos *Firmicutes* e *Acidobacteria* trazidos pelo dejetos.

4.2 ABSTRACT

The objective of this work was to evaluate changes in chemical and biological indicators and in the structure of soil microbial community under no-tillage system and long-term (20 years) application of swine slurry in different levels and compare with the changes caused in the first year of slurry application. Swine slurry applications in the first year provide sufficient nutrient content for agricultural cultivation, but cause stress on microbial community, with increased respiration and metabolic quotient, but do not change soil taxonomic groups. Long-term applications, especially levels above $90 \text{ m}^3 \text{ ha}^{-1} \text{ year}^{-1}$, cause excess of phosphorus in soil, and although the microbial community reestablishes its activity, described as a stoichiometric homeostasis, there is a change in composition and functionality of soil microbial community, increasing the *Firmicutes* and *Acidobacteria* phyla brought by

the slurry.

4.3 INTRODUÇÃO

A suinocultura é uma atividade muito importante para o agronegócio mundial. No Brasil, a produção de carne suína vem crescendo a cada ano (USDA, 2019), o que implica em aumentos anuais na geração de dejetos. A disposição final desses dejetos ainda representa um problema complexo para o setor, e demanda estudos urgentes para uma definição adequada e ambientalmente correta para sua destinação final. Prioritariamente estes dejetos têm sido direcionados para aplicações em áreas de cultivos agrícolas, servindo principalmente como fonte de nutrientes para atender a demanda nutricional das culturas (EMBRAPA, 2003). Com isso se evita que os mesmos sejam jogados em corpos hídricos, o que resultaria em grave contaminação ambiental (Sediyama et al., 2000).

Uma vez aplicados nas áreas de cultivo agrícola, os dejetos de suínos ficam sujeitos ao processo de decomposição pela ação de organismos vivos do solo, principalmente pela comunidade microbiana, liberando na sequencia para a solução do solo, a maior parte do seu conteúdo de nutrientes, que irá atender a demanda nutricional das plantas cultivadas (Scherer; Baldissera; Rosso, 1995; Lourenzi et al., 2013). Contudo, embora seu uso nos solos agrícolas possa melhorar a disponibilidade de nutrientes para as plantas, se usado continuamente ou de forma excessiva e inadequada, representa um potencial poluente para o ambiente, podendo comprometer a qualidade do solo e da água (Ceretta et al., 2003).

No Brasil, a falta de normas e diretrizes para o uso de dejetos de suínos na agricultura leva à aplicações em quantidades e períodos inadequados, o que aumenta o potencial de contaminação ambiental. Evidencia-se, assim, a necessidade de estudos que identifiquem os impactos negativos causados pelo uso incorreto desses dejetos gerando novos conhecimentos e orientações para evitar desequilíbrios e contaminação do ambiente agrícola.

O monitoramento de alterações dos indicadores de qualidade do solo é o procedimento mais indicado para esta situação e deve fazer parte dos programas e projetos que visam o aproveitamento agrícola dos dejetos suínos, como sugere as avaliações de Vezzani; Mielniczuk (2009). Além disso, esses indicadores podem ser usados para acompanhar a dinâmica das mudanças que ocorrem nos

agroecossistemas (Martinez-Salgado, 2010).

Em aplicações contínuas de dejetos de suínos por longos períodos, vários estudos indicam a ocorrência de alterações nos atributos químicos do solo, gerando excedentes de nutrientes no ambiente (Jin et al., 2016; Bonten et al., 2014; Hernández et al., 2013). Por outro lado, quando aplicados ao solo, os dejetos introduzem uma comunidade microbiana particular, diferente daquela originalmente encontrada no solo (Kumari et al., 2015). Todavia, pouco se sabe sobre as alterações conjuntas dos atributos químicos e da composição e funcionalidade da comunidade microbiana com aplicações contínuas dos dejetos por longos períodos.

Sendo assim, este estudo objetivou avaliar os efeitos de doses e tempo de aplicações contínuas de dejetos suínos nos indicadores químicos, biológicos e na estrutura e atividade da comunidade microbiana do solo sob plantio direto.

4.4 MATERIAL E MÉTODOS

4.4.1 Delineamento Experimental e Coleta das Amostras

O experimento foi instalado na estação experimental do Instituto Agrônomo do Paraná (IAPAR) na cidade de Palotina, Paraná (24°17' S, 53°50' W) em uma área com solo argiloso classificado como Latossolo Vermelho Eutroférico contendo 60% de argila, 16% de silte e 24% de areia. O delineamento experimental empregado foi o de blocos ao acaso em esquema fatorial (2 x 5) com quatro repetições, em que os fatores foram: i) dois tempos de aplicação dos dejetos (Primeira e 20 aplicações anuais). A primeira aplicação corresponde a uma aplicação realizada no verão de 2016 e as 20 aplicações anuais, corresponde as aplicações anuais dos dejetos suínos por 20 anos consecutivos, iniciadas no ano de 1996; ii) o segundo fator correspondeu as doses de dejetos de suínos: 0, 30, 60, 90 e 120 m³ ha⁻¹ ano⁻¹ aplicadas nas parcelas experimentais. O sistema de cultivo empregado ao longo do tempo foi o plantio direto com rotação de culturas, cultivando-se soja (*Glycine max* L.) ou milho (*Zea mays* L.) no verão e trigo (*Triticum aestivum* L.) ou de aveia (*Avena sativa* L.) no inverno.

A cada ano a aplicação dos dejetos foi realizada de forma

parcelada, sendo metade da dose aplicada antes da safra de verão (outubro) e a outra metade antes da safra de inverno (março). O dejetos foi sempre coletado a cada ano na mesma granja de suínos, que emprega o mesmo sistema de produção, o que contribui para minimizar variações na sua composição.

Foram coletadas amostras de solos submetidos às aplicações continuadas de dejetos por 20 anos e em uma área com primeiro ano de aplicação. Também foram coletadas amostras dos dejetos aplicados. Como área de referência, foram coletadas amostras de solo de uma mata sem perturbações, localizada próxima à área experimental de realização deste estudo. A amostragem do solo foi realizada dez dias após a aplicação dos dejetos de suínos ao solo na safra de verão, antes da implantação da cultura da soja. Três sub-amostras de solo foram coletadas aleatoriamente na profundidade de 0 a 10 cm, formando uma amostra composta e representativa de cada parcela.

4.4.2 Atributos Químicos do Solo e dos Dejetos de Suínos

Os procedimentos para as determinações analíticas de pH, H+Al, Al_3^+ , Ca_2^+ , Mg_2^+ , P e K^+ foram realizadas de acordo com metodologias descritas por Pavan et al., (1992) no Laboratório de Solos do IAPAR (Londrina, PR). O pH foi determinado em água. O fósforo e potássio foram extraídos com a solução de Mehlich 1 (HCl a $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ + H_2SO_4 a $0,05 \text{ mol L}^{-1}$) e determinados em colorímetro e fotômetro de chama, respectivamente. O Ca_2^+ e o Mg_2^+ foram extraídos em KCl a 1 mol L^{-1} e determinados por titulação de EDTA. O H^+ + Al_3^+ foi determinado por titulometria, usando solução de acetato de cálcio 1 mol L^{-1} a pH 7 para sua extração. Para o dejetos, foram avaliados: densidade empregando o método do densímetro (Bouyococus, 1936), peso seco (Miyazawa; Barbosa, 2015) e macro e micronutrientes (Pavan et al., 1992).

4.4.3 Biomassa e atividade microbiana

Os atributos microbiológicos do solo das áreas estudadas e dos dejetos foram avaliados no Laboratório de Solos do IAPAR. Para avaliar os atributos relacionados à atividade microbiana nas amostras de solo, o Nitrogênio e Carbono da biomassa microbiana (NBM e CBM), foram avaliados segundo o método proposto

por Vance e colaboradores (1987), respiração microbiana pela adaptação do método da fumigação-incubação, proposto por Jenkinson e Powelson (1976) e a atividade potencial das enzimas fosfatase ácida, básica, β -glucosidase e arilsulfatase conforme descrito por Tabatabai (1994).

4.4.4 Extração e sequenciamento de DNA metagenômico

A extração do DNA total de foi realizada com 0,5 g das amostras de solo e dos dejetos de suínos com a utilização do kit PureLink™ Microbiome DNA Purification kit (Invitrogen, Calrsbad, CA, EUA), de acordo com as instruções do fabricante. A integridade do DNA foi determinada por eletroforese em gel de agarose 1% (m/v) e a quantificação do DNA foi realizada com o kit Qubit dsDNA Br Assay no fluorômetro Qubit® 2.0 (Invitrogen).

Com o DNA obtido, o gene ribossomal 16S na região V4 foi amplificado por PCR com os primers descrito por Pereira et al (2019) (anexo A). O preparo das bibliotecas foi realizado com o kit Nextera XT DNA Sample Preparation (Illumina, Inc. EUA). Os fragmentos foram então sequenciados na plataforma Illumina MiSeq (Illumina, Inc. EUA) utilizando o kit MiSeq Reagent Kit V3 (Illumina, Inc., EUA) em parceria com o Laboratório de Microbiologia do Solo ESALQ-USP.

A qualidade das leituras obtidas pelo sequenciamento foi avaliada pelos gráficos de qualidade Phred gerados pelo programa FastQC 0.10.1 (<http://www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/fastqc/>). Foram verificadas sobreposições nos pares de leituras dos fragmentos e geradas sequências consenso pelo programa Flash 1.2.7 (Fast Length Adjustment of Short Reads) (<http://ccb.jhu.edu/software/FLASH/>). Posteriormente, foi realizada uma filtragem com o programa Seqclean 1.3.12 (<http://cores.ibest.uidaho.edu/software/seqclean>) removendo sequências com bases com escore de qualidade Phred menores que 20 e tamanhos menores que 50 pares de bases. O arquivo gerado ao final dos procedimentos foi submetido a anotação automática pelo programa MG-RAST (Metagenomes Rapid Annotation using Subsystem Technology - <http://metagenomics.anl.gov>), versão 4.0.3 (Meyer et al., 2008). O perfil taxonômico com base nas sequências geradas de 16S RNAr foram realizados com a comparação no banco de dados RPD (Ribossomal Database Project) com um *cutoff*

de 80% de identidade.

4.4.5 Análises estatísticas

Os dados de atributos químicos e biológicos foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste Tukey no R-Software (R Core Team, 2008). Com base nos atributos químicos e microbiológicos foram realizadas análises de agrupamento das áreas formando dendrogramas de similaridade pela distância Euclidiana média e análises de ordenação multivariadas pelo método de componentes principais (PCA) pelo software Action stat (Estatcamp, Campinas, SP, Brasil). Para determinar as diferenças estatísticas entre as amostras estudadas a partir dos dados obtidos no sequenciamento metagenômico foi utilizado o programa STAMP-Statistical Analysis of Metagenomic Profiles (Parks; Beiko, 2010). O perfil microbiano de cada amostra foi submetido separadamente à análise de variância (ANOVA) e um teste de comparação múltipla por Tukey-Kramer ($p < 0,05$), e construído um dendrograma de similaridade usando o algoritmo UPGMA (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic mean). Comparações de médias de grupos de amostras foram realizadas pelo teste Welch t-test ($p < 0,05$) para melhor visualização das distinções entre as amostras.

4.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.5.1 Resultados

Os atributos químicos do solo com diferentes tempos de aplicação e com diferentes doses de dejetos de suínos estão apresentados na tabela 4.1 e a caracterização química do dejetos de suínos aplicado está apresentada na tabela 4.2.

Tabela 4.1 Análise química do solo de Palotina-PR após diferentes tempos de aplicação (20 anos e primeira aplicação) e cinco doses de dejetos de suínos (0, 30, 60, 90 e 120 m³ ha⁻¹ ano⁻¹) na profundidade de 0-10 cm utilizados para cultivo de soja na safra de 2016.

| Dose dejetos | P | C | pH | Al | H+Al | Ca | Mg | K | S | T | V |
|---|---------------------|--------------------|----|------------------------|------|----|----|---|---|---|---|
| m ³ ha ⁻¹ ano ⁻¹ | mg dm ⁻³ | g dm ⁻³ | | cmolc dm ⁻³ | | | | | | | % |
| Aplicação contínua de dejetos | | | | | | | | | | | |

| 0 | 11,65 | 17,56 | 4,65 | 0,25 | 6,33 | 3,84 | 1,13 | 0,88 | 5,84 | 12,17 | 47,70 |
|---------------------------|--------|-------|------|------|------|------|------|------|------|-------|-------|
| 30 | 50,33 | 18,56 | 5,03 | 0,10 | 5,69 | 4,27 | 1,60 | 0,99 | 6,86 | 12,55 | 54,04 |
| 60 | 100,40 | 20,17 | 4,73 | 0,19 | 6,35 | 3,92 | 1,90 | 1,11 | 6,93 | 13,28 | 52,03 |
| 90 | 141,88 | 19,83 | 4,23 | 0,60 | 8,08 | 2,46 | 1,69 | 0,96 | 5,12 | 13,19 | 38,75 |
| 120 | 143,83 | 21,10 | 4,60 | 0,25 | 7,25 | 3,54 | 1,80 | 1,00 | 6,34 | 13,59 | 47,63 |
| Primeiro ano de Aplicação | | | | | | | | | | | |
| 0 | 28,80 | 18,50 | 4,70 | 0,18 | 6,20 | 3,37 | 1,56 | 0,71 | 5,64 | 11,84 | 47,63 |
| 30 | 35,65 | 20,87 | 4,83 | 0,12 | 6,00 | 4,32 | 1,81 | 0,83 | 6,96 | 12,95 | 53,23 |
| 60 | 37,83 | 21,73 | 4,88 | 0,14 | 6,01 | 4,15 | 1,68 | 0,96 | 6,79 | 12,80 | 52,65 |
| 90 | 31,28 | 20,35 | 4,80 | 0,14 | 5,90 | 4,07 | 1,99 | 0,89 | 6,95 | 12,85 | 53,64 |
| 120 | 33,83 | 20,97 | 4,85 | 0,08 | 5,99 | 4,07 | 2,09 | 0,88 | 7,03 | 13,02 | 53,76 |

P e K (Mehlich I), C (Walkley-Black), pH (CaCl₂), Ca e Mg (KCl).

Tabela 4.2 Análise química do dejetto de suíno aplicado no solo como fertilizante para produção de soja em Palotina-PR.

| Amostra | Densidade | Massa seca | N | P | K ⁺ | Ca ²⁺ | Mg ²⁺ | Cu ²⁺ | Zn ²⁺ | Mn ²⁺ | Na ⁺ |
|--------------------------|------------------------|------------|------|------|----------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|-----------------|
| |g L ⁻¹ | | | | | | | | | | |
| Dejetto líquido de suíno | 17,17 | 19,75 | 2,70 | 2,11 | 1,30 | 3,3 | 2,1 | 0,01 | 0,23 | 0,06 | 0,6 |

Densidade Bouyoucos. Massa seca: 60 °C por balão volumétrico.

Os diferentes tempos de aplicação do dejetto no solo, aplicações contínuas por 20 anos e primeira aplicação, alteraram significativamente os teores de fósforo, alumínio e magnésio e os valores de acidez potencial (H+Al) e saturação por bases (V) (Tabela 4.3). As diferentes doses de dejetos aplicadas (0, 30, 60, 90 e 120 m³ ha⁻¹ ano⁻¹) modificaram os teores de fósforo, alumínio e magnésio e pH do solo. A interação entre os períodos de aplicação e as doses de dejetto interferiram significativamente nos teores de fósforo e alumínio do solo (Tabela 4.3).

Com relação aos diferentes tempos de aplicação do dejetto de suínos no solo, houve aumento da acidez potencial (H+Al) nas aplicações consecutivas por 20 anos de dejetto, quando comparadas com a primeira aplicação (Figura 4.1). O teor de magnésio e a saturação por bases do solo (V), por sua vez, foram maiores nas áreas que receberam a primeira aplicação do dejetto (Figura 4.1).

Quanto às doses de dejetto aplicadas, houve aumento linear do teor de magnésio no solo com o aumento da dose do dejetto. Todavia, o modelo de regressão ajustado para explicar o pH do solo foi polinomial cúbico, com aumentos do pH nas doses de 30 e 120, e redução (solo mais ácido) nas doses de 60 e 90 m³ ha⁻¹ ano⁻¹.

No desdobramento da interação entre os períodos de aplicação

dentro das doses de dejetos de suínos para os teores de fósforo do solo, tanto a aplicação contínua por 20 anos quanto o primeiro ano de aplicação das doses 0, 30 e 60 m³ ha⁻¹ ano⁻¹ apresentaram teores similares de fósforo no solo (Figura 4.3). Porém, aplicações contínuas por 20 anos das doses 90 e 120 m³ ha⁻¹ ano⁻¹ aumentam significativamente os teores de fósforo no solo quando comparadas às áreas com primeiro ano de aplicação dessas doses (Figura 4.3). No desdobramento da interação entre as doses de dejetos de suínos dentro dos períodos de aplicação, no primeiro ano de aplicação, não houve diferença nos teores de fósforo do solo entre as doses aplicadas (Figura 4.4A). Todavia, nas áreas de aplicação contínua, há um aumento linear do teor de fósforo no solo com o aumento da dose aplicada (Figura 4.4B).

Para os teores de alumínio do solo, no desdobramento da interação entre os períodos de aplicação dentro das doses de dejetos de suínos, apenas a aplicação contínua (20 anos) da dose de 90 m³ ha⁻¹ ano⁻¹ apresentou teor de alumínio significativamente maior que o primeiro ano de aplicação de dejetos de suínos na mesma dose (Figura 4.5). No desdobramento da interação entre as doses de dejetos de suínos dentro dos períodos de aplicação, no primeiro ano de aplicação, não houve diferença nos teores de alumínio do solo entre as doses aplicadas (Figura 4.6B). Porém, nas áreas de aplicação contínua, os teores de alumínio no solo são explicados por um modelo de regressão não linear, com redução do teor de alumínio na dose 30, aumento até a dose 90 e seguida de nova redução na dose 120 m³ ha⁻¹ ano⁻¹ (Figura 6 A).

Tabela 4.3 Análise de variância dos atributos químicos: fósforo (P), carbono (C), pH, alumínio (Al), acidez potencial (H+Al), cálcio (Ca), magnésio (Mg), potássio (K), enxofre (S), capacidade de troca de cátions a pH 7 (T) e saturação por bases (V) de solos sob diferentes tempos de aplicação (20 anos consecutivos e primeiro ano) e cinco doses de dejetos de suínos (0, 30, 60, 90 e 120 m³ ha⁻¹ ano⁻¹) na safra verão para cultivo de soja na profundidade de 0-10 cm.

| F.V. | G.L. | Quadrados médios | | | | | | | | | | |
|---------------------------|------|--------------------|---------------------|--------------------|---------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| | | P | C | pH | Al | H+Al | Ca | Mg | K | S | T | V |
| Bloco | 3 | 6,58 ^{ns} | 39,06* | 0,12 ^{ns} | 0,007 ^{ns} | 2,18 ^{ns} | 1,49 ^{ns} | 0,05 ^{ns} | 0,07 ^{ns} | 1,64 ^{ns} | 1,56 ^{ns} | 78,3 ^{ns} |
| Período de Aplicação (PA) | 1 | 72,22** | 10,85 ^{ns} | 0,27 ^{ns} | 0,038** | 5,17* | 1,53 ^{ns} | 0,40** | 0,18 ^{ns} | 2,09 ^{ns} | 0,69 ^{ns} | 172,3* |
| Doses de dejetos (Dd) | 4 | 24,19* | 11,88 ^{ns} | 0,19* | 0,015* | 1,54 ^{ns} | 1,25 ^{ns} | 0,42** | 0,06 ^{ns} | 2,22 ^{ns} | 1,98 ^{ns} | 78,0 ^{ns} |
| Int. PA x Dd | 4 | 22,34* | 1,77 ^{ns} | 0,16 ^{ns} | 0,013* | 1,98 ^{ns} | 1,19 ^{ns} | 0,12 ^{ns} | 0,00 ^{ns} | 1,44 ^{ns} | 0,30 ^{ns} | 87,1 ^{ns} |
| Resíduo | 27 | 6,61 | 11,43 | 0,07 | 0,004 | 0,75 | 0,98 | 0,05 | 0,06 | 1,61 | 2,02 | 38,1 |
| CV (%) | | 35,7 ^{dt} | 16,9 | 5,5 | 6,1 ^{dt} | 13,6 | 26,0 | 13,1 | 26,3 | 19,7 | 11,1 | 12,3 |

*** p -valor<0,000; ** p -valor<0,01; * p -valor<0,05. ns= não significativo. dt= dados transformados $(x+1)^{0,5}$.

Figura 4.1 Atributos químicos do solo influenciados pelos diferentes tempos de aplicação de dejetos de suínos (Aplicações consecutivas por 20 anos e primeiro ano de aplicação). Letras iguais não se diferem pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

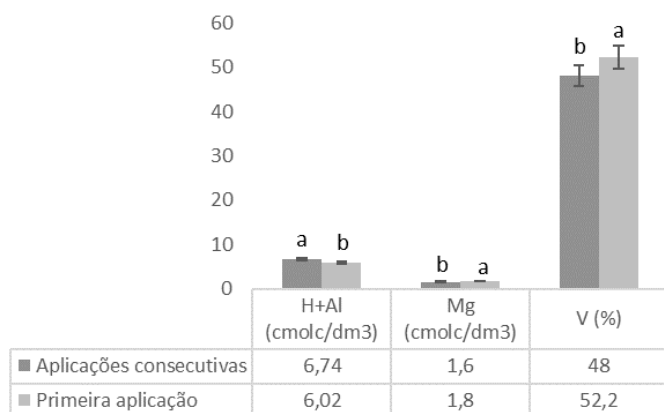


Figura 4.2 Modelo de regressão ajustadas para explicar o magnésio e pH do solo nas diferentes doses de dejetos de suínos (0, 30, 60, 90 e 120 $m^3 ha^{-1} ano^{-1}$).

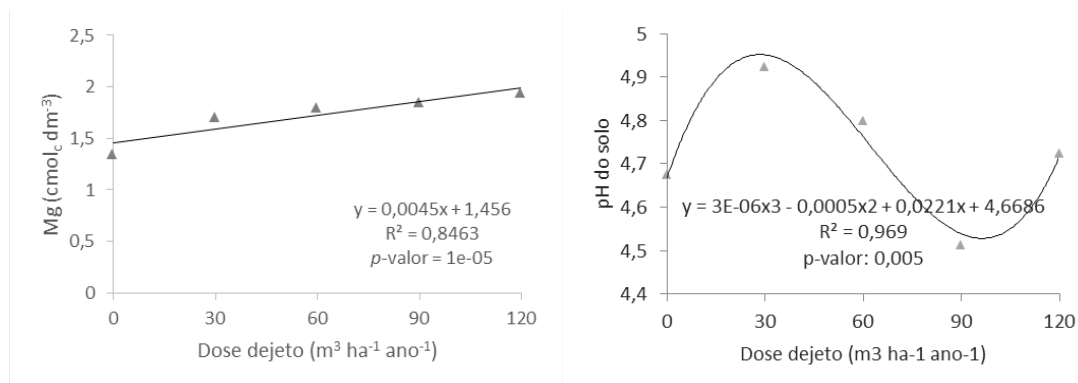


Figura 4.3 Desdobramento da interação entre os períodos de aplicação dentro das doses de dejetos de suínos, referente ao fósforo no solo na profundidade de 0-10cm. Médias com letras iguais não se diferem pelo Teste Tukey ($p \leq 0,05$). ns= não significativo.

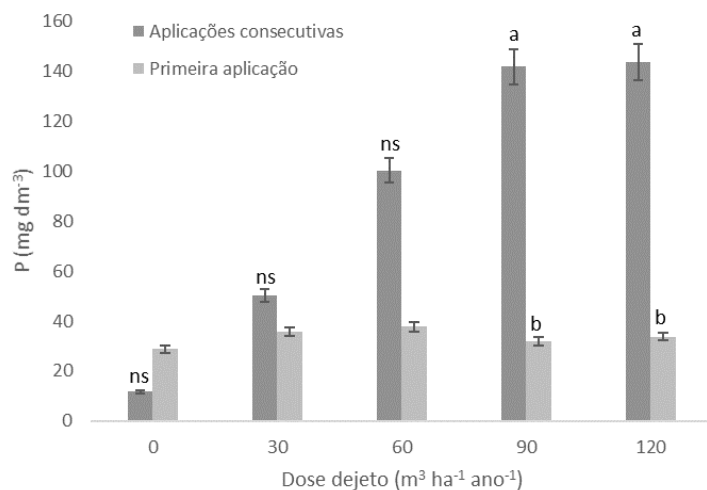


Figura 4.4 Modelo de regressão para explicar o desdobramento da interação doses de dejetos de suínos dentro dos períodos de aplicação (A: primeiro ano de aplicação; B: aplicações consecutivas por 20 anos), referente ao fósforo no solo na profundidade de 0-10 cm. ns= não significativo

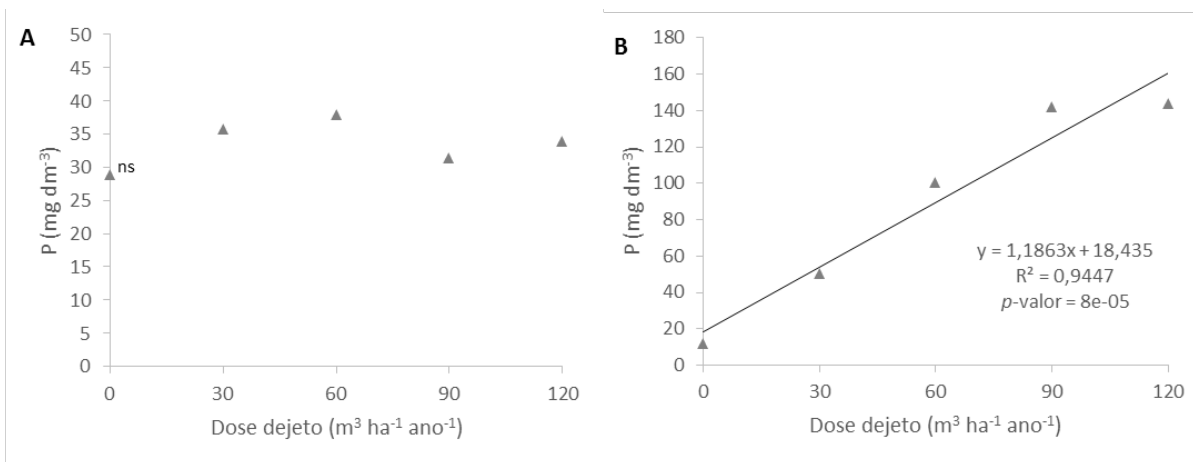


Figura 4.5 Desdobramento da interação entre períodos de aplicação dentro das doses de dejetos de suínos, referente ao alumínio no solo na profundidade de 0-10 cm. Médias com letras iguais não se diferem pelo Teste Tukey ($p \leq 0,05$). ns= não significativo.

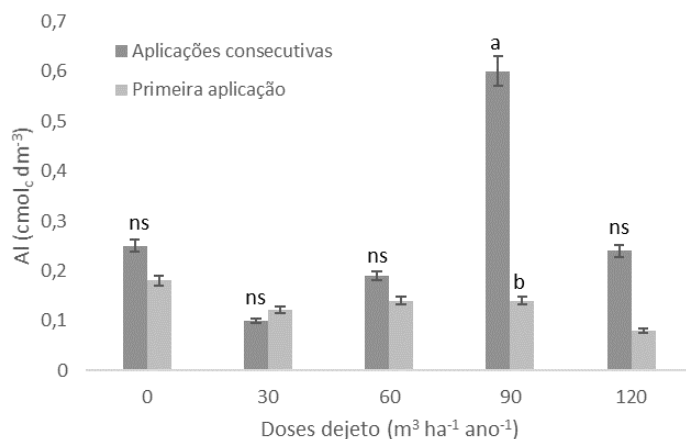
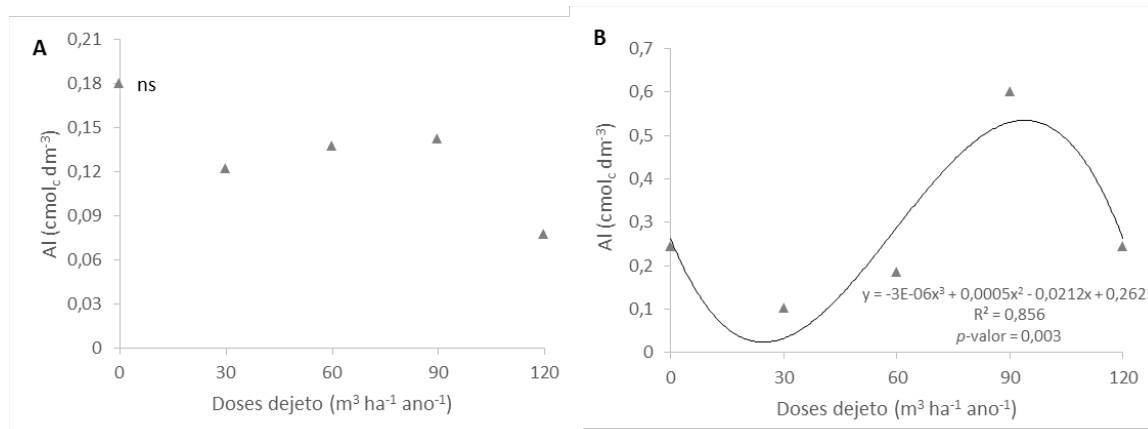


Figura 4.6 Modelo de regressão não linear para explicar o desdobramento da interação doses de dejetos de suínos dentro dos períodos de aplicação (A: aplicações consecutivas por 20 anos; B: primeiro ano de aplicação), referente ao alumínio no solo na profundidade de 0-10 cm. ns= não significativo.



Nos atributos biológicos avaliados, os diferentes tempos de aplicação de dejetos de suíno ao solo alteraram significativamente todos os atributos, com exceção do CBM. As diferentes doses de dejeito, por sua vez, não tiveram influência significativa nos atributos biológicos. A interação entre os fatores período de aplicação e dose do dejeito foi significativa apenas para a atividade da enzima fosfatase ácida (Tabela 4).

Com relação aos diferentes tempos de aplicação do dejeito, houve maior RM, $q\text{CO}_2$ e NBM nas áreas que receberam a primeira dose de dejeito (Figura 7). Todavia, a atividade enzimática das enzimas fosfatase básica e arilsulfatase

foram maiores nas áreas com aplicações consecutivas por 20 anos do dejetos.

No desdobramento da interação entre os períodos de aplicação dentro das doses de dejetos de suínos para a atividade da enzima fosfatase ácida no solo, em todas as doses de dejetos aplicadas, a atividade da enzima foi maior no primeiro ano de aplicação (Figura 4.8). Na dose 0, sem aplicação de dejetos, a atividade da enzima fosfatase ácida não se diferiu entre os períodos de aplicação de dejetos avaliados (Figura 4.8). Não houve diferença significativa no desdobramento das doses de dejetos dentro do período de aplicação.

Tabela 4.4 Análise de variância dos indicadores microbianos: Respiração microbiana (RM), Carbono da Biomassa Microbiana (CBM), quociente metabólico (qCO_2), Nitrogênio da Biomassa Microbiana (NBM), atividade das enzimas β -glucosidase, fosfatase ácida, fosfatase básica e arilsulfatase de solos com diferentes tempos de aplicação de dejetos de suínos (Aplicações consecutivas por 20 anos e primeiro ano de aplicação) e cinco doses de dejetos de suínos ($0, 30, 60, 90$ e $120 \text{ m}^3 \text{ ha}^{-1} \text{ ano}^{-1}$) na safra verão para cultivo de soja.

| F.V. | G.L. | Quadrados médios | | | | | | | |
|---------------------------|------|--------------------|---------------------|--------------------|--------------------|----------------------|--------------------|---------------------|--------------------|
| | | RM | CBM | qCO_2 | NBM | β -glucosidase | Fosfatase Ácida | Fosfatase básica | Arilsulfatase |
| Bloco | 3 | 1,66 ^{ns} | 59,6** | 1,71 ^{ns} | 2,41 ^{ns} | 3,50 ^{ns} | 1571 ^{ns} | 9,63 ^{ns} | 0,08 ^{ns} |
| Período de Aplicação (PA) | 1 | 19,17** | 0,47 ^{ns} | 47,93** | 59,61*** | 9,72 ^{ns} | 143545*** | 171,13*** | 1,06*** |
| Doses de dejetos (Dd) | 4 | 0,41 ^{ns} | 21,15 ^{ns} | 2,69 ^{ns} | 0,35 ^{ns} | 2,57 ^{ns} | 1374 ^{ns} | 16,00 ^{ns} | 0,06 ^{ns} |
| Int. PA x Dd | 4 | 0,75 ^{ns} | 19,24 ^{ns} | 3,02 ^{ns} | 1,68 ^{ns} | 8,81 ^{ns} | 9973* | 8,90 ^{ns} | 0,04 ^{ns} |
| Resíduo | 27 | 0,96 | 11,45 | 2,31 | 1,23 | 5,35 | 3652 | 7,7 | 0,07 |
| CV (%) | | 30,0 ^{dt} | 18,3 ^{dt} | 75,3 ^{dt} | 33 | 18,6 | 24,6 | 31,3 ^{dt} | 15,2 ^{dt} |

*** p -valor $<0,000$; ** p -valor $<0,01$; * p -valor $<0,05$. ns= não significativo. dt= dados transformados $(x+1)^{0,5}$.

Figura 4.7 Atributos microbianos do solo (RM: respiração microbiana; qCO_2 : quociente metabólico; NBM: nitrogênio da biomassa microbiana; atividade das enzimas fosfatase básica e arilsulfatase) com diferença significativa nos diferentes períodos de aplicação de dejetos de suínos (Aplicações consecutivas por 20 anos e primeiro ano de aplicação). Letras iguais não se diferem pelo teste de Tukey.

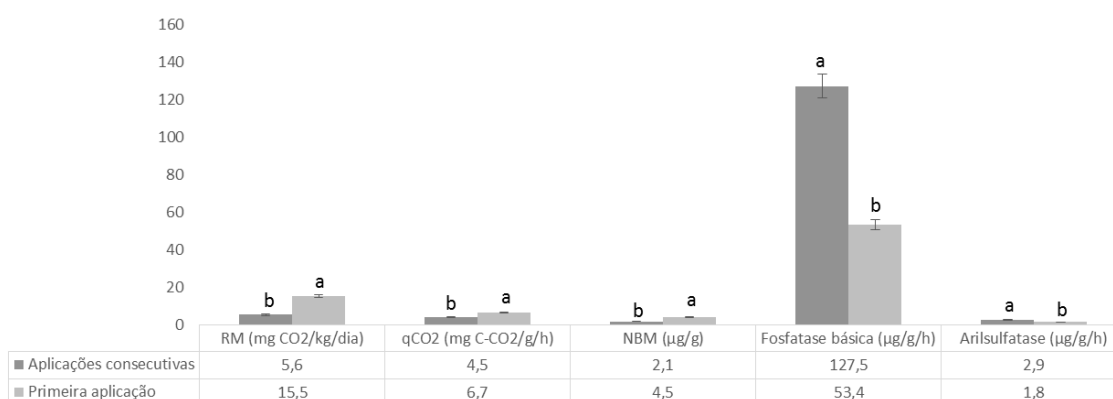
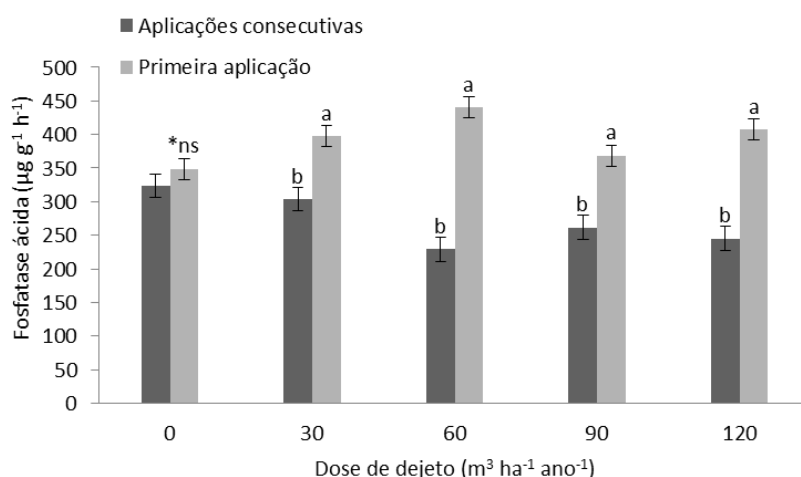


Figura 4.8 Desdobramento da interação entre os períodos de aplicação dentro das doses de dejetos de suínos, referente à atividade da enzima fosfatase ácida no solo

na profundidade de 0-10cm. Médias com letras iguais não se diferem pelo Teste Tukey ($p < 0,05$). ns= não significativo.

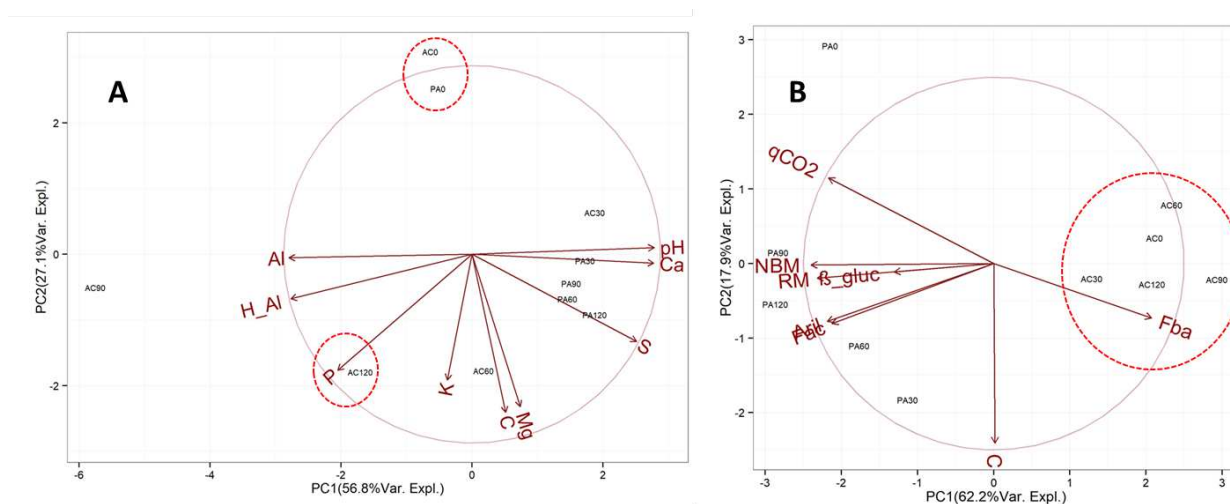


Na análise de componentes principais (PCA) com base nos atributos químicos, é possível observar uma separação dos tratamentos AC0 e PA0 na parte superior do diagrama de ordenação, correspondentes à dose zero nos dois períodos de aplicação de dejetos avaliados (Figura 4.9A), consequência dos menores teores de nutrientes encontrados nessas amostras (Tabela 4.1). Os tratamentos com primeiro ano de aplicação (PA) e doses de dejetos (30, 60, 90 e 120) apresentaram similaridade nos atributos químicos avaliados. As amostras se agruparam à direita do diagrama de ordenação e estão diretamente relacionadas ao pH e teores Ca e soma de bases (S) do solo. Os tratamentos com aplicações consecutivas (AC) não se agruparam. O tratamento AC30, com a menor dose de dejetos de 30 m³ ha⁻¹ ano⁻¹, posicionou-se mais proximamente dos tratamentos com primeiro ano de aplicação. O tratamento AC60 relacionou-se com o aumento de cátions no solo (Ca²⁺, Mg²⁺ e K⁺, e das soma de bases). O tratamento A90 posicionou-se longe de todos os demais tratamentos à esquerda do diagrama de ordenação. Por fim, o tratamento AC120 apresentou alta relação com os teores de P no solo.

Com base nos atributos biológicos, pode-se observar na PCA um agrupamento dos tratamentos de aplicação contínua (AC) e doses de dejetos (0, 30, 60, 90 e 120) à direita do diagrama de ordenação, diretamente relacionados à atividade da enzima fosfatase básica. Com exceção da dose 0, sem aplicação de dejetos, os tratamentos com primeiro ano de aplicação (PA) e doses de dejetos (30, 60, 90 e 120) se agruparam à esquerda do diagrama de ordenação relacionados aos

demais atributos biológicos avaliados, exceto o CBM.

Figura 4.9 Análise de componentes principais das áreas com diferentes tempos de aplicação de dejetos de suínos (Aplicações consecutivas por 20 anos-AC e primeiro ano de aplicação-PA) e diferentes doses de dejetos de suínos (0, 30, 60, 90 e 120 m³ ha⁻¹ ano⁻¹) com base nos atributos químicos (A) e microbiológicos (B).



No sequenciamento do DNA total das amostras, foram obtidas 4.268.824 sequências com um tamanho médio de 300 pb, e uma média de 133.400 sequências por amostra. Para o estabelecimento de uma referência da estrutura da comunidade do solo da localidade do experimento, o sequenciamento incluiu uma área de mata não perturbada. A classificação taxonômica (Figura 4.10) afiliou às sequências a 33 filós, sendo 3 filós pertencentes ao domínio Archaea, 25 ao domínio Bacteria e 7 ao domínio Eukarya. Nas amostras de solo, houve predominância de sequências não classificadas (38,4%), seguidas pelos filós *Proteobacteria* (13,2%), *Acidobacteria* (11,3%) e *Actinobacteria* (9,9%). Nas amostras de dejetos, a predominância foi dos filós *Firmicutes* (87,2%) e *Actinobacteria* (6,7%). A análise de PCA, com base nas frequências de filós encontrados nas amostras, mostrou uma clara distinção no perfil de distribuição das frequências da comunidade microbiana do dejetos com as amostras de solo ($p < 0,05$). Não houve separação das amostras de solo, independente do período ou da dose de dejetos aplicados ao solo (Figura 4.11).

A análise de PCA baseada no desdobramento das doses dentro de cada período de aplicação revelou não haver uma distinção significativa na estrutura da comunidade microbiana com as diferentes doses de dejetos aplicadas (Figura

4.12), o que mostra que as diferenças na composição da comunidade microbiana estão relacionadas ao período de aplicação do dejetos.

Quando comparados os perfis taxonômicos entre os grupos de amostras com base no período de aplicação pelo Welch's t-test ($p < 0,05$), observa-se que nas áreas de aplicações consecutivas por 20 anos, há um aumento significativo dos filos *Firmicutes* e *Actinobacteria* no solo, sendo esses filos predominantes nas amostras de dejetos aplicado ao solo (Figura 4.13). No desdobramento dos períodos de aplicação dentro das doses de dejetos, foi possível observar que na dose $30 \text{ m}^3 \text{ ha}^{-1} \text{ ano}^{-1}$, no primeiro ano de aplicação ocorre uma frequência maior dos filos *Tenericutes* e *Nitrospirae* quando comparado com a estrutura da comunidade microbiana das amostras com aplicações consecutivas por 20 anos na mesma dose. Na dose $60 \text{ m}^3 \text{ ha}^{-1} \text{ ano}^{-1}$, no primeiro ano de aplicação, a maior frequência é observada dos filos *Nitrospirae* e *Verrucomicrobia*; na dose $90 \text{ m}^3 \text{ ha}^{-1} \text{ ano}^{-1}$, no primeiro ano de aplicação, a maior frequência dos filos *Verrucomicrobia*, *Streptophyta*, *Nitrospirae* e *Bacteroidetes*. Na maior dose ($120 \text{ m}^3 \text{ ha}^{-1} \text{ ano}^{-1}$), apenas o filo *Bacteroidetes* apresenta maior frequência nas amostras com primeiro ano de aplicação que nas amostras com aplicações consecutivas por 20 anos do dejetos.

Figura 4.10 Frequência dos diferentes filos microbianos de áreas com diferentes tempos de aplicação de dejetos de suínos (Aplicações consecutivas por 20 anos-AC e primeiro ano de aplicação-PA) e diferentes doses de dejetos de suínos (30, 60, 90 e 120 m³ ha⁻¹ ano⁻¹), área sem aplicação-D0, amostra do dejetos de suíno e de uma mata sem perturbações como referência.

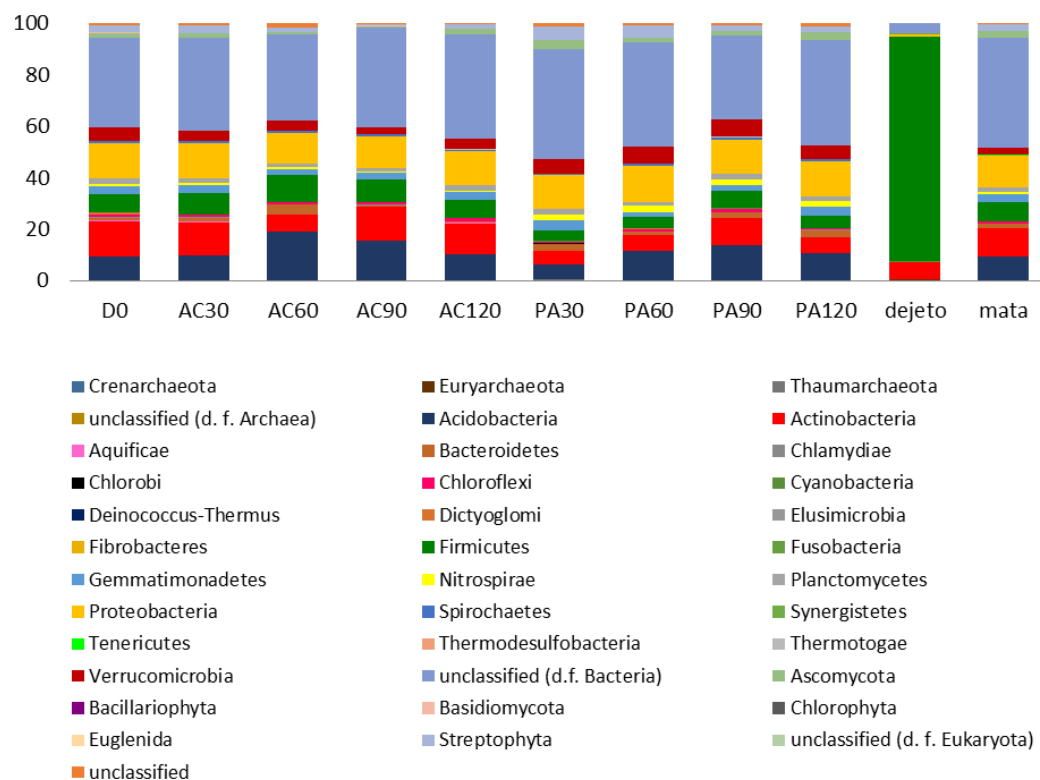


Figura 4.11 Análise de componentes principais (PCA) pelo Tukey-Kramer ($p < 0,05$) com base na frequência de filos encontradas nas amostras de solo e do dejetos de suíno.

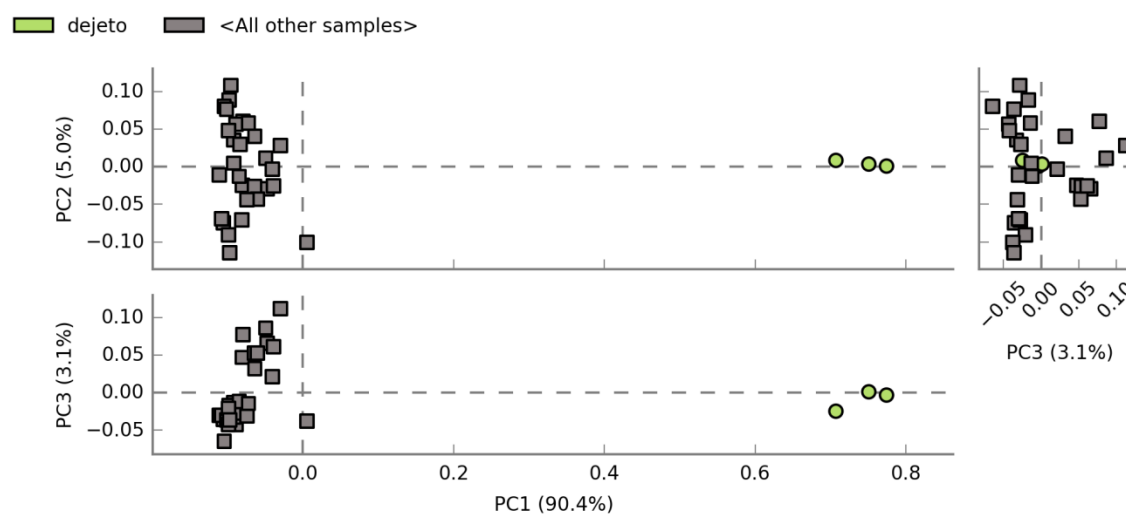
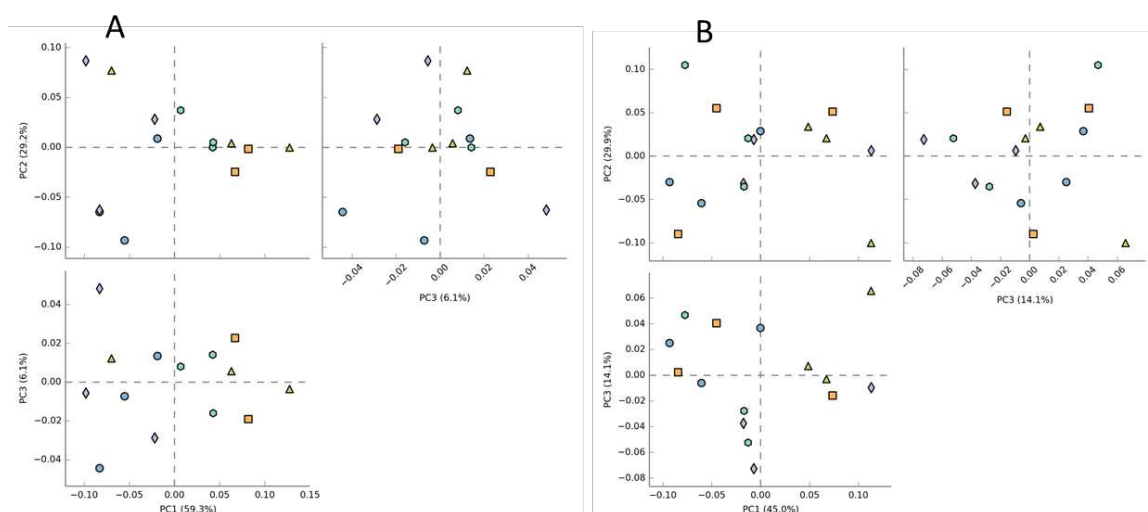


Figura 4.12 PCA baseada no desdobramento de doses de dejetos dentro dos diferentes tempos de aplicação de dejetos (A: primeira aplicação, B: aplicações

contínuas por 20 anos), com a frequência de filios observados nas amostras pelo método Tukey-Kramer ($p \leq 0,05$).



Legenda: círculos azuis: dose 0; quadrados laranja: dose 30; triângulos verde: dose 60; losango roxo: dose 90 e pentágono turquesa: dose 120 m³ ha⁻¹ ano⁻¹.

Figura 4.13 Comparação do perfil taxonômico entre os diferentes tempos de aplicação de dejetos, PA (primeira aplicação) e AC (aplicações contínuas por 20 anos), baseado na frequência de filios observados nas amostras. p -valores foram corrigidos pelo método de Benjamini-Hochberg.

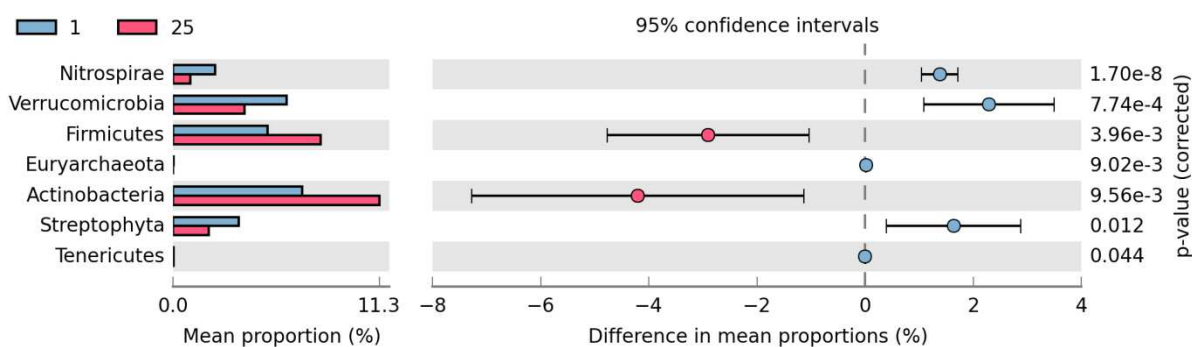
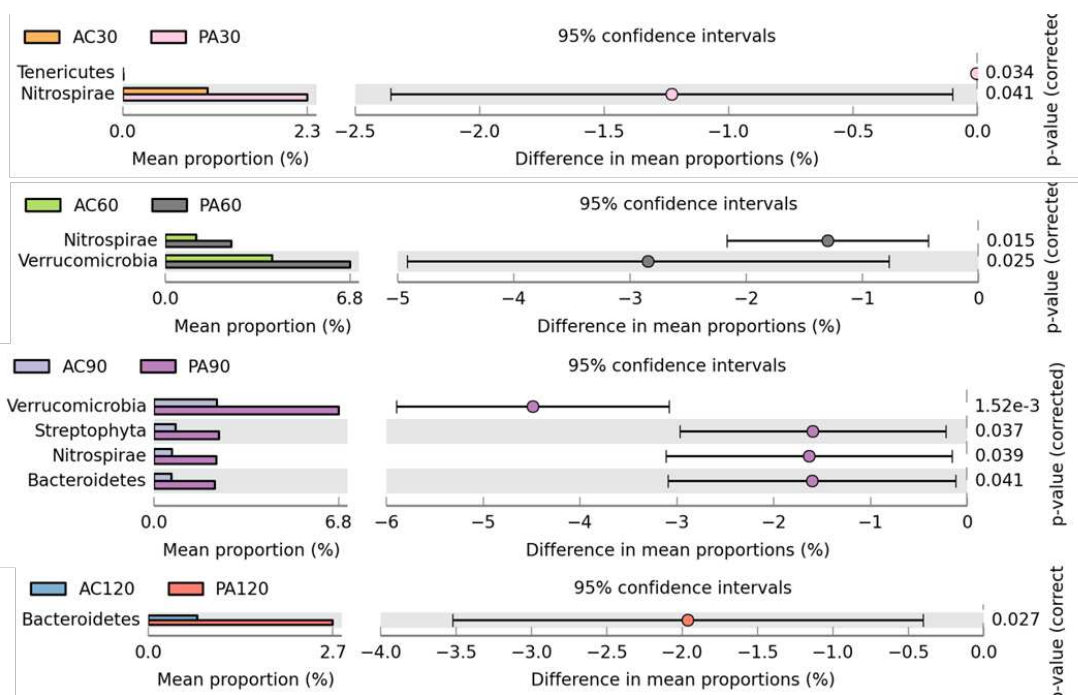


Figura 4.14 Comparação do perfil taxonômico no desdobramento dos diferentes tempos de aplicação de dejetos, PA (primeira aplicação) e AC (aplicações contínuas por 20 anos) dentro das doses de dejetos, baseado na frequência de filios observados nas amostras. p -valores foram corrigidos pelo método de Benjamini-Hochberg.



4.5.2 Discussão

Os resultados obtidos neste estudo indicam que diferentes doses de dejetos de suínos aplicadas por diferentes períodos de tempo, modificam os atributos químicos e biológicos do solo. Embora vários estudos tenham mostrado efeitos positivos e negativos nos atributos químicos do solo (Sarto et al., 2019; Tavares et al., 2019; Lorenzi et al., 2013; Bergström; Kirchmann, 2006), poucos têm examinado em conjunto os atributos biológicos (Navroski et al., 2018; Balota et al., 2014) e raros são os que caracterizam mudanças na estrutura da comunidade microbiana em resposta à adição de dejetos.

Em curto prazo, aplicações de dejetos de suínos no solo podem melhorar os atributos químicos, pois aumentam a concentração de nutrientes e melhoram a fertilidade do solo (Xun et al., 2016). Neste estudo, no primeiro ano de aplicação das doses 30, 60 90 e 120 m³ ha⁻¹ ano⁻¹, todos os tratamentos disponibilizaram níveis considerados muito altos de fósforo e potássio, níveis altos de carbono, cálcio e magnésio, valores médios de pH e soma de bases (S) e alumínio de médio a alto de acordo com os níveis críticos estabelecidos para o estado do Paraná (Moreira et al., 2017). Os teores dos diferentes nutrientes avaliados foram considerados suficientes para suprir a demanda das culturas de soja

e milho cultivadas no verão na área experimental.

Todavia, sabe-se que aplicações contínuas de dejetos por longos períodos podem ocasionar desequilíbrios de nutrientes no solo (Diesel, 2002). Com os resultados obtidos, pode-se observar que aplicações contínuas por 20 anos afetaram principalmente os teores de fósforo no solo.

No período avaliado, o aumento das doses de dejetos proporcionaram aumentos lineares nos teores de fósforo do solo e as doses 90 e 120 m³ ha⁻¹ ano⁻¹ elevaram o fósforo do solo a teores considerados excessivos, podendo causar contaminação ambiental e desequilíbrios nutricionais (Moreira et al., 2017). O aumento do fósforo no solo com aplicações contínuas de dejetos é uma preocupação que já foi reportada em outros estudos. Guardini et al. (2012) observaram que aplicações de dejetos de suínos no solo ao longo de oito anos aumentou a quantidade de P da solução do solo da camada superficial, indicando riscos de contaminação ambiental das águas superficial e subterrânea. Ao adicionar doses de dejetos de suínos com quantidades de fósforo superiores ao exportado pelas culturas, Berwanger, Ceretta e Santos (2008) consideram que as aplicações contínuas tendem a atingir níveis ambientais críticos de P levando à contaminações dos ecossistemas agrícolas e do ambiente geral.

Embora o maior enfoque dos estudos acerca da aplicação de dejetos de suínos no solo seja no comportamento do fósforo, os resultados obtidos indicaram alterações em outros atributos químicos avaliados. O aumento das doses de dejetos aumentou os teores de Mg²⁺ no solo. Nas áreas com primeiro ano de aplicação o solo apresentou maior concentração de Mg²⁺ que as áreas com aplicação contínua por 20 anos de dejetos, que por sua vez apresentou maior acidez potencial (H+Al) do solo. Esses resultados sugerem que as aplicações contínuas de dejetos por longos períodos propiciam a ocupação de cargas do solo com H⁺ e Al³⁺, o que consequentemente reduz os teores de Mg²⁺ (Malavolta, 1984), como observado (Figura 4.1). Entretanto, outros estudos evidenciaram que a aplicação contínua de dejetos de suínos no solo pouco altera ou até mesmo reduz a acidez potencial do solo (Lourenzi et al., 2016; Brunetto et al., 2012).

De maneira geral, todas as doses de dejetos de suínos aplicadas no primeiro ano melhoraram os atributos químicos do solo para o cultivo agrícola. A quantidade de nutrientes mineralizada do dejetos após a primeira aplicação não atingiu valores excessivos mas conseguiu atender os níveis críticos

das culturas anuais independente da dose utilizada neste estudo. Contudo, nas aplicações anuais contínuas por longos períodos de tempo, ocorre no solo o acúmulo de compostos mais recalcitrantes contido nos dejetos. Esses compostos acabam por formar um estoque de reserva de matéria orgânica que, após algum tempo, voltam a ser decompostos e a mineralização dos nutrientes também volta a ocorrer (Aita et al., 2006). Assim, deve-se adequar a dose a ser utilizada por longos períodos para evitar que ocorra toxidez às plantas e que haja contaminação e poluição do ambiente.

A respeito dos atributos biológicos avaliados, o primeiro ano de aplicação de dejetos apresentou valores mais altos na respiração microbiana (RM) e quociente metabólico (qCO_2). Todavia, os valores de carbono da biomassa microbiana (CBM) não aumentaram. O CBM, a RM e o qCO_2 estão relacionados à atividade microbiana do solo relacionada a degradação do C orgânico. Os maiores valores de RM e qCO_2 no primeiro ano de aplicação, podem estar relacionados ao estresse na comunidade microbiana do solo, em razão dos distúrbios causados pela aplicação dos dejetos suínos.

Perturbações no solo causadas pela entrada de compostos orgânicos em altas quantidades podem diminuir a eficiência da comunidade microbiana em incorporar C na biomassa, aumentando a emissão de CO_2 (Cunha et al., 2011; Nascimento et al., 2009). Em um solo equilibrado, estudos ecológicos mostram que a resposta a uma perturbação depende da intensidade e duração dessa perturbação. Em perturbações de duração e intensidade pequenas, como a primeira aplicação de dejetos de suínos, ocorrem alterações no funcionamento da comunidade microbiana, mas ao cessar a perturbação a comunidade microbiana rapidamente retorna às suas condições iniciais (Tótola; Chaer, 2002), devido sua alta resiliência. Todavia, como ocorreu neste estudo, os menores valores de RM e qCO_2 observados nas áreas com aplicações contínuas por 20 anos de dejetos suínos, observa-se que os estresses de longa duração conduz a comunidade microbiana à uma reestruturação, ocorrendo novo equilíbrio dinâmico entre os componentes do ecossistema (van Bruggen; Semenov, 2000).

A reestruturação da comunidade microbiana também pode ser observada pela redundância metabólica dos grupos relacionados à degradação do fósforo orgânico. Na primeira aplicação dos dejetos de suínos, foi observada maior atividade da enzima fosfatase ácida. Já nas aplicações contínuas por 20 anos,

ocorreu maior atividade da enzima fosfatase básica. As fosfatases são enzimas que hidrolisam fósforo orgânico e disponibilizam fosfato no solo (Tabatabai, 1994). Embora tenham a mesma função no solo, são produzidas por organismos diferentes e em condições ambientais distintas. A fosfatase ácida tem um pH ótimo entre 4,0 e 6,5 e são produzidas por bactérias, fungos e plantas, já a fosfatase básica tem um pH ótimo acima de 9 e são produzidas apenas por bactérias (Melo et al., 2010). Essa redundância funcional encontrada na comunidade microbiana do solo garante a alta estabilidade do ecossistema, com a continuidade da mineralização do fósforo mesmo após ter sido exposto a um distúrbio com possíveis perdas de grupos taxonômicos. Sendo assim, quanto maior a redundância funcional de um determinado solo, maior sua resiliência, e maior sua capacidade de funcionamento (Tótola; Chaer, 2002).

A composição da comunidade microbiana do solo encontrada neste estudo, com maior frequência de ocorrência dos filos *Proteobacteria*, *Acidobacteria* e *Actinobacteria*, é comum ocorrer em outros estudos de solos de diferentes ecossistemas (Yi et al., 2019; Fernandes et al., 2018; Wei et al., 2018). Ainda, o grande número de bactérias não classificadas encontradas no solo avaliado, revela que o solo é, ainda, um ambiente desconhecido em termos de taxonomia microbiana. Nos dejetos de suínos, a dominância do filo *Firmicutes* também foi reportada por Kumari et al. (2015). Embora o solo apresente uma composição da comunidade microbiana muito distinta da composição encontrada nos dejetos, nas áreas que receberam aplicações contínuas por 20 anos ocorreu uma interferência do dejetos na composição microbiana do solo. Nessas áreas foi observado um aumento significativo dos filos *Firmicutes* e *Actinobacteria*, que são predominantes na constituição da comunidade microbiana dos dejetos e demonstra uma reestruturação do solo após estresse de longa duração. Assim, a resposta a um distúrbio causado por aplicações contínuas de dejetos, pode desencadear uma sucessão de grupos microbianos no solo e levar à uma nova estrutura da comunidade microbiana do solo.

Nas áreas que receberam a primeira aplicação de dejetos suínos nas doses de 30 a 90 m³ ha⁻¹ ano⁻¹, ocorreu maior predominância do filo *Nitrospirae*, quando comparados a áreas de aplicações contínuas por 20 anos. Esse filo está relacionado às transformações do nitrogênio no solo, mais especificamente no processo de nitrificação (Daims et al., 2015), podendo estar associado ao aumento

do NBM também encontrado nas áreas com primeira aplicação dos dejetos (Figura 4.7).

Foi possível observar que a comunidade microbiana do solo, com base nos indicadores de biomassa, atividade microbiana, atividade enzimática e composição taxonômica tende a se reestruturar após aplicações contínuas por 20 anos de dejetos. Essa observação está de acordo com Beare et al., 1995, que afirmam que havendo grupos taxonômicos que desempenham o mesmo papel, um ecossistema consegue manter-se funcional, mesmo que parte da comunidade microbiana inicial seja perdida a partir da modificação da disponibilidade química no ecossistema. Dessa forma, o resultado observado pode ser explicado pelo princípio ecológico da homeostase estequiométrica do solo, caracterizada na ecologia como a capacidade dos organismos de manterem a funcionalidade de um ecossistema mesmo com variação no suprimento de recursos (Sturner; Elser, 2002).

Diante dessa situação e com base nos atributos químicos e biológicos do solo, preconiza-se que as alterações causadas pela aplicação de dejetos de suínos devam ser monitoradas para manter uma boa funcionalidade do ecossistema e permitir a continuidade de cultivos agrícolas. Para adequação da dose agrícola e o tempo de aplicação deve-se levar em consideração as alterações causadas na qualidade do solo avaliada pelo monitoramento dos atributos químicos e biológicos do solo.

Todavia, atrelado a isso, tem-se o crescimento anual da produção de suínos no Brasil. Considerando uma produção média de dejetos por animal de 8,6 L dia⁻¹, e uma média de tempo de abate de 180 dias, cada animal durante o ciclo de vida pode produzir 1,5 mil L de dejetos (Dartora et al., 1998). Uma granja com 1000 animais produziria em torno de 1,5 milhões L de dejetos, o que gera a cada 180 dias 1500 m³ de dejetos suínos a serem utilizados.

Essas estimativas evidenciam a necessidade de se definir com precisão a dose de dejetos de suínos a ser usado na agricultura para suprir a demanda de nutrientes pelas plantas, e evitar problemas ambientais futuros com destinação incorreta destes dejetos.

4.6 CONCLUSÕES

A aplicação do dejetos de suínos traz consigo uma comunidade microbiana específica, diferente da existente no solo, predominando os filos Firmicutes e Acidobacteria.

A primeira aplicação do dejetos causa um alto estresse metabólico na comunidade, com perdas de carbono do sistema, porém não altera a composição dos grupos taxonômicos presentes no solo.

Aplicações contínuas por longos períodos (por 20 anos realizadas neste estudo) levam a comunidade microbiana a uma homeostase estequiométrica, alterando alguns grupos taxonômicos, aumentando a frequência dos filos provenientes do dejetos, porém mantendo sua funcionalidade.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O aumento da produção de carne suína no Brasil e no mundo corresponde também ao aumento da geração de dejetos que, embora usado na agricultura como fertilizante orgânico, ainda apresenta gargalos a serem elucidados. A falta de diretrizes como doses e tempo de utilização de dejetos de suínos na agricultura, pode acarretar em excessos nutricionais e contaminações ambientais.

Os estudos que buscam entender os efeitos da aplicação dos dejetos de suínos no solo têm usado atributos químicos e biológicos como indicadores da qualidade desses solos. Os resultados obtidos neste estudo e em outros estudos abordados evidenciam que os atributos químicos e biológicos do solo refletem as alterações causadas pelos diferentes manejos e respondem de forma dinâmica e interligada ao uso de dejetos.

O presente estudo indica que a aplicação de doses crescentes de dejetos de suínos como adubo proporcionou aumento nos teores de nutrientes no solo, em particular o fósforo, e incrementou a biomassa e atividade microbiana e a produtividade da soja. Todavia, essas aplicações de dejetos realizadas por longos períodos (por 20 anos realizadas neste estudo) e com doses mais altas (igual ou acima de $90 \text{ m}^3 \text{ ha}^{-1} \text{ ano}^{-1}$), elevam o fósforo a níveis considerados excessivos, o que pode levar à contaminação ambiental. Ainda, os resultados desse estudo indicam que nas aplicações continuadas por longos períodos, doses de $30 \text{ m}^3 \text{ ha}^{-1} \text{ ano}^{-1}$ fornecem quantidade de nutrientes suficientes para atender a demanda da cultura da soja, embora haja aumento de produtividade em função do aumento doses de dejetos aplicadas.

Sistemas de preparo do solo também interferem nos atributos químicos e biológicos do solo, quando há aplicações de dejetos de suínos. A adoção do sistema plantio direto favorece aumento nos teores de nutrientes do solo para o estabelecimento das culturas agrícolas e proporciona um ambiente favorável para a biomassa e atividade microbiana. A produtividade da soja, por sua vez, embora responda ao aumento das doses de dejetos de suínos, não foi alterada com os diferentes preparos do solo.

Embora os bioindicadores da qualidade do solo sejam avaliados em diversos estudos, ainda não se tem classes de interpretação para os valores que são obtidos. Os primeiros estudos de interpretação de bioindicadores são do Cerrado

brasileiro, e são analisados através da correlação com a produtividade da cultura instalada no campo. Neste estudo, a atividade da enzima arilsulfatase apresentou-se diretamente proporcional ao aumento da produção de grãos, sendo possível levantar possíveis valores críticos para interpretação deste bioindicador. Embora esses resultados sejam estudos pioneiros, e que precisam de maiores comprovações e sistematizações de análise para o estabelecimento de critérios de aferição e níveis críticos, os resultados podem auxiliar pesquisas futuras a estabelecer limites a serem atingidos para uma boa qualidade do solo e boa produtividade.

Além das alterações na biomassa e na atividade microbiana observadas, a composição taxonômica da comunidade microbiana do solo reflete alterações causadas no solo em função das doses e do tempo de aplicação dos dejetos de suínos. A aplicação do dejetos de suínos traz consigo uma comunidade microbiana específica, diferente da existente no solo, predominando os filos *Firmicutes* e *Acidobacteria*. A primeira aplicação do dejetos causa um alto estresse metabólico na comunidade, com perdas de carbono do sistema, porém não altera a composição dos grupos taxonômicos presentes no solo. Contudo, aplicações contínuas por longos períodos (por 20 anos realizadas neste estudo) levam a comunidade microbiana a uma homeostase estequiométrica, alterando alguns grupos taxonômicos, aumentando a frequência dos filos provenientes do dejetos, porém mantendo sua funcionalidade.

6 REFERÊNCIAS

ABUBAKER, J.; RISBERG, K.; JÖNSSON E.; DAHLIN, A.S.; CEDERLUND, H.; PELL, M. Short-term effects of biogas digestates and pig slurry application on soil microbial activity. **Applied and Environmental Soil Science**, Nova York, Article ID 658542, 15 p. 2015.

ADELI, A.; BOLSTER, C.H.; ROWE, D.E.; MCLAUGHLIN, M.R.; BRINK, G.E. Effect of long-term swine effluent application on selected soil properties. **Soil Science**, Nova Jersey, v.173, p.223-235, 2008.

ADESANYA, T.; AKINREMI, O.; ZVOMUYA, F. Physical properties of an Orthic Black Chernozem after 5 years of liquid and solid pig manure application to annual and perennial crops. **Canadian Journal of Soil Science**, Ottawa, v. 96, n.2. p. 145-153, 2016.

AITA, C.; PORT, O.; GIACOMINI, S. J. Dinâmica do nitrogênio no solo e produção de fitomassa por plantas de cobertura no outono/inverno com o uso de dejetos de suínos. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 30, n. 5, p. 901-910, 2006.

AITA, C.; GONZATTO, R.; MIOLA, E.C.C.; SANTOS, D.B.; ROCHETTE, P.; ANGERS, D.A.; CHANTIGNY, M.H.; PUJOL, S.B.; GIACOMINI, D.A.; GIACOMINI, S.J. Injection of DCD-treated pig slurry reduced NH₃ volatilization without enhancing soil N₂O emissions from no-till corn insouthern Brazil. **Journal of Environmental Quality**, Madison, v. 43, p. 789 –800, 2014.

AJWA, H. A.; DELL, C.J.; RICE, C.W.; Changes in enzyme activities and microbial biomass of tallgrass prairie soil as related to burning and nitrogen fertilization. **Soil Biology and Biochemistry**, Amsterdam, v. 31, p.769 – 777, 1999.

ALLISON, S. D.; MARTINY, J. B. H.: Resistance, resilience, and redundancy in microbial communities, **PNAS- Proceedings of the National Academy of Sciences:USA**, Washington, v. 105, p.11512–11519, 2008.

ALVAREZ, C.R.; ALVAREZ, R.; GRIGERA, M.S. & LAVADO, R.S. Associations between organic matter fractions and the active soil microbial biomass. **Soil Biology and Biochemistry**, Amsterdam, v. 30, p.767-773, 1997.

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

ANGHINONI, I. Fertilidade do solo e seu manejo em sistema plantio direto. In: NOVAIS, R. F.; ALVAREZ V, V. H.; BARROS, N. F.; FONTES, R. L. F.; CANTARUTTI, R. B.; NEVES, J. C. L. **Fertilidade do solo**. Viçosa: SBCS, 2007. pp. 873-928.

ANTONELI, V.; MOSELE, A.C.; BEDNARZ, J. A.; PULIDO-FERNÁNDEZ, M.; LOZANO-PARRA, J.; KEESSTRA, S. D.; RODRIGO-COMINO, J. Effects of applying

liquid swine manure on soil quality and yield production in tropical soybean crops (Paraná, Brazil). **Sustainability**, Basel (Switzerland), v. 11, n. 14, artigo 3898, 2019.

ARAÚJO, E. A.; KER, J. C.; NEVES, J. C. L.; LANI, J.L. Qualidade do solo: Conceitos, indicadores e avaliações. **Revista Brasileira de tecnologia Aplicada nas Ciências Agrárias**, Guarapuava, v.5, n.1, p.187-206, 2012.

ATLAS, R.M.; BARTHA, R. **Microbial ecology: fundamentals and applications**. 4ª edição. Menlo Park: Addison Wesley Longman - The Benjamin/Cumming Publ., 1997. 694 p.

AZIZ, R.K.; DEVOID, S.; DISZ, T.; EDWARDS, R.A.; HENRY, C.S.; OLSEN, G.J.; OLSON, R.; OVERBEEK, R.; PARELLO, B.; PUSCH, G.D.; STEVENS, R.L.; VONSTEIN, V.; XIA, F. SEED Servers: High-Performance Access to the SEED Genomes, Annotations, and Metabolic Models. **PLoS ONE**, São Francisco, v.7, n.10. 2012.

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

BALOTA, E.L.; MACHINESKI, O.; HONDA, C.; YADA, I.F.U.; BARBOSA, G.M.C.; NAKATANI, A.S.; COYNE, M.S. Response of arbuscular mycorrhizal fungi in different soil tillage systems to long-term swine slurry application. **Land Degradation and Development**, Londres, v. 27, n. 4, p.1141-1150, 2014.

BARCELLOS, L. A. R. **Avaliação do potencial fertilizante do esterco líquido de bovinos**. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 1992. 108 p.

BARNABÉ, M.C.; ROSA, B.; LOPES, E.L.; ROCHA, G.P.; FREITAS, K.R.; PINHEIRO, E.P. Produção e composição químico-bromatológica da *Brachiaria brizantha* cv. Marandu adubada com dejetos líquidos de suínos. **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia, v.8, n.3, p.435-446, 2007.

BARRETO, R.C.; MADARI, B.E.; MADDOCK, J.E.L.; MACHADO, P.L.O.A.; TORRES, E.; FRANCHINI, J.; COSTA, A.R. The impact of soil management on aggregation, carbon stabilization and carbon loss as CO₂ in the surface layer of a Rhodic Ferralsol in Southern Brazil. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, Amsterdam, v.132, p.243-251, 2009.

BENEDET, L.; DE CONTI, L.; LAZZARI, C.J.R.; MÜLLER JÚNIOR, V.; DICK, D.P.; LOURENZI, C.R.; LOVATO, P.E.; COMIN, J.J.; TIECHER, T.L.; RICACHENEVSKY, F.K.; BRUNETTO, G. Copper and Zinc in Rhizosphere Soil and Toxicity Potential in White Oats (*Avena sativa*) Grown in Soil with Long-Term Pig Manure Application. **Water Air Soil Pollut**, Guelph, v. 230, artigo 209, 2019.

BERGSTRÖM, L.; KIRCHMANN, H. Leaching and crop uptake of nitrogen and phosphorus from pig slurry as affected by different application rates. **Journal of Environmental Quality**, Madison, v.35, p.1803-1811, 2006.

BERTONCINI, E.I. Tratamento, uso e impacto de resíduos urbanos e agroindustriais

na agricultura. **Pesquisa & Tecnologia**, v. 11, n. 1, 2014.

BERWANGER, A.L.; CERETTA, C.A.; SANTOS, D.R. Alterações no teor de fósforo no solo com aplicação de dejetos líquidos de suínos. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 32, n. 6, p. 2525-2532, 2008.

BOLLER, W.; KLEIN, V. A.; DALLMEYER, A. U. Semeadura de milho em solo sob preparo reduzido. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v.22, n.1, p. 123-130, 1998.

BONTEN, L.T.C.; ZWART, K.B.; RIETRA, R.P.J.J.; POSTMA, R.; DE HAAS, M.J.G. **Bio-slurry as fertilizer; Is bio-slurry from household digesters a better fertilizer than manure? A literature review**. 1ª edição, Wageningen: Alterra report, 2014. pp. 2519-2546.

BOUYOUCOS, G.J. Directions for Making Mechanical Analysis of Soils by the Hydrometer. **Methodology in Soil Science**, Lismore, v. 4, p. 225 – 228, 1936.

BRANDJES, P.J.; WIT, J.; VAN DER MEER, G.H.; VAN KEULEN, H. **Environmental Impact of Animal Manure Management**. Wageningen: FAO Corporate Document Repository, International Agriculture Centre, 1996.

Brasil. Lei nº 12.305, de 2 de agosto de 2010. **Política Nacional de Resíduos Sólidos**.

BRONICK, C.J.; LAL, R. Soil structure and management: A review. **Geoderma**, Amsterdam, v.124, p.3-22, 2005.

BRUNETTO, G.; COMIN, J.J.; SCHMITT, D.E.; GUARDINI, R.; MEZZARI, C.P.; OLIVEIRA, B.S.; MORAES, M.P.; GATIBONI, L.C.; LOVATO, P.E.; CERETTA, C.A. Changes in soil acidity and organic carbon in a sandy Typic Hapludalf after medium-term pig slurry and deep-litter application. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v.36, p.1620-1628, 2012.

BULGARELLI, D.; SCHLAEPPI, K.; SPAEPEN, S.; VAN THEMAAT, E. V. L.; SCHULZE-LEFERT, P. Structure and functions of the bacterial microbiota of plants. **Annual Review of Plant Biology**, California, v. 64, p. 807-838, 2013.

BULLOCK, M. S.; NELSON, S. D.; KEMPER, W. D. Soil cohesion as affected by freezing, water content, time and tillage. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 52, n. 3, p. 770, 1988.

BÜNEMANN, E.K.; BONGIORNO, G.; BAI, Z.; CREAMER, R.E.; DEYN, G.D.; GOEDE, R.; FLESKENS, L.; GEISSEN, V.; VAN GROENIGEN, J.W.; BRUSSAARD, L. Soil quality – A critical review. **Soil Biology and Biochemistry**, Londres, v. 120, p. 105-125, 2018.

CAMARA, R.K.; KLEIN, V.A. Propriedades físico-hídricas do solo sob plantio direto escarificado e rendimento da soja. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 35, p.813-819, 2005.

CASÃO JUNIOR, R.; ARAÚJO, A.G. & LLANILLO, R.F. **No-till agriculture in**

southern Brazil. Londrina: IAPAR/FAO, 2012. 77p.

CASTRO FILHO, C.; MUZILLII, O.; PODANOSCHI, A. L. Estabilidade dos agregados e sua relação com o teor de carbono orgânico num Latossolo Roxo distrófico, em função de sistemas de plantio, rotações de culturas e métodos de preparo das amostras. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v.22, p.527-538, 1998.

CATTELAN, A.J. & VIDOR, C. Sistemas de culturas e a população microbiana do solo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v.14, p. 125- 132, 1990.

CERETTA, C.A.; DURIGON, R.; BASSO, C.J.; BARCELLOS, L.A.R.; VIEIRA, F.C.B. Características químicas de solo sob aplicação de esterco líquido de suínos em pastagem natural. **Pesquisa agropecuária brasileira**, Brasília, v. 38, n. 6, p. 729-735, 2003.

CHAER, G.M.; TÓTOLA, M.R. Impacto do manejo de resíduos orgânicos durante a reforma de plantios de eucalipto sobre indicadores de qualidade do solo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v.31, n.6, p.1381-1396, 2007.

CONAMA - Conselho Nacional do Meio Ambiente. Resolução nº 375, de 29 de agosto de 2006. Define critérios e procedimentos, para o uso agrícola de lodos de esgoto gerados em estações de tratamento de esgoto sanitário e seus produtos derivados, e dá outras providências, do Conselho

COSTA, T.; LOPES, S.; FERNÁNDEZ-LLIMÓS, F.; AMANTE, M.J.; LOPES, P.F. A Bibliometria e a Avaliação da Produção Científica: indicadores e ferramentas. **Actas dos Congressos Nacionais de Bibliotecários, Arquivistas e Documentalistas**, Lisboa, n. 11, p. 1-7, 2012.

COUTINHO, H.L.C.; OLIVEIRA, V.M.; MANFIO, G.P. Diversidade microbiana em amostras ambientais. *In*: GARAY, I.E.G.; DIAS, B.F.S. **Conservação da biodiversidade em ecossistemas tropicais: avanços conceituais e revisão de novas metodologias de avaliação e monitoramento**. Petrópolis, Editora Vorazes, 2001. 403 p.

CRUZ, J. C.; PEREIRA FILHO, I. A.; ALVARENGA, R. C.; GONTIJO NETO, M. M.; VIANA, J. H. M.; OLIVEIRA, M. F. de; SANTANA, D. P. Manejo da cultura do milho em sistema plantio direto. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v.27, n.233, p.42-53, 2006.

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

DAIMS, H., LEBEDEVA, E., PJEVAC, P. et al. Complete nitrification by Nitrospira bacteria. **Nature**, Londres, v. 528, p. 504–509, 2015

DARTORA, V.; PERDOMO, C.C.; TUMELERO, I.L. **Manejo de dejetos de suínos**. Boletim Informativo de Pesquisa ano 7. Porto Alegre: EMBRAPA Suínos e Aves e Extensão e EMATER/RS, n. 11, 1998.

DAUDÉN, A.; QUÍLEZ, D. Pig slurry versus mineral fertilization on corn yield and nitrate leaching in a Mediterranean irrigated environment. **European Journal of Agronomy**, Amsterdam, v. 21, n. 1, p. 7-19, 2004.

DEBIASI, H.; FRANCHINI, J. C.; CONTE, O.; BALBINOT JUNIOR, A. A.; TORRES, E.; SARAIVA, O. F.; OLIVEIRA, M. C. N. de. **Sistemas de preparo do solo: trinta anos de pesquisas na Embrapa Soja**. Documentos, 342, Londrina: EMBRAPA Soja, 2013. 72 p.

DENARDIN, J.E. Manejo adequado do solo para áreas motomecanizadas. In: Simpósio De Manejo Do Solo E Plantio Direto No Sul Do Brasil, 1., Simpósio De Conservação Do Solo Do Planalto, 3., 1984, Passo Fundo. **Anais [...]**. Passo Fundo, PIUCS e UPF – Faculdade de Agronomia, 1984. p.107-124.

DICK, R.P. Soil enzymes activities as indicators of soil quality. In: DORAN, J.W.; COLEMAN, D.C.; BEZDICEK, D.F.; STEWART, B.A. **Defining soil quality for a sustainable environment**. Special Publication number: 35. Madison: Soil Science Society of America, 1994. p.107-124.

DIESEL, R.; MIRANDA, C.R.; PERDOMO, C.C. **Coletânea de tecnologias sobre dejetos suínos**. BIPERS-Boletim informativo pesquisa e extensão, Porto Alegre: EMBRAPA, 2002.

DONAGEMMA, G. K.; VIANA, J. H.; ANDRADE, A.G. **Propriedades físicas do solo influenciadas por sistemas de preparo e manejo: Uma revisão**. Série de documentos da Embrapa, Rio de Janeiro: Embrapa, 2008.

DORAN, J. W.; PARKIN, T. B. Defining and assessing soil quality. In: DORAN, J. W.; COLEMAN, D. C.; BEZDICEK, D. F.; STEWART, B. A. **Defining soil quality for sustainable environment**. Madison: Soil Science Society of America, v.35, p. 3-21. 1994.

EEKEREN, N.V.; BOMMELE, L.; BLOEM, J.; SCHOUTEN, T.; RUTGERS, M.; DE GOEDE, R.; REHEUL, D. & BRUSSAARD, L. Soil biological quality after 36 years of ley-arable cropping, permanent grassland and permanent arable cropping. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v. 40, p.432-446, 2008.

EMBRAPA Empresa Brasileira De Pesquisa Agropecuária: Centro Nacional de Pesquisa de Solos. **Manual de métodos de análise de solo**. 2.ed. Rio de Janeiro: EMBRAPA, 1997. 212 p.

EMBRAPA Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Estatísticas Desempenho de Produção**. Central de Inteligência de Aves e suínos. 2019. Disponível em: <https://www.embrapa.br/suinos-e-aves/cias/estatisticas>. Acesso em: 22 out. 2019.

FAO. Pollution from industrialized livestock production. 2005. Disponível em: <http://www.fao.org/3/a-a0261e.pdf>. Acesso em: 20 dez 2019.

FERREIRA, E.A.B.; RESCK, D.V.S.; GOMES, A.C.; RAMOS, M.L.G. Dinâmica do carbono da biomassa microbiana em cinco épocas do ano em diferentes sistemas de manejo do solo no cerrado. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa , v. 31,

n. 6, p. 1625-1635, 2007.

FISH, J.A.; CHAI, B.; WANG, Q.; SUN, Y.; BROWN, C.T.; TIEDJE, J.M.; COLE, J.R. FunGene: the functional gene pipeline and repository. **Frontiers in Microbiology**, Lausanne, v. 4, n. 291, p. 1-14, 2013.

GEISEN, S.; BRIONES, M.J.I.; GAN, H.; BEHAN-PELLETIER, V.M.; FRIMAN, V.P.; GROOT, G.A.; HANNULA, S.E.; LINDO, Z.; PHILIPPOT, L.; TIUNOV, A.V.; WALL, D.H. A methodological framework to embrace soil biodiversity. **Soil Biology and Biochemistry**, Londres, v. 136, artigo 107536, 2019.

GIACOMETTIA, C.; DEMYANB, M. S.; CAVANIA, L.; MARZADORIA, C. C.; KANDELER, E. Chemical and microbiological soil quality indicators and their potential to differentiate fertilization regimes in temperate agroecosystems. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v. 64, p. 32–48, 2013.

GIACOMINI, Sandro José; AITA, Celso; POZZI JANTALIA, Claudia; URQUIAGA, Segundo. Aproveitamento pelo milho do nitrogênio amoniacal de dejetos líquidos de suínos em plantio direto e preparo reduzido do solo. **Pesquisa agropecuária brasileira**, Brasília, v.44, n.7, p.761-768, 2009a.

GIACOMINI, Sandro José; AITA, Celso; POZZI JANTALIA, Claudia; URQUIAGA, Segundo; FRANCESCHI DOS SANTOS, Gabriel. Imobilização do nitrogênio amoniacal de dejetos líquidos de suínos em plantio direto e preparo reduzido do solo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 33, n. 1, p. 41-50, 2009b.

GLIESSMAN, S.R. **Agroecologia: Processos ecológicos em agricultura sustentável**. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2000. 653p.

GREBUS, M.E.; WATSON, M.E.; HOITINK, H.A.J. Biological, chemical and physical properties of composted yard trimmings as indicators of maturity and plant disease suppression. **Compost Science & Utilization**, Emmaus, v.2, n.1, p.57-71, 1994.

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

HERNÁNDEZ D, POLO A, PLAZA C. Long-term effects of pig slurry on barley yield and N use efficiency under semiarid Mediterranean conditions. **European Journal of Agronomy**, Amsterdam, v. 44, p.78–86, 2013.

HOITINK, H.A.J., BOEHM, M.J. Biocontrol within the context of soil microbial communities: a substrate-dependent phenomenon. **Annual Review of Phytopathology**, California, v.37, p. 427–446. 1999.

HONG, P.Y.; YANNARELL, A.C.; DAI, Q.; EKIZOGLU, M.; MACKIE, R.I. Monitoring the perturbation of soil and groundwater microbial communities due to pig production activities. **Applied Environmental Microbiology**, Washington, v.79, p. 2620–2629, 2013.

HUGENHOLTZ, P.; GOEBEL, B.M.; PACE, N.R. Impact of culture-independent studies on the emerging phylogenetic view of bacterial diversity. **Journal of**

Bacteriology, Baltimore, v. 180, p. 4765–4774, 1998.

INSAM, H. Developments in soil microbiology since the mid 1960s. **Geoderma**, Amsterdam, v. 100, n. 3, p. 389-402, 2001.

JEDIDI, N., HASSEN, A., VAN CLEEMPUT, O., M'HIRI, A. Microbial biomass in a soil amended with different types of organic wastes. **Waste Management and Research**, Londres, v.22, n.2, p. 93–99. 2004.

JENKINSON, D.S.; POWLSON, D.S. The effects of biocidal treatments on metabolism in soil. V. A method for measuring soil biomass. **Soil Biology and Biochemistry**, Amsterdam, v. 8, n. 3, p. 209-213, 1976.

JIN, Y.; LIANG, X.; HE, M.; LIU, Y.; TIAN, G.; SHI, J.; Manure biochar influence upon soil properties, phosphorus distribution and phosphatase activities: A microcosm incubation study. **Chemosphere**, Nova York, v. 142, p. 128-135, 2016.

KASCHUK, G.; ALBERTON, O.; HUNGRIA, M. Three decades of soil microbial biomass studies in Brazilian ecosystems: lessons learned about soil quality and indicators for improving sustainability. **Soil Biology and Biochemistry**, Amsterdam, v. 42, p.1–13, 2010.

KAN, F.L.; CHEN, Z.Y.; WANG, E.T.; TIAN, C.F.; SUI, X.H; CHEN, W.X. Characterization of symbiotic and endophytic bacteria isolated from root nodules of herbaceous legumes grown in Qinghai-Tibet plateau and in other zones of China. **Archives of Microbiology**, Berlin, v. 188, p.103-115, 2007.

KEDI, B.; ABADIE, J.; SEI, J.; QUIQUAMPOIX, H.; STAUNTON, S., Diversity of adsorption affinity and catalytic activity of fungal phosphatases adsorbed on some tropical soils. **Soil Biology and Biochemistry**, Amsterdam, p. 1-8, 2012.

KEISER, A.D.; STRICKLAND, M.S.; FIERER, N.; BRADFORD, M.A. The effect of resource history on the functioning of soil microbial communities is maintained across time. **Biogeosciences**, Katlenberg-Lindau, v. 8, p. 1477-1486, 2011.

KELLER, M.; ZENGLER, K. Tapping into microbial diversity. **Nature Reviews: Microbiology**, New York, v. 2, p. 141-151, 2004.

KERTESZ, M. A.; MIRLEAU, P. The role of soil microbes in plant sulphur nutrition. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 55, p. 1939-1945, 2004.

KIEHL, J.E. Fertilizantes orgânicos. Piracicaba: Agronômica Ceres, 1985. 492 p.

KUMARI, P.; CHOI, H.L.; SUDIARTO, S.I.A. Assessment of bacterial community assembly patterns and processes in pig manure slurry. **PLoS ONE**, São Francisco, v.10, n.9, p.1-12, 2015.

LAL, R.; PIERCE, F.J. The vanishing resource. *In*: LAL, R.; PIERCE, F.J. **Soil management for sustainability**. Ankeny: Soil Water Conservation Society, 1991. pp.1-5.

LAPAZ, A.M.; BONINI, C.S.B.; OLIVÉRIO, G.L.; SANTOS, T.P.; CHITERO, J.G.;

HEINRICH, R.; BONINI NETO, A.; YOSHIDA, C.H.P., COSTA, N.R.; PIAZENTIN, J.C. State of the Art: Soil Physical Attributes. **Journal of Experimental Agriculture International**, Baltimore, v. 39, n. 5, p. 1-12, 2019.

LI J.T.; ZHONG X.L.; WANG F.; ZHAO Q.G. Effect of poultry litter and livestock manure on soil physical and biological indicators in a rice-wheat rotation system. **Plant, Soil and Environment**, Prada, v. 57, p. 351-356, 2011.

LLOVERAS, J., ARÁN, M.; VILLAR, P.; BALLESTA, A.; ARCAYA, A.; VILANOVA, X.; DELGADO, I.; MUÑOZ, F. Effect of Swine Slurry on Alfalfa Production and on Tissue and Soil Nutrient Concentration. **Agronomy Journal**, Madison, v. 96, p. 986-991, 2004.

LOURENZI, C.R.; CERETTA, C.A.; SILVA, L.S.; GIROTTO, E.; LORENSINI, F.; TIECHER, T.L.; DE CONTI, L.; TRENTIN, G.; BRUNETTO, G. Nutrients in soil layers under no-tillage after successive pig slurry applications. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 37, n. 1, p. 157-167, 2013.

MARTINEZ-SALGADO M.M.; GUTIÉRREZ, R. V.; JANNSENS, M.; ORTEGA, B. R. Biological soil quality indicators: a review. In: MENDEZ-VILAS, A. **Current Research, Technology and Education Topics in Applied Microbiology and Microbial Biotechnology**. Santa Maria: Formatex, 2010. pp.319-328.

MAYNARD, A.A. Sustained vegetable production for three years using composted animal manures. **Compost Science & Utilization**, Emmaus, v.2, n.1, p.88-96, 1994.

MEDEIROS, L.T.; FREITAS, K.R. CARMO, M.L.; SANTANA, R.O.; FREITAS, M.B.; PERES, L.C. Produção e qualidade da forragem de capim-marandu fertirrigada com dejetos líquidos de suínos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 36, n. 2, p. 309-318, 2007.

MELO, W. J., MELO, G.M.P. , ARAÚJO, A.S.F., MELO, V.P. Avaliação da atividade enzimática em amostras de solo. In: FIGUEIREDO, M.V.B.; BURITY, H.A.; OLIVEIRA, J.P.; SANTOS, C.E.R.S.; STAMFORD, N.P. **Biotechnologia aplicada à agricultura: Textos de apoio e protocolos experimentais**. 1ª edição. Brasília: EMBRAPA, 2010. pp. 153-187.

MENDES, I.C.; HUNGRIA, M.; REIS JUNIOR, F. B.; FERNANDES, M. F.; CHAER, G. M.; MERCANTE, F. M.; ZILLI, J. **Bioindicadores para Avaliação da Qualidade dos Solos Tropicais: utopia ou realidade?** Documentos 246, Planaltina: EMBRAPA Cerrados, 2009. p. 31. Disponível em: <<http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/bitstream/doc/856406/1/bioindicadores.pdf>>. Acesso em: 24 mai. 2016.

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

MENDES, I.C.; REIS JUNIOR, F. B.; HUNGRIA, M.; FERNANDES, M. F.; CHAER, G. M.; MERCANTE, F. M.; ZILLI, J. Microbiologia do solo e sustentabilidade de sistemas agrícolas. In: FALEIRO, F. G.; ANDRADE, S. R. M. de; REIS JUNIOR, F. B. **BIOTECNOLOGIA estado da arte e aplicações na agropecuária**. 1ª

edição. Planaltina: EMBRAPA Cerrados. 2011. pp. 219-244

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

MEYER, F.; PAARMANN, D.; SOUZA, M.D.; OLSON, R.; GLASS, E.M.; KUBAL, M.; PACZIAN, T.; RODRIGUEZ, A.; STEVENS, R.; WILKE, A.; WILKENING, J.; EDWARDS, R.A. The metagenomics RAST server: a public resource for the automatic phylogenetic and functional analysis of genomes. **BMC Bioinformatics**, London, v. 9, n. 386, p. 1-8, 2008.

MIYAZAWA, M.; BARBOSA, G. M. C. **Dejeto líquido de suíno como fertilizante orgânico: Método simplificado**. Boletim Técnico: 84, Londrina:IAPAR, 2015. 26 p.

MOREIRA, A.; MOTTA, A. C. V.; COSTA, A.; MUNIZ, A. S.; CASSOL, L. C.; ZANÃO JÚNIOR, L. A.; BATISTA, M. A.; MÜLLER, M. M. L.; HAGER, N.; PAULETTI, V. **Manual de adubação e calagem para o estado do paraná**. Curitiba: SbcS, 2017. 482 p.

MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e bioquímica do solo**. 2. ed. Lavras: UFLA, 2006. 744 p.

NASCIMENTO, D.R.; GATIBONI, L.C.; KAMINSKI, J. Fatores que afetam a disponibilidade do fósforo e o manejo da adubação fosfatada em solos sob sistema plantio direto. **Ciência Rural [online]**, v. 38, n. 2, p. 576-586, 2008. Available from: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-84782008000200049&lng=en&nrm=iso

NASCIMENTO, J. B.; CARVALHO, G. D.; CUNHA, E. Q.; FERREIRA, E. P. D. B.; LEANDRO, W. M.; DIDONET, A. Determinação da biomassa e atividade microbiana do solo sob cultivo orgânico do feijoeiro-comum em sistemas de plantio direto e convencional após cultivo de diferentes espécies de adubos verdes. **Revista Brasileira de Agroecologia**, Porto Alegre, v. 4, n. 2, 2009.

NASCIMENTO, C.A.C.; PAGLIARI, P.H.; FARIA, L.A.; VITTI, G.C. Phosphorus Mobility and Behavior in Soils Treated with Calcium, Ammonium, and Magnesium Phosphates. **Soil Science Society of America Journal**, v. 82, n. 3, [on line], 2018.

NOGUEIRA, M. A.; HUNGRIA, M. Indicadores microbiológicos da qualidade do solo. In: III Reunião Paranaense de Ciência do Solo, 3., 2013, Londrina. **Anais [...]** Londrina: SBCS, 2013. p. 539-544. Disponível em: <<http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/84589/1/Indicadores-microbiologicos-da-qualidade-do-solo.pdf>>. Acesso em: 24/05/2016.

ODLARE, M.; PELL, M.; SVENSSON, K. Changes in soil chemical and microbiological properties during 4 years of application of various organic residues. **Waste Management**, Nova York, v.28, p. 1246-1253, 2008.

OLIVEIRA, A. L. M. de; COSTA, K. dos R.; FERREIRA, D. C.; MILANI, K. M. L.; SANTOS, O. J. A. P. dos; SILVA, M. B.; ZULUAGA, M. Y. A. Aplicações da biodiversidade bacteriana do solo para a sustentabilidade da agricultura.

Biochemistry And Biotechnology Reports, Londrina, v. 3, n. 1, p.56-77, 2014.

OLIVEIRA FILHO, J.S.; FERRARI, A.C.; PEREIRA, M.G.; PINTO, L.A.S.R.; ZONTA, E.; MATOS, T.S. Phosphorus accumulation in soil after successive applications of swine manure: a long-term study in Brazil. **Environmental Earth Science**, v. 79, artigo 62, 2020.

OLIVEIRA-LONGATTI, S. M. DE; MARRA, L. M.; SOARES, B. L; BOMFETI, C. A.; SILVA, K. da; FERREIRA, P. A. A; MOREIRA, F. M de S. Bacteria isolated from soils of the western Amazon and from rehabilitated bauxite-mining areas have potential as plant growth promoters. **World Journal Of Microbiology And Biotechnology**, Berlin, v. 30, n. 4, p.1239-1250, 2013.

PALHARES, J.C.P. **Licenciamento ambiental na suinocultura: os casos brasileiro e mundial**. EMBRAPA, Concórdia: Embrapa Suínos e Aves, 2008. 52 p.

PANKHURST, C. E. ; DOUBE, B.M.; GUPTA, V.V.S.R. **Biological Indicators of Soil Health**. Wallingford: CAB International, 1997. Disponível em: http://www.isprambiente.gov.it/files/biodiversita/Pankhurst_1997_Biological_indicator_s.pdf. Acesso em: 24/05/2016.

PARKIN, T.B.; DORAN, J.W.; FRANCO-P-VIZCAÍNO, E. Field and laboratory tests of soil respiration. *In*: DORAN, J.W.; JONES, A. **Methods for assessing soil quality**. Madison: Soil Science Society of America, 1996. pp.231-245.

PARKS, D.H.; BEIKO, R.G. Identifying biologically relevant differences between metagenomic communities. **Bioinformatics**, Oxford, v. 26, p. 715–721, 2010.

PAVAN, M. A., BLOCH, M. F. M., ZEMPULSKI, H. C., MYAZAWA, M., AND ZOCOLER, D. C. **Manual de Análise Química de Solo e Controle de Qualidade**. 1ª edição. Londrina: IAPAR. 1992. 40 p.

PEREIRA, M.F.S.; NOVO JÚNIOR, J.; SÁ, J.R.; LINHARES, P.C.F.; BEZERRA NETO, F.; PINTO, J.R.S. Ciclagem do carbono do solo nos sistemas de plantio direto e convencional. **ACSA – Agropecuária Científica no Semi-Árido**, Campina Grande, v.8, n.1, p. 21- 32, 2013.

PEREIRA, R.; BORTOLUZZI, C.; DURRER, A.; FAGUNDES, N.S.; PEDROSO, A.A.; RAFAEL, J.M.; PERIM, J.E.L.; ZAVARIZE, K.C.; NAPTÝ, G.S.; ANDREOTE, F.D.; COSTA, D.P.; MENTEN, J.F.M. Performance and intestinal microbiota of chickens receiving probiotic in the feed and submitted to antibiotic therapy. **Journal Of Animal Physiology And Animal Nutrition**, Berlin, v. 103, p. 72-86, 2019.

PINTO, M. A.; FABBRIS, C.; BASSO, C. J.; SANTI, A. L.; GIROTTO, E. Swine slurry application and soil management on double-cropped oat/maize. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia v. 44, n. 2, p. 205-212, 2014.

PIRES, A.M.M.; MATTIAZZO, M.E. **Avaliação da Viabilidade do Uso de Resíduos na Agricultura**. Circular Técnica 19, Jaguariúna: EMBRAPA, 2008. p. 1-9.

PLAZA, C.; HERNÁNDEZ, D.; GARCÍA-GIL, J.C.; POLO, A. Microbial activity in pig slurry-amended soils under semiarid conditions. **Soil Biology and Biochemistry**,

Oxford, v. 36, n. 10, p. 1577-1585, 2004.

PRATT, P. F. Management restrictions in soil application of manure. **Journal of Animal Science**, Washington, v. 48, p. 134-143, 1979.

PULROLNIK, K. **Transformações do carbono no solo**. Documentos 264, Planaltina: EMBRAPA Cerrados, 2009. 36 p.

R Development Core Team. **R: A language and environment for statistical computing**. **R Foundation for Statistical Computing**, Vienna, 2008. Disponível em: <http://www.R-project.org>. Acesso em: 20 jun. 2018.

REIS JUNIOR, F. B. dos; MENDES, I.C. **Biomassa microbiana do solo**. Documentos 205. Planaltina: EMBRAPA Cerrados, 2007. p. 40.

REICHERT, J.M.; SUZUKI, L.E.A.S.; REINERT, D.J. Compactação do solo em sistemas agropecuários e florestais: Identificação, efeitos, limites críticos e mitigação. In: CERETTA, C.A.; SILVA, L.S.; REICHERT, J.M. **Tópicos Ciência do Solo**. Volume 5, Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2007. pp. 49-134.

RHEINHEIMER, D.S.; KAMINSKI, J.; LUPATINI, G.C.; SANTOS, E.J.S. Modificações em atributos químicos de solo arenoso sob sistema plantio direto. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v.22, p. 713-721, 1998.

RHEINHEIMER, D.S.; ANGHINONI, I.; CONTE, E.; KAMINSKI, J.; GATIBONI, L.C. Dessorção de fósforo avaliada por extrações sucessivas em amostras de solo provenientes dos sistemas plantio direto e convencional. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 33, n. 6, p.1053-1059, 2003.

RICE, C. W.; MOORMAN, T. B; BEARE, M. Role of microbial biomass carbon and nitrogen in soil quality. In: DORAN, J.W.; JONES, A.J. **Methods for assessing soil quality**, 1ª edição, Madison: Soil Science Society of America, 1996. p.203-216.

RIESENFELD, C.S.; GOODMAN, R.M.; HANDEISMAN, J. Uncultured soil bacteria are a reservoir of new antibiotic resistance genes. **Environmental Microbiology**, Nova York, v. 6, n. 9, p. 981–989, 2004.

ROCHETTE, P.; CHANTIGNY, M.H.; ANGERS, D.A.; BERTRAND, N.; CÔTÉ, D. Ammonia volatilization and soil nitrogen dynamics following fall application of pig slurry on canola crop residues. **Canadian Journal of Soil Science**, Ottawa, v.81, p.515-523, 2001.

RODRIGUES, M.; PAVINATO, P. S.; WITHERS, P.J.A.; TELES, A. P.B.; HERRERA, W.F.B. Legacy phosphorus and no tillage agriculture in tropical oxisols of the Brazilian savanna. **Science of the Total Environment**, Amsterdam, v. 542, n.15, p. 1050-1061, 2016.

ROSCOE, R.; BODDEY, R.M; SALTON, J. C. Sistemas de manejo e matéria orgânica do solo. In: ROSCOE, R.; MERCANTE, F. B.; SALTON, J. C. **Dinâmica da matéria orgânica do solo em sistemas conservacionistas: modelagem matemática e métodos auxiliares**. Dourados: Embrapa Agropecuária Oeste, p. 17-42. 2006.

SÁ, J.C.M.; TIVET, F.; LAL, R.; BRIEDIS, C.; HARTMAN, D.C.; SANTOS, J.Z.; SANTOS, J.B. Long-term tillage systems impacts on soil C dynamics, soil resilience and agronomic productivity of a Brazilian Oxisol. **Soil and Tillage Research**, Amsterdam, v. 136, p. 38-50, 2014.

SANCHO, R. Indicadores bibliométricos utilizados en la evaluación de la ciencia y la tecnología: revisión bibliográfica. **Revista Española de Documentación Científica**, Madri, v.13, n. 3-4, p.842-865, 1990.

SANTANA, J.S.; LIMA, E.F.; KOMATSU, R.S.; SILVA, W.A.; RIBEIRO, M.I.D. Caracterização física e química de solo em sistemas de manejo plantio direto e convencional. **Enciclopédia Biosfera: Centro Científico Conhecer**, Goiânia, v.15 n. 27; p. 22-42, 2018.

SANTOS, O. F.; SOUZA, H. M.; OLIVEIRA, M. P.; CALDAS M. B.; ROQUE C. G. Propriedades químicas de um Latossolo sob diferentes sistemas de manejo. **Revista de Agricultura Neotropical**, Cassilândia, v. 4, n. 1, p. 36–42, 2017.

SARTO, J.R.W.; NERES, M.A.; SUNAHARA, S.M.M.; NATH, C.D.; SARTO, M.V.M. Chemical composition of swine wastewater, soil, and Tifton 85 after 8 years of application. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 32, n. 1, p. 259-269, 2019.

SCHEID, D.L.; SILVA, R.F.; SILVA, V.R.; ROS, C.O.; PINTO, M.A.B.; GABRIEL, M.; CHERUBIN, M.R. Changes in soil chemical and physical properties in pasture fertilised with liquid swine manure. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 77, n. 5, p. e20190017, 2020.

SCHIMIGUEL, R.; SÁ, J. C. M.; BRIEDIS, C.; HARTMAN, D. C.; ZUFFO, J. Estabilidade de agregados do solo devido a sistemas de cultivo. **Synergismus scyentifica**, Pato Branco, v. 9, n. 1, s.p., 2014.

SCHNURER, J.; ROSSWALL, T. Fluorescein diacetate hydrolysis as a measure of total microbial activity in soil and litter. **Applied and Environmental Microbiology**, Newark, v.43, p.1256-1261, 1982.

SCHJØNNING, P.; CHRISTENSEN, B.T.; CARSTENSEN, B. Physical and chemical properties of a sandy loam receiving animal manure, mineral fertilizer or no fertilizer for 90 years. **European Journal of Soil Science**, Oxford, v. 45, n.1, p. 257-268, 1994.

SEDIYAMA, M.A.N.; GARCIA, N.C.P.; VIDIGAL, S.M.; MATOS, A.T. Nutrientes em compostos orgânicos de resíduos vegetais e dejetos de suínos. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v.57, n.1, p. 185-189, 2000.

SCHERER, E.E.; AITA, C.; BALDISSERA, I.T. **Avaliação da qualidade do esterco líquido de suínos da região Oeste catarinense para fins de utilização como fertilizante**. Santa Catarina: EPAGRI, 1996. 46 p.

SCHUSTER, N.R.; PETERSON, J.A.; GILLEY, J.E.; SCHOTT, L.R.; SCHMIDT, A.M. Soil arthropod abundance and diversity following land application of swine slurry. **Agricultural Sciences**, Wuhan, v. 10, p. 150-163, 2019

SILVA, A.N.; BASSO, C.J.; MURARO, D.S.; ORTIGARA, C.; PANSERA E. Pig slurry composting as a nitrogen source in proso millet crop. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 46, n. 1, p. 80-88, 2016.

SILVA, A.A.; LANA, A.M.Q.; LANA, R.M.Q.; COSTA, A.M. Fertilização com dejetos suínos: influência nas características bromatológicas da *Brachiaria decumbens* e alterações no solo. **Engenharia Agrícola**, Jaboticabal, v. 35, n.2, p.254-265, 2015.

SILVA, S.G.C.; SILVA, A.P.; GIAROLA, N.F.B.; TORMENA, C.A.; SÁ, J.C.M. Temporary effect of chiseling on the compaction of a Rhodic Hapludox under no-tillage. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 36, p. 547-55, 2012a.

SILVA, C. F.; PEREIRA, M. G.; MIGUEL, D. L.; FEITORA, J. C. F.; LOSS, A.; MENEZES, C. E. G.; SILVA, E. M. R. Carbono orgânico total, biomassa microbiana e atividade enzimática do solo de áreas agrícolas, florestais e pastagem no médio Vale do Paraíba do Sul (RJ). **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, vol.36, n.6, p. 1680-1689, 2012b.

SMITH, H.J.; SCHMIT, A.; FOSTER, R.; LITTMAN, S.; KUYPERS, M.M.M; FOREMAN, C.M. Biofilms on glacial surfaces: hotspots for biological activity. **NPJ Biofilms and Microbiomes**, Nova York, v. 2, artigo 16008, 2016.

SOUZA, E. D.; COSTA, S. E. V. G. A.; ANGHINONI, I.; LIMA, C. V. S de.; CARVALHO, P. C. de F.; MARTINSET, A. P. Biomassa microbiana do solo em sistema de integração lavoura-pecuária em plantio direto, submetido a intensidades de pastejo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 34, n. 1, p.79-88, 2010.

STEFANOSKI, D. C.; SANTOS, G. G.; MARCHÃO, R. L. PETTER, F. A.; PACHECO, L. P. Uso e manejo do solo e seus impactos sobre a qualidade física. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 17, n. 12, p. 1301-1309, 2013.

STENBERG, B. Monitoring soil quality of arable land: microbiological indicators. **Acta Agriculturae Scandinavia**, Estocolmo, v. 49, p. 1-24, 1999.

STERNER, R.W.; ELSER, J.J. **Ecological Stoichiometry, the Biology of Elements from Molecules to the Biosphere**. 1ª edição, Princeton: Princeton University Press, 2002. 464 p.

TABATABAI, M.A. Soil enzymes. In: Weaver, R.W.; Angle, S.; Bottomley, P.S.; BEZDICEK, D.; SMITH, S.; TABATABAI, A.; WOLLUM, A. **Methods of Soil Analysis: Part 2: Microbiological and Biochemical Properties**. 1ª edição, Madison: Soil Science Society of America. 1994. pp. 778-833.

TAVARES, R.L.M.; ASSIS, R.L.; FERREIRA, R.V.; MENEZES, J.F.S.; SIMON, G.A.; BOLDRIN, P.F.; CANTÃO, V.C.G. Long term application of pig manure on the chemical and physical properties of Brazilian Cerrado soil. **Carbon Management**, Londres, v. 10, n.6, p. 541-549, 2019.

TEDESCO, M.J.; SELBACH, P.A.; GINELLO, C.; CAMARGO, F.A.O. Resíduos orgânicos no solo e os impactos no ambiente. In: SANTOS, G.A.; CAMARGO,

F.A.O. **Fundamentos da matéria orgânica do solo: ecossistemas tropicais e subtropicais**. 1ª edição, Porto Alegre: Gênese, 1999. pp. 159-196.

TERAVEST, D.; CARPENTER-BOGGS, L.; THIERFELDER, C.; REGANOLD, J.P. Crop production and soil water management in conservation agriculture, no-till, and conventional tillage systems in Malawi. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, Amsterdam, v. 212, p. 285-296, 2015.

TORSVIK, V.; ØVREÅS, L.; THINGSTAD, T.F. Prokaryotic diversity-magnitude, dynamics, and controlling factors. **Science**, Washington, v. 296, n. 5570, p. 1064-1066, 2002.

TRASAR-CEPEDA, C.; LEIRÓS, M.C.; GIL-SOTRES, F.; SEOANE, S. Towards a biochemical quality index for soils: An expression relating several biological and biochemical properties. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v. 26, p.100-106. 1998.

USDA - United States Department Of Agriculture. Production, Supply and Distribution Online (2016). Disponível em < <https://apps.fas.usda.gov/psdonline/psdHome.aspx>> , acesso em 11/julho/2016.

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

VASCONCELOS, M. C. A. de. **Avaliação dos indicadores químicos e biológicos de qualidade do solo de cerrado degradado após o cultivo de leguminosas**. 59 f. Dissertação (Mestrado em Ecologia e Produção Sustentável)- Pontifícia Universidade Católica de Goiás, Goiânia, 2015. Disponível em: http://tede.biblioteca.ucg.br/tde_arquivos/13/TDE-2015-06-10T085756Z-1937/Publico/MARIA%20CECILIA%20ALVES%20DE%20VASCONCELOS.pdf Acesso em: 24/05/2016.

VAZ, M.G.M.V.; SCHAKER, P.D.C.; MACHINESKI, G.S.; SILVA, G.M.; MANDRO, J.L.; CORREA, N.T.; SARTORI, S.B. Microbiologia agrícola: das bases biológicas à biotecnologia. In: CARVALHO, M.E.A. et al. **Workshop de Ciências da APG/ESALQ: O Despertar Profissional**, Piracicaba: ESALQ/USP, 2015. 141 p.

VEZZANI, F.M.; MIELNICZUK, J. Uma visão sobre qualidade do solo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, 33:743-755, 2009.

VIELMO, H.B.; BONA FILHO, A.; SOARES, A.B.; ASSMANN, T.S.; ADAMI, P.F. Effect of fertilization with fluid swine slurry on production and nutritive value of Tifton 85. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.40, p.60-68, 2011.

WALKER, T.S.; BAIS, H.P.; GROTEWOLD, E.; VIVANCO, J.M. Root exudation and rhizosphere biology. **Plant Physiology**, Londres, v.132, p. 44–51, 2003.

WALKLEY, A. & BLACK, I.A. An examination of the Degtjareff method for determining soil organic matter and a proposed modification of the chromic acid titration method. **Soil Science**, Nova Jersey, 37:29-38, 1934.

WANDER, M. **Managing manure fertilizers in organic systems**. Extension, University of Illinois. 2015 Disponível em: <http://www.extension.org/pages/18628/managing-manure-fertilizers-in-organic-systems>, acesso em 11/julho/2016.

WARDLE, D. A. Metodologia para quantificação da biomassa microbiana do solo. *In*: HUNGRIA, M.; ARAUJO, R. S. **Manual de métodos empregados em estudos de microbiologia agrícola**. Brasília: Embrapa- SPI, 1994. p. 419- 436.

WEI, H.; PENG, C.; YANG, B.; SONG, H.; LI, Q.; JIANG, L.; WEI, G.; WANG, K.; WANG, H.; LIU, S.; LIU, X.; CHEN, D.; LI, Y.; WANG, M. Contrasting Soil Bacterial Community, Diversity, and Function in Two Forests in China. **Frontiers in microbiology**, Lausanne, v. 9, article 1693, p. 1-14, 2018.

XUN, W.; XIONG, W.; HUANG, T.; RAN, W.; LI, D.; SHEN, Q.; LI, Q.; ZHANG, R. Swine manure and quicklime have different impacts on chemical properties and composition of bacterial communities of an acidic soil. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v. 100, p. 38-44, 2016.

XUN, W.; HUANG, T.; ZHAO, J.; RAN, W.; WANG, B.; SHEN, Q.; ZHANG, R. Environmental conditions rather than microbial inoculum composition determine the bacterial composition, microbial biomass and enzymatic activity of reconstructed soil microbial communities. **Soil Biology and Biochemistry**, Amsterdam, v. 90, p. 10–18, 2015.

YI, X.; YI, K.; FANG, K.; GAO, H.; DAI W., CAO L. Microbial community structures and important associations between soil nutrients and the responses of specific taxa to rice-frog cultivation. **Frontiers in Microbiology**, Lausanne v. 10, article 1752, p. 1-12, 2019.

YOUNGBLOOD, M.; LAHTI, D.C. A bibliometric analysis of the interdisciplinary field of cultural evolution. **Palgrave Communications**, Londres, v. 4, p. 1-9, 2018.

ZIBILSKE, L. M. Carbon mineralization. *In*: WEAVER, R. W.; SCOTT, A.; BOTTOMLEY, P. J. **Methods of soil analysis: microbiological and biochemical properties**. Special Publication 5. Madison: Soil Science Society of America, 1994. p. 836- 864.

ZILLI, J.E.; RUMJANEK, N.G.; XAVIER, G.R.; COUTINHO, H.L.C.; NEVER, M.C.P. Diversidade microbiana como indicador de qualidade do solo. **Cadernos de Ciência & Tecnologia**, Brasília, v. 20, n. 3, p. 391-411, set./dez. 2003.

ANEXOS

ANEXO A

Sequencia dos primers forward e reverse utilizados para delimitação da região V4 do gene 16S rRNA.

| Primer name | Sequence |
|---------------|--|
| 16SV4FPCR1_1f | 5' TCG TCG GCA GCG TCA GAT GTG TAT AAG AGA CAG AYT GGG YDT AAA GNG 3' |
| 16SV4FPCR1_2f | 5' TCG TCG GCA GCG TCA GAT GTG TAT AAG AGA CAG NAY TGG GYD TAA AGN G 3' |
| 16SV4FPCR1_3f | 5' TCG TCG GCA GCG TCA GAT GTG TAT AAG AGA CAG NNA YTG GGY DTA AAG NG |
| 16SV4FPCR1_4f | 5' TCG TCG GCA GCG TCA GAT GTG TAT AAG AGA CAG NNN AYT GGG YDT AAA GNG |
| 16SV4RPCR1_1r | 5' GTC TCG TGG GCT CGG AGA TGT GTA TAA GAG ACA GCC GTC AAT TCM TTT RAG T |
| 16SV4RPCR1_2r | 5' GTC TCG TGG GCT CGG AGA TGT GTA TAA GAG ACA GNC CGT CAA TTC MTT TRA GT |
| 16SV4RPCR1_3r | 5' GTC TCG TGG GCT CGG AGA TGT GTA TAA GAG ACA GNN CCG TCA ATT CMT TTR AGT |
| 16SV4RPCR1_4r | 5' GTC TCG TGG GCT CGG AGA TGT GTA TAA GAG ACA GNN NCC GTC AAT TCM TTT RAG T |

Fonte: Pereira et al. (2019)