

UNIVERSIDADE DE SOROCABA PRÓ-REITORIA ACADÊMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO MESTRADO EM PROCESSOS
TECNOLÓGICOS E AMBIENTAIS

Ivan de Maria

AVALIAÇÃO DA MICROBIOTA DO SOLO EM ÁREAS COM DIFERENTES
TIPOS DE USO E OCUPAÇÃO

Sorocaba/SP

2018

Ivan de Maria

AVALIAÇÃO DA MICROBIOTA DO SOLO EM ÁREAS COM DIFERENTES
TIPOS DE USO E OCUPAÇÃO

Dissertação apresentada à Banca Examinadora do Programa de Pós-Graduação em Processos Tecnológicos e Ambientais da Universidade de Sorocaba, como exigência parcial para obtenção do título de Mestre em Processos Tecnológicos e Ambientais.

Orientador: Profa. Dra. Renata Lima

Sorocaba/SP
2018

Ficha Catalográfica

Maria, Ivan de
M285a Avaliação da microbiota do solo em áreas com diferentes tipos de uso e ocupação / Ivan de Maria. – 2018.
47 f. : il.

Orientadora: Profa. Dra. Renata de Lima
Dissertação (Mestrado em Processos Tecnológicos e Ambientais) – Universidade de Sorocaba, Sorocaba, SP, 2018.

1. Solos. 2. Micro-organismos do solo. 4. Solos – Análise. 5. Solos – Uso. I. Lima, Renata de, orient. II. Universidade de Sorocaba. III. Título.

Ivan de Maria

AVALIAÇÃO DA MICROBIOTA DO SOLO EM ÁREAS COM DIFERENTES
TIPOS DE USO E OCUPAÇÃO.

Dissertação aprovada como requisito parcial
para obtenção do grau de Mestre no Programa
de Pós-Graduação em Processos Tecnológicos e
Ambientais da Universidade de Sorocaba.

Aprovado em: ___ / ___ / _____

BANCA EXAMINADORA:

Prof.(a) Dr.(a) Renata Lima
Universidade de Sorocaba - Uniso

Prof.(a) Dr.(a) Estefânia Vangelie Ramos Campos
Universidade Paulista Júlio de Mesquita Filho Unesp/Sorocaba

Prof.(a) Dr.(a) Prof. Dr. Darllan Collins da Cunha e Silva
Universidade de Sorocaba - Uniso

RESUMO

A diversidade de atividades nos solos vem demonstrando alterações e impactos cada vez mais frequentes, o manejo adequado e um processo eficaz de restauração ou recuperação se faz necessário para que haja o uso racional, equilibrado e sustentável sem comprometer as futuras funções. O presente estudo aborda a avaliação da microbiota do solo em áreas com diferentes tipos de uso e ocupação e descreve a relação da paisagem, dos elementos químicos e microbiológicos que são responsáveis pelo ciclo de nitrogênio, as áreas em estudo estão localizadas no Centro de Estudos e Práticas Agrícolas, propriedade Fundação Dom Aguirre. Foram coletadas em campo amostras dos solos referentes a duas áreas de fragmentos florestais contendo espécies nativas, uma área com produção agrícola ativa, com o cultivar Milheto (*Pennisetum glaucum*) e outra com um pasto desativado e isolado. Através da comparação e avaliação das amostras do solo pode-se obter dados da relação entre as atividades e os elementos presentes de cada área. Os resultados das amostras da mata/espécies nativas apresentaram semelhanças e níveis equilibrados e aceitáveis em seus elementos para atributos florestais. Em relação a microbiota, ambas as amostras mantiveram resultados semelhantes para uma grande quantidade de microrganismos de alta fixação. Para a amostra da área de agricultura o resultado apresentou um desequilíbrio dos elementos químicos, com base nos atributos anuais e apresentando baixa quantidade de microrganismos, sendo a maioria de nitrificantes. O destaque foi à amostra do pasto isolado e desativado, pois por se tratar de uma área com indícios da paisagem afetada, os elementos químicos apresentaram em seus resultados níveis aceitáveis para atributos pastagens e foi possível observar uma maior proporção de bactérias com genes Arch-Amoa responsável pela nitrificação, assim como uma maior proporção de genes de síntese de enzimas responsáveis pela fase 1 da denitrificação, o que não é comum em áreas com características de pressão. Para a definição dos níveis dos elementos químicos presentes nas amostras, foram utilizados como base o Boletim nº 2 (IAC), Níveis de fertilidade para interpretação de análise de solos para o estado de São Paulo. Quanto à avaliação da microbiota via extração do DNA, a técnica demonstrou a possibilidade de utilizar uma ferramenta a mais de análise e que pode somar na interpretação sobre usos e pressões no solo e que pode auxiliar no processo da regeneração do mesmo. Após as interpretações das análises pode se alinhar os tipos das atividades que resultaram as amostras e compreender os elementos químicos e microbiológicos das áreas e assim descrever a relação do uso/ocupação com a qualidade ambiental do solo.

Palavras-chave: Solo, Uso e Ocupação, Elementos Químicos, Microbiota.

ABSTRACT

The diversity of soil activities has been showing increasingly frequent changes and impacts, adequate management and an effective process of restoration or recovery is necessary for rational, balanced and sustainable use without compromising future functions. The present study deals with the evaluation of the soil microbiota in areas with different types of use and occupation and describes the relationship of the landscape, the chemical and microbiological elements that are responsible for the nitrogen cycle, the areas under study are located in the Center for Studies and Agricultural Practices, Fundação Dom Aguirre Foundation. Samples of the soils were collected in the field of two areas of forest fragments containing native species, an area with active agricultural production, with the cultivar Milheto (*Pennisetum glaucum*) and another with a deactivated and isolated pasture. By comparing and evaluating the soil samples, one can obtain data on the relationship between the activities and the elements present in each area. The results of native forest samples / species presented similar and balanced levels and acceptable in their elements for forest attributes. Regarding microbiota, both samples maintained similar results for a large number of high fixation microorganisms. For the agricultural area sample, the result showed an imbalance of the chemical elements, based on the annual attributes and presenting low amount of microorganisms, being the majority of nitrifying. The highlight was the isolated and deactivated pasture sample, because it was an area with indications of the affected landscape, the chemical elements presented in their results acceptable levels for pasture attributes and it was possible to observe a higher proportion of bacteria with *Arch-Amoa* genes responsible for nitrification, as well as a higher proportion of enzyme synthesis genes responsible for phase 1 denitrification, which is not common in areas with pressure characteristics. For the definition of the levels of chemical elements present in the samples, we used as basis the Bulletin No. 2 (IAC), Fertility levels for interpreting soil analysis for the state of São Paulo. As for the evaluation of the microbiota via DNA extraction, the technique demonstrated the possibility of using a tool for further analysis and that can add to the interpretation about uses and pressures in the soil, which may aid in the process of regeneration of the same. After the interpretations of the analyzes can align the types of activities that resulted in the samples and understand the chemical and microbiological elements of the areas and thus describe the relationship of use / occupation with the environmental quality of the soil.

Key words: Soil, Use and Occupation, Chemical Elements, Microbiota.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Nomenclatura utilizada para definir o perfil do solo (horizontes).	05
Figura 2 - Ciclo do nitrogênio e os genes bacterianos responsáveis pela produção de enzimas em cada uma das fases.	17
Figura 3 - Figura indicando a classificação do solo do Centro de Estudos e Práticas Agrícolas (Uniso).	21
Figura 4 - Figura 4 – Figura indicando o uso ou a ocupação do solo do Centro de Estudos e Práticas Agrícolas (Uniso).	22
Figura 5 - Figura indicando os locais das coletas das amostras do solo em diferentes estratos do Centro de Estudos e Práticas Agrícolas (DataGeo.)	23
Figura 6 - Amostra 1 mata nativa, A) serrapilheira, B) nascente intermitente C) extrato vegetal).	29
Figura 7 - Amostra 1A mata nativa, A) serrapilheira, B) extrato vegetal).	29
Figura 8 - Amostra 2 área agricultura, A) Milheto, B) solo.	33
Figura 9 - Imagens do local da coleta da amostra 3 (pasto desativado).	35
Figura 10 - Análises moleculares quantitativas de genes bacterianos envolvidos com o ciclo do nitrogênio (nifH, nosZ, cnorB, nirK, narG e nirS) nas diferentes amostras estudadas	37

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Classificação das frações granulométricas do solo.	07
Quadro 2 - Minerais primários e nutrientes dos minerais.	08
Quadro 3 - Grupos textuais com base na proporção entre areia, silte e argila.	08
Quadro 4 - As 13 ordens de solo do Brasil, conceitos, região, ocorrência, qualidade e limitações ao uso agrícola, ambiental e urbano.	10
Quadro 5 - Classificação dos microrganismos em relação à temperatura.	12
Quadro 6 - Valores correspondentes ao pH ideal do solo.	12
Quadro 7 - Diferentes tipos de interações existentes entre diferentes microrganismos.	14

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Tabela indicando a classificação do solo Centro de Estudos e Práticas Agrícolas (Uniso, 2016).	21
Tabela 2 - Tabela indicando o atual uso e a ocupação da área.	22
Tabela 3 - Primers utilizados para a quantificação de genes específicos no qPCR (JUNG et al 2011, 2012).	24
Tabela 4 - Os resultados das análises químicas dos estratos de mata nativa 1e 1A.	26
Tabela 5 - Os resultados das análises químicas do estrato agricultura – amostra 2.	31
Tabela 6 - Os resultados das análises químicas do estrato pasto desativado – amostra 3.	34
Tabela 7 - Tabela 7. Visão geral dos resultados coletados em campo: elementos químicos, microbiota, fitofisionomia/paisagem e uso/ocupação em cada área.	39

SUMÁRIO

<u>INTRODUÇÃO</u>	10
<u>2 REVISÃO BIBLIOGRAFICA</u>	11
<u>2.1 PROCESSOS DE FORMAÇÃO DO SOLO</u>	11
<u>2.1.1 CONSTITUIÇÃO DO SOLO</u>	13
<u>2.1.2 MICROBIOLOGIA DO SOLO</u>	19
<u>2.1.3 ELEMENTOS NUTRICIONAIS DO SOLO</u>	23
<u>3 OBJETIVO</u>	27
<u>3.1 OBEJTIVO GERAL</u>	27
<u>3.2 OBJETIVO ESPECÍFICO</u>	27
<u>4 MATERIAL E MÉTODO</u>	28
<u>4.1 IDENTIFICAÇÃO DA ÁREA E CARACTERÍSTICA DO MEIO FÍSICO</u>	28
<u>4.2 AVALIAÇÃO DA PAISAGEM E COLETA DAS AMOSTRAS DO SOLO</u>	29
<u>4.3 DIVISÕES DOS EXTRATOS DO SOLO E O USO/OCUPAÇÃO</u>	30
<u>4.4 ANÁLISE MOLECULAR DO SOLO</u>	32
<u>4.4.1 EXTRAÇÃO DE DNA</u>	32
<u>4.4.2 QUANTIFICAÇÃO DE DNA</u>	32
<u>4.4.3 ANÁLISE POR qPCR DA MICROBIOTA DO SOLO – AVALIAÇÃO QUANTITATIVA</u>	33
<u>5 RESULTADOS E DISCUSSÃO</u>	35
<u>5.1 RESULTADOS DAS ANÁLISES QUÍMICAS E DA PAISAGEM</u>	35
<u>5.1.1 AMOSTRAS 1 E 1A MATA NATIVA</u>	35
<u>5.1.2 AMOSTRA 2 AGRICULTURA</u>	39
<u>5.1.3 AMOSTRA 3 PASTO DESATIVADO</u>	42
<u>5.2 QUANTIFICAÇÃO DE DNA POR ANÁLISE MOLECULAR</u>	35
<u>5.2.1 RESULTADOS DA qPCR</u>	45
<u>6 CONCLUSÃO</u>	49
<u>7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</u>	50

INTRODUÇÃO

Atividades agrícolas, uso excessivo de agroquímicos, desmatamentos e diferentes práticas de manejo podem alterar a capacidade produtiva do solo e desencadear um processo de desagregação e lixiviação dos nutrientes. Logo existe a necessidade de entender e avaliar as características químicas e as características microbiológicas em diversos estratos de diferentes usos e ocupações, buscando entender a pressão de acordo com a atividade realizada no solo com a finalidade de compreender os processos da regeneração e da estabilidade com o mínimo impacto ambiental.

Agroecossistemas utilizam o solo como sustentação de operação através da biota e suas atividades, sendo estes processos os que fornecem fluxos de nutrientes e energias entre solo e vegetação. Outros fatores que podem contribuir para a produtividade e a estabilidade do solo são os diferentes do cultivar, nutrição mineral, controle de pragas, gestão hídrica e manejo. A aplicação da tecnologia pode contribuir para o controle produtivo do solo, como a biotecnologia, controle biológico, manejo da água, sistema de cultivo como rotação de cultura e consorciação, uso da cobertura vegetal ou morta, adequação das condições químicas ou reciclagem orgânica e o controle da movimentação do solo, são todas atividades contribuintes para manter o controle eficaz da erosão e a lixiviação dos nutrientes.

A adequação e o controle das características do solo podem ajustar as limitações do mesmo, para maior produtividade, estabilidade e eficiência sustentável, a utilização dos diversos estratos e a diversidade dos microrganismos presentes na sua microbiota e as interações de suas atividades podem representar processos essenciais na utilização do solo de forma ecológica e adequada. A diversidade microbiana e suas atividades podem ser fatores decisivos nos sistemas de produção, recuperação e estabilidade do solo.

Sendo assim, este estudo teve como objetivo comparar e avaliar diferentes solos e suas características microbiológicas em relação ao ciclo de nitrogênio com a finalidade de compreender os tipos de solo de acordo com o uso ou a ocupação existente. Para tanto foram avaliados quatro solos de diferentes estratos dentro da mesma área, dois deles de mata nativa, um de sistema agrícola e um pasto desativado. As análises realizadas nos quatro tipos de solo foram realizadas através da avaliação da paisagem, atividade ou ocupação e análise química e molecular da microbiota. As amostras dos solos foram coletadas no Centro de Estudos e Práticas Agrícolas, Propriedade Fundação Dom Aguirre.

2 REVISÃO BIBLIOGRAFICA

2.1 PROCESSOS DE FORMAÇÃO DO SOLO

A porção externa e superficial da crosta terrestre denominada de “SOLO” é formada por elementos de vários corpos rochosos, onde existe a formação de um grande manto rochoso. Essa formação está sujeita a varias condições que podem alterar tanto suas formas físicas como seus processos de decomposição química, os fatores de alterações são os agentes de intemperismo, ou conjunto de processos que altera e modifica o solo exposto ao tempo (CAPUTO, 1989; BRADY, 2013).

Os processos de intemperismo se dividem em duas fases: 1) *desintegração (intemperismo físico)*, quando rochas de porte maior passam por um processo de ruptura progredindo para partículas menores através de elementos como temperatura, vegetação, água, pressão e vento, formando os pedregulhos e areias que são solos de partículas grossas e 2) *decomposição (intemperismo químico)*, onde o processo é ativado na modificação mineralógica das rochas, sendo o agente principal para este processo a água, com os mecanismos hidratação, oxidação e carbonatação, estes processos químicos resultam da decomposição de vegetais e animais (COSTA, 1991; WHITE, 2009).

Os processos de intemperismo nas duas fases (desintegração e decomposição) trabalham juntos, pois quando ocorre a ruptura da rocha a circulação da água e agentes químicos podem atuar de forma progressiva, podendo os microrganismos auxiliar na desagregação tanto física quanto química das rochas. Desta forma o solo tem sua origem com a matéria prima dos sedimentos de rocha e matéria orgânica. Materiais rochosos são os principais agentes formadores do solo, destes é possível destacar três grupos: as Magmáticas (Granito, Basalto e Diabásio), as Metamórficas (Gnaiss, Quartzito e Xistos), e as Sedimentares (Arenito, Argilitos e Calcários) (WHITE, 2009).

A diversidade dos tipos de solo depende do material de origem e são classificadas em três grupos: *solos residuais*, que se desenvolve no mesmo local de origem, uma transição gradual da superfície até a rocha; *solos sedimentares* ou transportados que são os que estão em constante ação por agentes naturais, como aluvionares (transportados pela água), eólicos (vento), coluvionares (gravidade) e glaciares (geleiras) e *solos orgânicos*, onde a origem se da do material proveniente da natureza, vegetais e animais As características e propriedades das partículas sólidas podem ser definidas conforme sua forma, tamanho e textura, destacando as formas a) *Poligonais Angulares* (irregulares, areias, siltes e pedregulhos); b) *Poligonais*

Arredondadas (superfície arredondada, ação da água, seixo); c) *Lamelares* (argilosos, compressibilidade, plasticidade); d) *Fibrilares* (solos orgânicos) (OTTONI FILHO, 2003).

A constituição do solo também ocorre em duas fases, fluida e sólida (água e gases), as partículas de menor porte deixam espaços vazios entre si, esses espaços são preenchidos por gases e água, ativando os processos bioquímicos. A água presente no solo pode ser classificada como: a) *Água Higroscópica* (superficial úmido, acima do lençol freático, eliminada a temperaturas acima de 100°C); b) *Água Adsorvida* (água adesiva, película, envolve e adere às partículas de solos finos (argila), devido à ação de forças elétricas); c) *Água de constituição* (estrutura molecular da partícula sólida); d) *Água Capilar* (solos finos, vazios entre as partículas); e) *Água Livre* (excesso de água, abaixo do lençol freático, preenche os vazios entre as partículas sólidas) (TUNDISI, 2003; KOSHIMA, 1998).

A transformação do solo varia com a diversidade climática como temperatura e quantidade de precipitação. Em ambientes com características extremas como desertos, onde as temperaturas quentes e frios se revezam, e onde a água está ausente ou em estado sólido (gelo), existe a dificuldade ou impedimento da formação do solo. Logo existe a necessidade da água em estado líquido e temperaturas elevadas para acelerar a formação do solo. Em climas úmidos e quentes presentes nas regiões tropicais, as alterações climáticas podem favorecer a formação do solo pobre e profundo, o que resulta em baixa fertilidade e acidez (PRIMAVESI, 2002).

O relevo é um fator que interfere no desenvolvimento do solo, variações como plano inclinado ou abaciado podem levar ao acúmulo da água, infiltração e escoamento, que conforme a característica da formação geográfica pode resultar em áreas hidratadas, de erosão e banhados. Em relevos com geografia plana a infiltração da água é mais comum, favorece a formação de solos profundos, em relevos inclinados onde ocorre grande movimentação da água, favorece solos erosivos e com formação rasa, e em relevo abaciado sua formação é de grande absorção e acumulação da água, favorece as várzeas ou áreas alagadas, denominadas de solos hidromórficos (MINASNY; McBRATNEY, 2001).

Devido os solos terem origem rochosa diferentes e dependerem de temperatura e água para sua formação, o tempo de formação de um solo também acaba sendo uma variável, pois rochas mais frágeis são mais fáceis de serem intemperadas, enquanto rochas de material mais rígido são mais difíceis de apresentarem alterações, pois demanda um tempo maior para a formação do solo, como exemplo, solos derivados das rochas de quartzo, o inverso ocorrendo com solos derivados de rochas diabásio, ricas em ferro, onde ocorre a desagregação mais rápida (McKENZIE; BROW, 2004).

A presença de organismos vivos no solo como vegetais, insetos, minhocas, bactérias, fungos, etc, são fundamentais para o processo da formação do mesmo, sendo que estes organismos tem um papel importante como fonte de matéria orgânica que atuam na transformação dos minerais. A vegetação fornece nutrientes, protege contra erosões, fixa as raízes e dá cobertura ao solo (GALETTI, 1987). A fauna atua no transporte dos resíduos e trituração da parte superficial pertencente ao perfil externo, as bactérias e fungos realizam os processos microbianos, como matéria orgânica em húmus que representa a absorção dos nutrientes e da água. Além dos elementos da formação alguns processos favorecem a constituição do solo, como o processo da adição, onde existe a incorporação da matéria orgânica proveniente da decomposição dos organismos que vivem no solo, sendo estes organismos ricos em carbono e compõe a parte superior do solo (LIMA, 2001).

A perda de material é outro processo que faz parte da formação do solo, durante o desenvolvimento deste existe a perda da matéria na forma sólida devido a erosão e na forma de solução denominada de lixiviação. A água acumulada solubiliza os minerais que liberam químicos como cálcio, magnésio, potássio e sódio que são transportados para as águas subterrâneas no processo de lixiviação. A perda dos nutrientes explica a ocorrência de variações dos solos com baixa fertilidade, mesmo solos de origem de rocha rica em nutrientes e plantas podem ser de baixa fertilidade devida estas perdas (COSTA, 1991).

A formação do solo também se deve a ocorrência de reações químicas ocorridas com os minerais primários, por exemplo, nas rochas que tem ausência da argila, as cores expressivas como vermelho, amarelo são resultantes das reação e formação dos compostos óxidos a partir da liberação do ferro na alteração da rocha. Outro material que pode ser transformado são os vegetais, que quando se desprendem e fixam no solo, como folhas, galhos, frutos e flores, juntamente com as raízes mortas sofrem alterações devidas as ações dos organismos gerando como produto um composto estável que é o responsável pela aparência escura do solo (BIGARELLA; BECKER; PASSOS; RESENDE, 1999).

2.1.1 CONSTITUIÇÃO DO SOLO

Solos são formados por sucessões verticais e camadas horizontais, as ações conjuntas de processos e elementos que resultam na formação do solo é denominada de perfil do solo, sendo unidade básica e morfológica para as análises das camadas constituintes, ou análises químicas, físicas e mineralógicas.

A seção vertical tendo como início a superfície e indo até a rocha de origem pode conter variações de horizontes (camadas de constituição e formação do solo) devido aos processos pedogenéticos como: adições, transportes, transformações e perda (IBGE, 2007). Assim a representação do esquema do perfil de solo, onde se destaca suas principais camadas e horizontes são designadas por letras como O, A, B, C e R (Figura 1)

Figura 1 - Nomenclatura utilizada para definir o perfil do solo (horizontes).



Figura elaborada pelo autor, baseada em <http://brasilecola.uol.com.br/geografia/o-solo.htm>

O horizonte O (orgânico) é basicamente constituído por elementos da flora e fauna, como folhas, raízes, galhos, frutos e dejetos de animais depositados sobre o horizonte. Este tipo de solo é encontrado em florestas onde sua decomposição é mais acelerada.

O horizonte A localizado abaixo do O é formado pela interação e a incorporação da matéria orgânica e mineral, por ser um horizonte com baixa quantidade de matéria orgânica (máximo de 10%), é considerado mineral e de grande importância, pois é neste local que se desenvolvem as plantas e raízes, e por ser um horizonte superficial tem a função primária de receber poluentes (WHITE, 2009; BRADY, 2013).

A maioria dos horizontes A apresentam coloração escura devido à proporção da matéria orgânica existente, pois a decomposição dos elementos da fauna e flora é o principal processo da formação deste horizonte, isto se dá devido às características dos compostos mineralizados que formam material decomposto em húmus. A espessura deste horizonte pode ter grandes variações, pois dependerá do tipo da vegetação e do clima da região, onde locais de baixa precipitação apresentam espessura baixa, em decorrência da falta de vegetação. Já em locais onde a vegetação é abundante e o clima é frio a espessura pode atingir 1 metro.

Logo neste horizonte devido à presença de elementos orgânicos o solo se torna mais poroso, mais leve e menos duro, favorecendo o manejo e apresentando maior atividade biológica que os demais horizontes.

Abaixo do horizonte A encontramos o horizonte B, sua cor é resultante dos minerais de ferro e frações de argila, tendo como características a cor vermelha, amarela ou vermelho - amarela, a presença da matéria orgânica assim como a atividade biológica é menos intensa do que no horizonte A, podendo apresentar espessuras variadas de centímetros a metros, com variações da fertilidade (SANTOS, 2005). O horizonte C é composto por rocha intemperizada que se encontra em constante alteração, este horizonte apresenta manchas e grande diversidade de cores. A última camada do perfil é denominada de horizonte R, neste estágio a camada é representada pela rocha de origem, que ainda não sofreu alterações ou não foi intemperizada (LIMA, 2001).

A cor apresentada é outro fator resultante da constituição do solo, sendo considerada uma das propriedades morfológicas de maior importância, essas variações das cores de vermelho, amarelo, acinzentado ou preto é decorrente das variações dos materiais de origem e da sua posição geográfica, contendo tipos de matéria orgânica e mineralogia variada. A cor é a característica na diferenciação dos horizontes, facilita a classificação dos solos em campo. Outro fator que interfere na variação das cores do solo é a quantidade do material orgânico, quanto maior a quantidade do material orgânico mais escuro será o solo, podendo este ser um bom indicador da fertilidade e da quantidade da atividade microbiana, porém a quantidade excessiva da matéria orgânica pode indicar condições desfavoráveis na decomposição, assim como outras variáveis como a temperatura, disponibilidade de nutrientes, ausência do oxigênio e diversas outras atividades realizadas pelos microrganismos do solo, logo nem todo solo escuro é fértil e nem todo solo escuro é orgânico. O horizonte A é o mais escuro, porém neste predomina os minerais e depósitos da matéria orgânica fresca. Os demais horizontes minerais também apresentam material orgânico, porém em menor proporção, sendo assim horizontes localizados nas camadas B e C são caracterizados com cores mais claras que o horizonte A (IBGE, 2007).

A textura do solo é um fator importante da constituição do solo, suas classes de tamanho e das partículas individuais, ou frações granulométricas são classificadas de acordo com o seu diâmetro, a composição granulométrica permite classificar os componentes sólidos em classes conforme o diâmetro assim denominando as formações constituintes, como: matacão, calhau, cascalho, areia, silte e argila (Quadro1).

Quadro 1 - Classificação das frações granulométricas do solo.

FRAÇÃO GRANULOMÉTRICA	DIÂMETRO DAS PARTÍCULAS INDIVIDUAIS DO SOLO
Matacão	Maiores que 20 cm
Calhau	Entre 2 e 20 cm
Cascalho	Entre 2 mm e 2 cm
Areia	Entre 0,05 e 2 mm
Silte (ou “limo”)	Entre 0,002 e 0,05 mm
Argila	Menores que 0,002 mm

Fonte: EMBRAPA - (1999), - adaptada pelo autor.

Um dos materiais constituintes do solo são os pedregulhos, suas propriedades são parte de minerais de diâmetro máximo superior a 4,8 mm e inferior a 76 mm, suas características são baseadas em sua textura e capacidade de formações dos grãos. As areias também fazem parte da constituição do solo, sendo compostas por grãos minerais de diâmetro máximo superior a 0,05 mm e inferior a 4,8 mm, as suas características também são baseadas em sua textura e compacidade e forma dos grãos (COSTA, 1991). Em relação a textura, a areia pode ser grossa com grãos de diâmetro máximo compreendidos entre 0,05 e 2 mm; média com grãos de diâmetro máximo compreendida entre 0,42 e 2,00 mm e fina com grãos diâmetro máximo compreendido entre 0,05 e 0,42 mm. Quanto a compacidade podemos classificar a areia como: fofa (pouco compactada); medianamente compacta e compacta (MUNSELL, 1995).

O silte é outro tipo de formação do solo, o qual apresenta a coesão necessária para formação quando seco, são pequenos torrões desagregáveis, suas propriedades são constituídas pelos grãos minerais de diâmetro máximo superior a 0,002mm e inferior a 0,05mm (DAS, 2006). Em frações contendo principalmente a areia e silte e com porosidade suficiente é onde se encontram os minerais primários, estes atuam no fornecimento dos nutrientes para os vegetais e são retirados do solo após o processo de intemperização, esse processo faz parte da estrutura dos minerais que são liberados para a solução ou água ao solo (Quadro 2). Os minerais primários presentes no solo atuam como adubos naturais, liberando lentamente nutrientes aos vegetais.

Quadro 2 - Minerais primários e nutrientes dos minerais.

MINERAIS PRIMÁRIOS	NUTRIENTES DOS MINERAIS
Olivina	Mg, Fe, Cu, Mn, Mo, Zn
Piroxênio	Ca, Mg, Fe, Cu, Mn, Zn
Anfibólio	Ca, Mg, Fe, Cu, Mn, Zn
Biotita (mica preta)	K, Mg, Fe, Cu, Mn, Zn
Muscovita (mica branca)	K

Ortoclásio (feldspato potássico)	K
Plagioclásio (feldspato cálcico)	Ca, Cu, Mn
Apatita	P, Ca, Fe, Mg

Fonte: KIEHL, E. J. (1999), - adaptada pelo autor.

A argila do solo pode ser caracterizada pela plasticidade, umidade e por sua fácil moldagem, quando seca apresenta coesão dos torrões dificultando o desagregamento, devido suas características variáveis de texturas e consistências, as argilas podem ser identificadas quantitativamente em relação à distribuição granulométrica (CRISPIM, 2010).

Quanto à textura esta pode ser subdividida em: “gordas” ou “magras”; e quanto à consistência podem ser subdivididas em muito mole (vazas), mole, média, rija e dura. Não se devem confundir frações granulométricas com estruturas do solo, um torrão de solo não é uma partícula individual, mas sim uma estrutura composta por diversas partículas de diversos diâmetros de composições mineralógicas. A textura do solo refere se a quantidade relativa das frações com base nas suas proporções entre areia, silte e argila (Quadro 3).

Quadro 3 - Grupos textuais com base na proporção entre areia, silte e argila.

GRUPAMENTO TEXTURAL	DEFINIÇÃO
Muito argilosa	Solos com mais de 60% de argila
Argilosa	Solos com 35 a 60% de argila
Siltosa (ou “limosa”)	Solos com argila < 35% e areia < 15%
Média (ou “franca”)	Solos com menos de 35% de argila, mais de 15% de areia e que não sejam de textura arenosa
Arenosa	Solos com areia \geq 70% e sem argila; ou areia \geq 75% e argila < 5%; ou areia \geq 80% e argila < 10%; ou areia \geq 85% e argila < 15%

Fonte: EMBRAPA. (1999), - adaptada pelo autor.

A estrutura do solo é um conjunto de agregados ou torrões em estado natural, estes agregados possuem formações e tamanhos variados e resultam em agrupamentos das partículas primárias, areia, silte e argila, juntamente com outros componentes orgânico. As principais estruturas do solo podem ser divididas em quatro tipos, sendo estes: a) em forma de esferoide, sendo granular, grumosa (favorece a ocorrência de poros, comum no horizonte A); b) em forma de bloco (comum no horizonte B); c) em forma de prisma, sendo prismático e colunar; d) em forma de placa, sendo laminar. Outro fator de relevância na formação do solo é a interação entre os diferentes constituintes e o espaço dos poros existentes, onde é possível classificar em três fases distintas: a) fase sólida onde existe matéria orgânica e material mineral; b) fase gasosa com presença de ar (ocupação dos poros); c) fase líquida onde temos a água do solo (ocupação dos poros) (SANTOS, 2005).

Quanto a sua porosidade o solo pode ser definido de acordo com o volume que é ocupado pela fase líquida ou gasosa, sendo esta de extrema importância na constituição deste solo, uma vez que, é onde se armazenam e movimentam as soluções líquidas e gasosas importante para o desenvolvimento dos vegetais, devido estes crescerem ocupando os espaços porosos do solo, assim como a porosidade garante o fluxo da entrada do oxigênio e saída do gás carbônico (TORMENA; BARBOZA; COSTA; GONÇALVES, 2002). Em solos alagados todos os poros são ocupados pela água, em solos secos os poros são ocupados pelo ar, em caso de compactação pode ocorrer efeito direto que reduz os poros diminuindo as infiltrações da água e penetração do oxigênio. Tanto macroporos como os microporos são ocupados quando são inundados pelo excesso da água e após algumas horas toda a água é drenada ou encaminhada para o lençol freático. A água que não é encaminhada permanecem nos microporos e são disponibilizadas para os vegetais e demais organismos do solo. A condição ideal do solo é dada de acordo com a sua capacidade de umidade e retenção, desta forma seus poros ficam ocupados pela água ou pelo ar, o que garante a respiração do sistema radicular dos vegetais (GONÇALVES, 2002).

Com a absorção da água pelas plantas e o processo da evaporação, o solo vai perdendo a umidade gradativamente e os espaços vagos dos microporos vão sendo ocupados pelo ar. A hidratação do solo é fundamental para o preenchimento dos poros evitando desta maneira a morte dos vegetais e o oxigênio que circula nestes poros auxiliam no equilíbrio do sistema radicular evitando o apodrecimento das raízes. Nos macroporos a presença do ar tem a função de reduzir a erosão do solo, pois através dos espaços dos macroporos preenchidos com o oxigênio ocorre a drenagem do excesso da água para o lençol freático. Em solos pouco macro poros a drenagem pode sofrer alterações, o escoamento do excesso hídrico na superfície pode não infiltrar, o que resulta na perda de partículas sólidas contendo matéria orgânica e mineral pela lixiviação (KIEHL, 1995).

A classificação, identificação e mapeamento do solo tiveram início no Brasil na década de 1950, resultando com o atual Sistema Brasileiro de Classificação de Solos (Quadro 4).

Quadro 4 - As 13 ordens de solo do Brasil, conceitos, região, ocorrência, qualidade e limitações ao uso agrícola, ambiental e urbano.

CLASSES (ORDEM)	ELEMENTO FORMATIVO	SIGNIFICADO	TERMOS DE CONOTAÇÃO
Neossolo	Neo	Do latim “NOVO”	Solo em início de formação
Vertissolo	Verti	Do latim vertere “inverter”	Solos com capacidade de contração e expansão. Grande número de fendas, quando seco.
Cambissolo	Cambi	Do latim cambiare “mudança”	Solo com horizonte B Mudança em estágio inicial de formação

Chernossolo	Cherno	Do russo, “cor preta”	Solos com horizonte A, preta escuro e rico em nutrientes (Ca, Mg, K)
Luvissolo	Luvi	Do latin luvi “saturado”	Elevada quantidade nutrientes (Ca, Mg, K), acúmulo de argila horizonte B
Argissolo	Argi	Derivado de argila	Solos com acúmulo de argila no horizonte B.
Nitossolo	Nito	Derivado de nitidus, “nítido”	Solos com os Agregados do horizonte B exibindo superfícies brilhantes
Latossolo	Lato	Do latim later “tijolo”	Solo muito intemperizados, velhos e profundos
Espodossolo	Espodo	Do russo spodo, Cinza	Solos arenosos com acúmulo de matéria orgânica e compostos de alumínio/ferro no horizonte B
Planossolo	Plano	Plano, solo de relevo plano	Solos com excesso de água e com horizonte B adensado
Plintossolo	Plinto	Derivado de plintita	Presença de plintita (material rico em ferro)
Gleissolo	Glei	Do russo “cor cinzenta”	Solos com cores cinzenta acinzentadas
Organossolo	Organo	Derivado de orgânico	Altos teores de matéria orgânica

Fonte: EMBRAPA (2006), - adaptada pelo autor.

Assim a classificação do solo é definida por suas características morfológicas, químicas, físicas e mineralógicas, tendo como apoio um sistema taxonômico organizado, onde a constituição da unidade é fundamental nas relações solo/paisagem, uma classe de solo correspondera a cada nível hierárquico dos sistemas taxonômicos (IBGE, 2007). Classificar os solos possibilita a conhecer quais qualidades e limitações dos solos em todo país, limitações entre municípios e estados, também a troca de informações técnicas, que são possíveis de prever comportamentos e elementos, podendo identificar o manejo adequado para cada região.

2.1.2 MICROBIOLOGIA DO SOLO

A microbiologia do solo nos últimos anos evoluiu representativamente como ciência, isto se deu devido à descoberta de diversos microrganismos presentes no mesmo, assim como novas possibilidades de atividades e relações ao ambiente que permitam realizar processos produtivos e regenerantes (ARAÚJO, 2007). A pesquisa da microbiota do solo busca o entendimento e a funcionalidade microbiana permitindo o manejo adequado e integrado a fatores de produtividade com a função de se manter sustentável. A microbiota do solo e suas funções envolve a preservação das águas, sequestro de substancias, desenvolvimento de culturas e qualidade ambiental. O solo e suas características são vitais para os ecossistemas terrestres, são representados por frações líquidas gasosas e sólidas, sendo estas frações compostas por água, matérias dissolvidas, gases atmosféricos, minerais, macro/microrganismos metabólicos e matéria orgânica (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006).

As primeiras camadas do solo onde se encontra a maior concentração das atividades biológicas, com profundidade entre 1 a 30 cm é onde os microrganismos desenvolvem diversas funções essenciais para um bom funcionamento do solo, como liberação de nutrientes, decomposições orgânicas, degradação de substâncias tóxicas, formações simbióticas, controle biológico de patógenos, solubilização de minerais, estruturação e agregação do solo. (ALEXANDER, 1982). O solo apresenta derivações microbiológicas e essas derivações podem sofrer com alterações abióticas e delimitar ou eliminar microrganismos ativos do solo, como; temperatura, pH, substratos, salinidade, nutrientes e substâncias tóxicas. Outro fator são os impactos antropogênicos, como manejo inadequado, cultivo da monocultura, mecanização, falta de vegetação nativa e solo exposto. A temperatura também é um desafio, pois pode alterar diretamente a fisiologia e indiretamente as mudanças no ciclo nutricional e qualidade da água.

É possível classificar os microrganismos no solo em relação a temperatura ótima para desenvolvimento, seu tipo de atividade e seu crescimento, uma das classificações utilizadas é a estabelecida por Van Elsas (2006), a qual considera a temperatura (Quadro 5). A interferência da temperatura pode influenciar processos importantes, como exemplo a amonificação e a nitrificação que são processos importantes no ciclo do N e podem ser afetados devido a alteração de temperatura do solo.

Quadro 5 - Classificação dos microrganismos em relação a temperatura.

Classificação	Faixa de tolerância (°C)	Temperatura ótima (°C)
Psicrófilo	5 a 20	15
Mesófilo	15 a 45	37
Termófilo moderado	40 a 70	60
Termófilo extremo	65 a 95	85

Fonte: Van Elsas et al. (2006), - adaptada pelo autor.

Em relação ao pH os microrganismos podem ser classificados em Insensitivos ou indiferentes (toleram uma ampla faixa de pH), Neutrófilos (não toleram acidez ou alcalinidade), Acidófilos (crescem melhor em condições ácidas) e Basófilos (crescem melhor em condições alcalinas) (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006). Segue valores de pH críticos para microrganismos e processos microbiológicos e bioquímicos (Quadro 6).

Quadro 6 - *Valores correspondentes ao pH ideal do solo.*

PROCESSO	Ph	MICROORGANISMO
Nitrificação Nodulação	↑ 5.5	Dexia, azotobacter Bactérias em geral Glomus moscas rizopogon Streptomyces scabies
Desnitrificação Micorrizas asbusculares	 4.0	Rhizobium Fungos MA Estrutura de comunidade
Decomposição Amonificação Respiração do solo	 3.0	Bradyrhizobium Beijerinkia Fungos ectomicorrizicos
Fermentação láctica Enzimas do solo Formação de piritita Oxidação do enxofre		Pisolithus tinctorius Timbacillus sp Acetobacter diazotrophicus Autotróficos oxidantes

Fonte: Moreira e Siqueira (2006), - adaptada pelo autor.

A influencia do pH pode resultar na toxicidade de nutrientes minerais como Fe (Ferro), Mn (Magnésio) e Al (Alumínio), assim como alterar e danificar a microbiota do solo.

Os componentes orgânicos ou substrato presente no solo podem fornecer energia ao mesmo, o que favorece inúmeras atividades e pode acelerar os processos na microbiota, assim como estimular a recuperação e o equilíbrio, porém a utilização excessiva de compostos orgânicos xenobióticos podem acarretar diversas situações contrárias resultando na perda da qualidade dos microrganismos e interferências nos processos biológicos do solo (LEITE, 2007).

Na microbiota do solo a atividade predominante é a heterotrófica ocorrendo variações na velocidade da decomposição em relação a complexidade da cadeia carbônica, assim alguns substratos tem em sua composição uma característica da cadeia de carbono complexa, ao contrario de substratos com contendo proteínas e glicose, que apresentam cadeia carbônica mais simples, onde as atividades da decomposição são mais aceleradas (FRANCHINI; CRISPINO; SOUZA; TORRES; HUNGRIA, 2007).

Outro fator importante é analisar as concentrações de Nitrogênio (N) e polifenóis, a relação entre lignina/N ou polifenóis/N presente no material vegetal pode aumentar a taxa de decomposição, mas pode diminuir a disponibilidade de Nitrogênio a curto prazo. Sendo assim, o conhecimento dos processos microbianos e da composição química dos substratos pode ser essencial para determinar ações para manutenção da qualidade do solo (AMADO; BAYER; ELTZ; BRUM, 2001).

Os diferentes nutrientes minerais existentes no solo acabam fazendo com que este seja um reservatório natural, no qual os microrganismos podem realizar diferentes reações

metabólicas para a manutenção dos ciclos biogeoquímicos (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006). As atividades antrópicas são um grande gerador de modificações físicas e químicas do solo, atividades como adubação, calagem, plantio convencional, monocultura, exposição do solo e o desmatamento podem causar impactos na microbiota e afetar as atividades microbianas alterando a funcionalidade a capacidade da resiliência e a sustentação do solo (ARAÚJO; MONTEIRO; CARVALHO, 2007). Alterações químicas e orgânicas podem aumentar a atividade microbiana, mas a alta concentração destes pode interferir na nodulação, fixação biológica do nitrogênio e micorrização. (ARAÚJO et al. 2001; XAVIER et al., 2006). Informações sobre a microbiota do solo é essencial para obtenção de informações sobre decomposição, regulação dos fluxos de matéria e energia, dinâmica dos nutrientes, entre outros (BALOTA; COLOZZI-FILHO; ANDRADE; HUNGRIA, 1998).

O trabalho dos microrganismos (bactérias, fungos e algas) é de processar os nutrientes, acelerar a decomposição orgânica, ciclagem de nutrientes e energia, produção de húmus, fixação de nitrogênio, produção de composto para a agregação do solo, decomposição de xenobióticos e controle biológico (PELCZAR JR, 1997). Na microbiota é onde se encontra a maior diversidade de elementos relevantes e complexos e de natureza dinâmica e heterogênea, porém esta heterogeneidade resulta em limitações no momento da identificação, o que pode ser resolvido com auxílio da Biologia Molecular, a qual permite análises mais específicas entre as interações que ocorrem entre microrganismos e processos bioquímicos (ARAÚJO; BURITY; LYRA, 2001).

Um exemplo de interação existente são as micorrizas-Rhizobium que auxiliam as plantas na absorção energética, nodulação e fixação de nitrogênio. Plantas micorrizadas absorvem o P do solo no processo de fixação. Outro exemplo são Bacillus, Pseudomonas e o Rhizobium que produzem efeitos positivos de nodulação, fixação de N e crescimento das plantas, o *Bacillus subtilis* favorece o arranjo simbiótico do rizobio inibindo fitopatógenos. As interações e associações proporcionam um rápido desenvolvimento e favorecem a regeneração, estruturação e equilíbrio (TOKESHI, 2000). Interações microbianas do solo podem ser classificadas conforme os organismos participantes sendo microrganismo-microrganismo, microrganismo-plantas e microrganismo-outros organismos (ARAÚJO; BURITY; LYRA, 2001) (Quadro 7).

Quadro 7 - Diferentes tipos de interações existente entre diferentes microrganismos.

Microrganismo	Interação	Tipo	Exemplo
Bactéria	Bactéria	Comensalismo	Rhizobium / Bacillus
Bactéria	Fungo	Amensalismo	P. fluorescens sobre bactéria

Bactéria	Planta	Simbiose	Rhizobium e leguminosas
Bactéria	Planta	Parasitismo	Agrobacterium formando tumor em raízes
Bactéria	Planta	Promoção de crescimento	Rizobactéria promotoras de crescimento em plantas
Fungo	Bactéria	Predação	Fungos usando bactérias como nutrientes
Fungo	Fungo	Amensalismo	Tricoderma antagonista de outro fungo
Fungo	Planta	Patogênico	Fungos causadores de doenças
Fungo	Planta	Simbiose	Micorrizas

Fonte: EMBRAPA, (2007), - adaptada pelo autor.

As interações bacterianas favorecem o desempenho simbiótico e podem inibir fitopatógenos e fitormônios, assim a associação de microrganismos de maneira geral acelera o desenvolvimento vegetal e proporciona rápido desenvolvimento dos agroecossistemas e consequentemente a recuperação da qualidade ambiental do solo (DORAN; JONES, 1996, EMBRAPA, 2007).

2.1.3 ELEMENTOS NUTRICIONAIS DO SOLO

Os solos brasileiros apresentam capacidade de troca de cálcio (CTC) reduzida, pH baixo, camada arável mais arenosa que o subsolo e uma laje agregada abaixo da superfície, isto dificulta a produtividade e as reações químicas para a recuperação estrutural dos minerais. Mas a utilização de matéria orgânica ou calagem podem modificar a CTC e pH variando a disponibilidade de nutrientes para o solo (RAIJ; ANDRADE; CANTARELLA; QUAGGIO, 2001), pois uma vez alterada a quantidade de íons de hidrogênios (H^+) dissociados ou livres, quanto mais íons livres, maior acidez, assim como exemplo, um solo ácido possui muitos íons H^+ e poucos íons de cálcio (Ca^{++}), magnésio (Mg^{++}), potássio (K^+) e sódio (Na^+) absorvidos em seu complexo coloidal ou de troca.

O solo com excesso de acidez pode apresentar uma estrutura com maior deficiência, como menos oxigênio, menor capacidade de retenção de água, menos matéria orgânica, menor chance de penetração das chuvas. O solo ainda pode apresentar características pobres, mas se tiver uma boa bioestrutura e os vegetais estiverem em equilíbrio com o meio isso pode resultar uma boa absorção dos nutrientes minerais. (PRIMAVESI, 2002; MOREIRA; SIQUEIRA, 2006).

Um elemento nutricional essencial para o desenvolvimento das plantas é o nitrogênio, que chega ao solo através do ar ou adubação, mas a dispersão natural deste elemento ocorre principalmente pelas chuvas tropicais onde podem acrescentar ao solo cerca de 50 Kg/ha de nitrogênio ao ano (AITA, 1997). A fixação de nitrogênio por microrganismos simbióticos ou

moduladores é de alta relevância para o desenvolvimento dos vegetais e também para a restauração da bioestrutura do solo (PEOPLES; HERRIDGE, 2000).

Outro elemento nutricional para o solo é o fósforo, sem o qual não existe desenvolvimento dos vegetais, este elemento geralmente está ligado aos compostos do solo podendo ocorrer em diversos formatos como de humatos que são restos e sobras de vegetais e animais biodegradados que passaram pelo processo de fermentação em baixo da superfície do solo criando uma composição de moléculas e minérios orgânicos complexos com maior capacidade de fornecer o desenvolvimento vegetal e agregação das partículas, pois se trata de um composto natural com boa compatibilidade entre solo e plantas (CORRÊA; MAUAD; ROSOLEM, 2004). O manejo adequado para manter o nutriente fósforo disponível é conservar a bioestrutura grumosa e que obtenha uma característica arejada no solo e também a incorporação de matéria orgânica de forma periódica, pois sua humificação pode aumentar a ligação do fósforo em forma de humatos e o manejo indicado é a incorporação da matéria orgânica seca, palhas, folhas e restos orgânicos à superfície do solo (RHEINHEIMER; ANGHINONI, 2001).

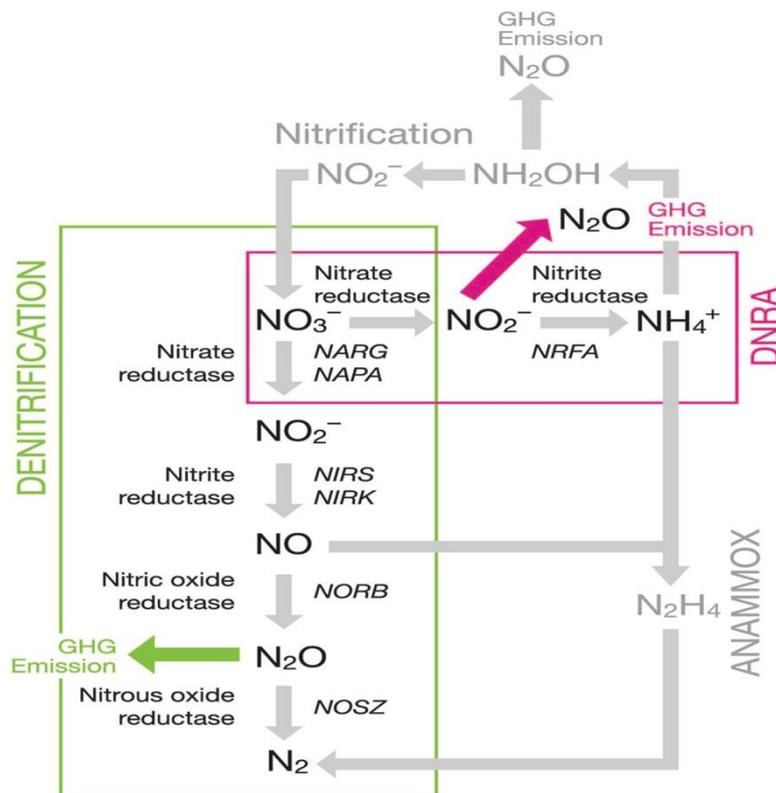
O potássio está presente nos solos brasileiros em quantidades elevadas. Nos períodos quentes e úmidos sua absorção é maior devido a sua melhor difusão no solo. Em solo arável e nas estações secas e frias sua absorção é menor ocorrendo uma deficiência deste nutriente principalmente em solos ácidos. Este nutriente é um dos elementos que permite o aumento a resistência dos vegetais contra diversas doenças e propõe o aumento da respiração fazendo com isso a absorção de outros nutrientes, favorecendo para a viscosidade maior do plasma celular na catalisação de sua formação. Sendo assim o desenvolvimento vegetal depende exclusivamente da riqueza de potássio do solo (PRIMAVESI, 2002).

O enxofre é outro nutriente importante, pois é necessário para a produção dos aminoácidos essenciais como cistina, cisteína e metionina, uma parte do enxofre é encontrado nos minerais do solo e a outra é proveniente de matéria orgânica onde são transportados pelas águas da chuva (BISSANI; TEDESCO, 1988). Em solo grumoso o enxofre apresenta-se na forma oxidada, em solo anaeróbico este apresenta-se em forma mais reduzida que é tóxica aos vegetais. A quantidade é variável dependendo das condições do solo como pH, composição mineralógica, teor de matéria orgânica, drenagem e profundidade do perfil. As variações também dependem do local e da época do ano, pois grande parte do enxofre se perde pela lixiviação (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006).

Entre as diversas comunidades que compõem a microbiota estão as bactérias que são responsáveis pela ciclagem do nitrogênio, as quais são consideradas umas das mais

importantes, uma vez que são responsáveis por permitir que o nitrogênio atmosférico seja assimilado por outros organismos. O ciclo do nitrogênio possui três etapas principais (Figura 2), as quais devem sempre se manter em equilíbrio: a fixação - onde o nitrogênio gasoso é convertido em amônia (NH_3); nitrificação - etapa seguinte onde a amônia é oxidada a nitrito (NO_2) e em seguida a nitrato (NO_3) e por fim a denitrificação - onde parte do nitrato volta em sua forma de nitrogênio atmosférico. Durante as etapas de nitrificação e a denitrificação são liberados óxido nítrico (NO) e óxido nitroso (N_2O) (SINGH; KUNDU, 2014).

Figura 2 – Ciclo do nitrogênio e os genes bacterianos responsáveis pela produção de enzimas em cada uma das fases.



Fonte: Giles et al., 2012

A caracterização da microbiota do solo é complexa, tanto devido a sua grande diversidade como a dificuldade da obtenção de microrganismos utilizando culturas in vitro, fatos que acabam sendo um obstáculo para a realização de pesquisa nesta área (VAN ELSAS, 2004). Desta forma a biologia molecular surge como uma solução para este problema, pois possibilita a identificação de genes específicos identificados diretamente de microrganismos do solo.

A técnica de qPCR já é utilizada para identificação e quantificação de comunidades microbianas do solo e como estas são afetadas por diferentes fatores. (FIERER *et al*, 2005; LINDSAY *et al*, 2010; SCHMIDT *et al*, 2013). Em relação ao estudo de genes relacionados

às bactérias responsáveis pelas diferentes etapas do ciclo do nitrogênio são encontrados alguns estudos, onde diferentes tipos de fatores como por exemplo, fertilizantes, espécies de plantas e herbicidas são avaliados em relação à alteração que causam em cada etapa do ciclo (HAI *et al*, 2009; MAO *et al*, 2012; HERNANDEZ *et al*, 2011; MARUYAMA *et al*, 2016).

3 OBJETIVO

3.1 OBEJTIVO GERAL

O presente estudo tem como objetivo principal a avaliação da microbiota do solo em diferentes estratos com uso e ocupação distinta.

3.2 OBJETIVO ESPECÍFICO

- Levantamento da paisagem e avaliação das relações com o uso e a ocupação do solo.
- Análises químicas das amostras coletadas do solo nos diferentes estratos.
- Avaliação molecular da microbiota do solo por qPCR (Reação em Cadeia da Polimerase em tempo real) utilizando primers específicos para genes responsáveis pela síntese de enzimas que participam do ciclo de nitrogênio.

4 MATERIAL E MÉTODO

4.1 IDENTIFICAÇÃO DA ÁREA E CARACTERÍSTICA DO MEIO FÍSICO

O local escolhido para a realização do trabalho é o Centro de Estudos e Práticas Agrícolas que pertence à Fundação Dom Aguirre e está localizada no endereço Rodovia Raposo Tavares, km 92,5, Avenida Bandeirantes, Vila Artura no município de Sorocaba, SP. A sua localização geográfica tem como coordenadas UTM; 256057.63 E, 7399345.26 S e altitude média de 591,23 metros em uma área total de 77 hectares.

A área pertenceu a Família Berger, onde a fazenda produzia milho, feijão, uva, rosas, gado e queijo. Também havia uma destilaria onde hoje está localizado o Núcleo de estudos Ambientais e o galpão utilizado pelo curso de Agronomia, que no passado também foi utilizado como uma retífica de motores para testes do motor de Corcel I da Ford. A área foi adquirida pela Fundação Dom Aguirre no ano de 1997 e em meados de março de 1998 se deu o início da construção da cidade universitária. Informações cedidas pelo engenheiro civil Dawilson Menna Junior, responsável pelo setor da engenharia e administrativo da Fundação Dom Aguirre e pelo estagiário do curso de Agronomia, Zenoque Ribeiro estagiário do Centro de Estudos e Práticas Agrícolas.

A região se localiza entre os limites de rochas sedimentares paleozóicas da Bacia Sedimentar do Paraná, apresenta rochas de antigos ambientes periglaciais, continentais a transicionais, compreendendo arenitos, siltitos, diamictitos e rochas do embasamento cristalino Neoproterozóico como metassedimentos e granitos (IBGE, 2016). O relevo apresenta características de ondulado que é uma superfície de topografia relativamente movimentada, constituída por conjunto de medianas colinas formando pequenos vales encaixados com encostas e declives entre 8% até 20% (IBGE, 2016).

A altitude média é de 580 metros em relação ao nível do mar. A geomorfologia denominada de Depressão Periférica Paulista, essa característica se deve a sua formação limite entre o Planalto Atlântico onde há o domínio de rochas cristalinas com relevos mais elevados e as rochas da Bacia Sedimentar do Paraná com topografia ondulada e altitudes mais baixas (IBGE, 2016). A Região do município de Sorocaba apresenta um clima subtropical, segundo a classificação Köppen e Geiger o clima é Cwa, clima temperado húmido com verão quente, a temperatura média é 22.1 °C e 1311.2 mm da pluviosidade média anual (CEPAGRI-UNICAMP, 2018). A caracterização vegetal é classificada como Floresta Estacional Semidecidual em sucessão ecológica secundária em estágio médio de regeneração do bioma

Mata Atlântica. A principal característica da floresta semidecidual é o desprendimento das folhas, a porcentagem das árvores caducifólias no conjunto florestal, é de 20-50%. (IBGE, 2016).

4.2 AVALIAÇÃO DA PAISAGEM E COLETA DAS AMOSTRAS DO SOLO

As áreas definidas para a coleta das amostras do solo foram duas áreas de fragmentos florestais contendo espécies nativas (Floresta Atlântica semidecidual), uma área com agricultura ativa (área experimental para agricultura), no momento do estudo contendo o cultivar do Milheto (*Pennisetum glaucum*) e uma área de pasto desativado. As áreas encontram-se localizadas no Centro de Estudos e Práticas Agrícolas, na Propriedade pertencente à Fundação Dom Aguirre.

A avaliação da área foi realizada através de incursões ao longo de toda a propriedade onde foi utilizado o método da Avaliação Ecológica Rápida e o Wide Patrolling “varredura” (método de amostragem da paisagem que visa coletar dados qualitativos utilizando o “caminhamento”) (RATTER, 2003). Também foi realizada uma pesquisa exploratória junto aos colaboradores ativos do Centro de Estudos e Práticas Agrícolas (Uniso).

Para a realização do levantamento dos dados foram utilizadas planilhas de campo, GPS (E-Trex/10) e câmera fotográfica. Para as coletas das amostras dos solos foram utilizados balde plástico, sacho, trado holandês e sacos plásticos limpos. Para o armazenamento das amostras para as análises do DNA do solo foram utilizados tubos tipo “eppendorf” de 2 ml. A coleta seguiu padrão específico para que não ocorresse o comprometimento das amostras. As coletas ocorreram em um único dia (21/07/2016), pela manhã (início às 9h) de um dia apresentando características de ensolarado com temperatura média de 29° e umidade relativa do ar em 55%.

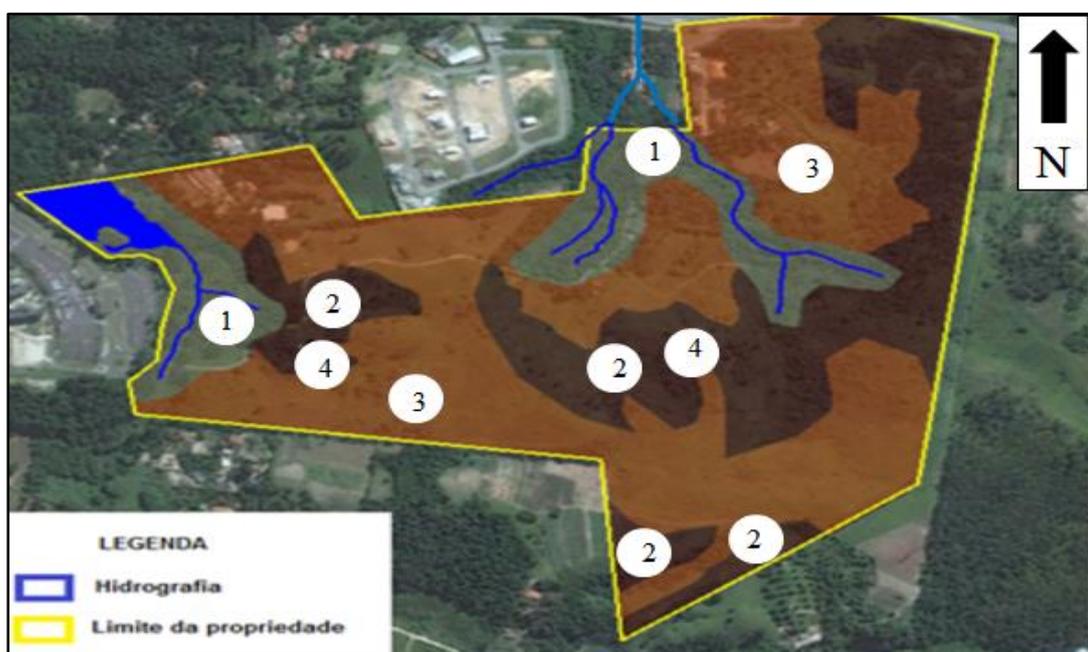
As áreas amostradas foram divididas em quatro estratos distintos e o procedimento utilizado foi a coleta simples em sistema de zigzague em cada ponto das glebas, em cada gleba foram coletadas 5 amostras com profundidade de 20cm e posteriormente todas as 5 amostras foram misturadas em um balde plástico limpo, uma vez existindo uma amostra composta de cada gleba foram retirados aproximadamente 300g de solo e seguidas de identificação. Todas as amostras foram devidamente embaladas, identificadas e juntamente com um breve histórico da área. Para a coleta foram removidas da superfície do solo as folhas, gravetos e demais resíduos que possam comprometer a qualidade das amostras. Posteriormente a coleta as amostras foram enviadas para o Laboratório Instituto Brasileiro de Análise (IBRA), localizado no município de Campinas, SP. e as amostras destinadas às

análises microbiológicas foram enviadas para o Laboratório de Avaliação de Bioatividade e Toxicologia de Nanomateriais (Labiton) da Uniso.

4.3 DIVISÕES DOS EXTRATOS DO SOLO E O USO/OCUPAÇÃO.

Abaixo segue as figuras com indicações das áreas em relação à classificação do solo (Figura 3) e a atual utilização da área (Figura 4). Figuras cedidas pelo Engenheiro Florestal Ms. Felipe Quartucci. Segundo o Professor Felipe Quartucci estas figuras são os resultados da classificação do solo e do uso ou ocupação da área do Centro de Estudos e Práticas Agrícolas (Uniso). Este levantamento foi realizado pelo próprio Professor Felipe Quartucci no ano de 2016.

Figura 3 – *Figura indicando a classificação do solo do Centro de Estudos e Práticas Agrícolas (Uniso, 2016).*



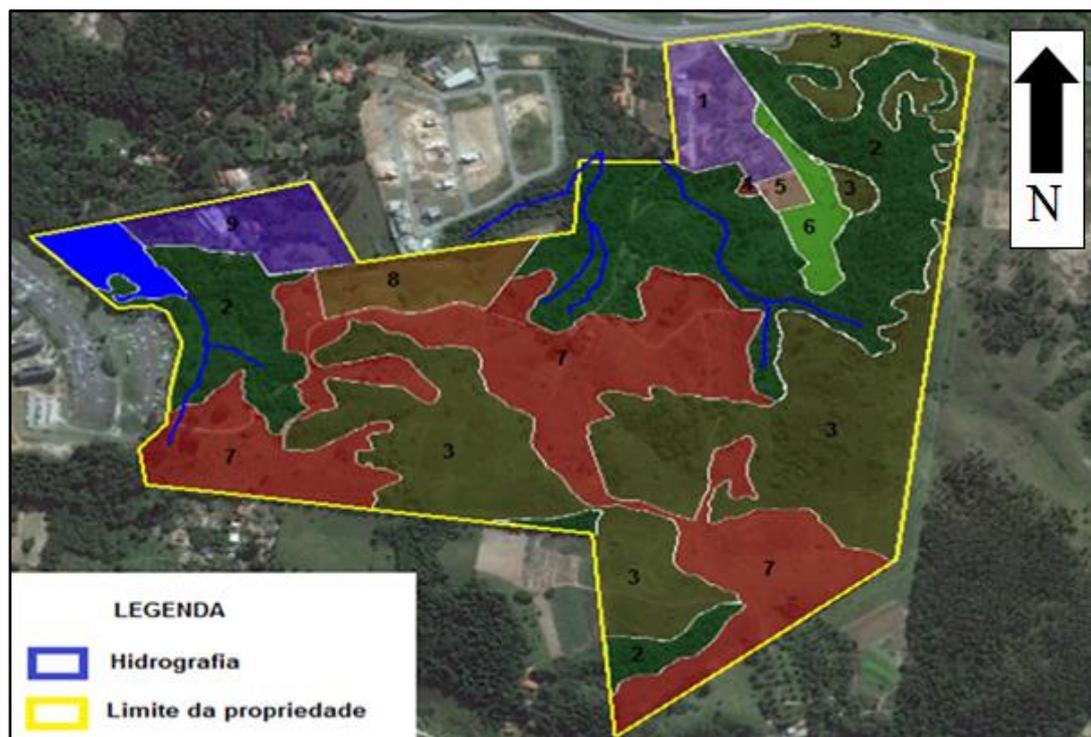
Fonte: Professor Felipe Quartucci, Uniso – 2016.

Tabela 1 - *Tabela indicando a classificação do solo Centro de Estudos e Práticas Agrícolas (Uniso, 2016).*

Figura 4	Descrição
1	Gleyssolo háplicos, eutrofico típico
2	Cambissolo háplico, eutrofico típico
3	Argissolo vermelho, amarelo eutrofico
4	Neossolo

Tabela 1- adaptada pelo autor.

Figura 4 – Figura indicando o uso ou a ocupação do solo do Centro de Estudos e Práticas Agrícolas (Uniso, 2016).



Fonte: Professor Felipe Quartucci, Uniso – 2016.

Tabela 2 - Tabela indicando o atual uso e a ocupação da área.

Figura 4	Descrição	Área total (hectare)
1	Núcleo de estudos ambientais	2,7
2	Vegetação Nativa-estágio médio	21,32
3	Gramíneas	24,64
4	Pomar – frutíferas diversas	0,07
5	Área da agricultura experimental	0,33
6	Gramíneas –	1,54
7	Pasto isolado – desativado	20,85
8	Pasto – ativo	2,54
9	Hospital veterinário	2,95

Tabela 2 - adaptada pelo autor.

Para melhor identificação do local das coletas das amostras utilizadas neste trabalho foi montada a Figura 5, a qual identifica as áreas de coleta utilizando o DataGeo, ano 2018.

Figura 5 – Figura indicando os locais das coletas das amostras do solo em diferentes estratos do Centro de Estudos e Práticas Agrícolas (DataGeo, 2018).



Fonte: DATAGEO/SP (2018), adaptada pelo autor.

4.4 ANÁLISE MOLECULAR DO SOLO

4.4.1 EXTRAÇÃO DE DNA

As extrações de DNA das amostras de solo foram realizadas por meio do kit *Power Soil® DNA Isolation Kit* (MoBio Laboratories), utilizando o protocolo fornecido pelo fabricante e foram mantidas a -20°C .

4.4.2 QUANTIFICAÇÃO DE DNA

Após a extração do DNA foi realizada a quantificação do material genético utilizando o kit *Qubit dsDNA BR Assay Kit* (Invitrogen) e o equipamento (Qubit 3.0 Fluorometer). Em seguida todas as amostras foram diluídas a uma concentração final de DNA total de 100 ng/mL.

4.4.3 ANÁLISE POR qPCR DA MICROBIOTA DO SOLO – AVALIAÇÃO QUANTITATIVA

Para a quantificação dos diferentes tipos de bactérias foram realizadas análises de quantificação de genes específicos encontrados em bactérias importantes no ciclo do nitrogênio. Como gene de referência para as análises foi utilizado o gene bacteriano *16SrRNA* e para as análises quantitativas específicas os genes *nifH*, da fixação do nitrogênio, *nirK*, *nirS* e *narG*, do primeiro estágio da desnitrificação, e *cnorB* e *nosZ*, do segundo estágio da desnitrificação. Para a avaliação quantitativa foram realizadas reações em cadeia de polimerase em tempo real (qPCR), sendo as amostras e genes avaliados em triplicata no equipamento termociclador *StepOnePlus SYSTEM*. Os primers que foram utilizados são mostrados na Tabela 3.

Tabela 3 - *Primers utilizados para a quantificação de genes específicos no qPCR (JUNG et al 2011, 2012).*

Gene	Primers	Sequência	Pb	Referência
<i>16S rRNA</i>	341F 534R	5' CCTACGGGAGGCAGCAG 3' 5' ATTACCGCGGCTGCTGGCA 3'	193	Watanabe et al., 2001
<i>Nitrogenase reductase;</i> <i>nifH</i>	nifH-F nifH-Rb	5'AAAGGYGGWATCGGYAARTCCACCAC 3' 5'TGSGCYTTGTCTCRGGATBGGCAT 3'	400	Rösch e Bothe, 2005
<i>Nitrito reductase;</i> <i>nirK</i>	nirK 1F nirK 5R	5'GGMATGGTKCCSTGGCA 3' 5'GCCTCGATCAGRTTRTGGTT 3'	514	Braker et al., 1998
<i>Nitrito reductase;</i> <i>nirS</i>	nirS cd3A-F nirS R3cd	5'G TSAACG TSAAGGARACSGG 3' 5'GASTTCGGRTGSGTCTTGA 3'	425	Throback et al., 2004
<i>Nitrato reductase;</i> <i>narG</i>	W9 T38	5'MGNGGNTGYCCNMGNGGNGC 3' 5'ACRTCNGTYGTYCNCCCCA 3'	442	Gregory et al., 2000
<i>Nitrato reductase;</i> <i>cnorB</i>	cnorB-2F cnorB-6R	5'GACAAGNNNTACTGGTGGT 3' 5'GAANCCCCANACNCCNGC 3'	389	Braker e Tiedje, 2003
<i>Óxido nítrico reductase;</i> <i>nosZ</i>	nosZ-F nosZ-R	5'CGYTGTTCMTCGACGCCAG 3' 5'CGSACCTSTTGCCSTYGCG 3'	453	Kloos et al., 2001

Fonte: JUNG et al 2011, 2012.

As reações foram realizadas com um volume final de 25 µL contendo: 12,5 µL de *Planium® SYBR® Green qPCR SuperMix-UDG with ROX (Invitrogen)*; 1 µL de *primer* sense; 1 µL de *primer* anti-sense; 1 µL da amostra de DNA e quantidade de água ultra pura autoclavada para completar o volume final de 25µL. As condições utilizadas para a amplificação foram descritas por Jung et al. (2011), tendo como fase de desnaturação inicial a 95°C durante 3 minutos, acompanhado de 40 ciclos seguintes de 95°C durante 45 segundos, 60°C durante 45 segundos e 72°C durante 45 segundos. No fim de cada incubação a 72 °C foi medida a fluorescência.

Para a quantificação relativa do DNA foi utilizado como gene referência o *16srRNA* e como amostra controle realizou-se uma extração de DNA de uma amostra padrão de vegetação nativa de floresta, esta amostra no experimento é atribuída com valores 1 e todas as demais amostras são quantificadas tendo este como referência.

O cálculo utilizado foi a quantificação por $\Delta\Delta Ct$, onde foi construída uma curva de calibração para cada gene analisado e confirmado que os experimentos obtiveram slope entre -2,9 e - 3,4, sendo r^2 próximo a 1, o que garante a qualidade e confiança no experimento. Para o cálculo foi utilizado $2^{-(\Delta Ct \text{ gene de interesse} - \Delta Ct \text{ gene } 16SrRNA)}$ onde $\Delta Ct \text{ gene de interesse} = Ct \text{ tratamento} - Ct \text{ controle}$ e $\Delta Ct \text{ gene } 16SrRNA = Ct \text{ tratamento} - Ct \text{ gene } 16SrRNA$.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 RESULTADOS DAS ANÁLISES QUÍMICAS E DA PAISAGEM

5.1.1 AMOSTRAS 1 E 1A MATA/ESPÉCIES NATIVAS.

Quanto aos resultados das análises químicas do solo das amostras 1 e 1A (Mata /espécies Nativa) são mostrados na tabela 4, e suas análises tomaram como base o Boletim nº 2, IAC, Níveis de fertilidade para interpretação de análise de solos para o estado de São Paulo, que determina para Atributos Florestais os níveis aceitáveis para estes estratos.

Tabela 4 - *Os resultados das análises químicas dos estratos de mata espécies nativas 1e 1A.*

Determinação	Unidade	Quantidade Amostra 1 Argissolo	Avaliação	Quantidade Amostra 1A Gleysolo	Avaliação	Ideal
Fosforo	mg/dm ³	20	Muito Alto	7	Ideal	6 – 8
K (Potássio)	mmolc/dm ³	1,5	Baixo	2,3	Ideal	1,6 – 3,0
Ca	mmolc/dm ³	30	Muito Alto	31	Muito Alto	4 – 7
Mg	mmolc/dm ³	8	Ideal	8	Ideal	5 – 8
Boro	mg/dm ³	0,34	Ideal	0,31	Ideal	0,21 – 0,60
Cobre	mg/dm ³	0,7	Ideal	0,6	Ideal	0,3 – 0,8
Ferro	mg/dm ³	166	Muito Alto	39	Muito Alto	5 – 12
Manganês	mg/dm ³	18,3	Muito Alto	30,6	Muito Alto	1,2 – 5,0
Zinco	mg/dm ³	3,6	Alto	1,5	Alto	0,6 – 1,2
Acidez pH	-	4,6	Baixo	5,1	Ideal	5,1 – 5,5
M. Orgânica	g/dm ³	28	Médio	28	Médio	31 – 60

Fonte: Boletim Técnico Nº 2 IAC – Atributos Florestais (2004).

Amostra 1

Em relação às análises químicas referente a região de Amostra 1, temos que os elementos com níveis equilibrados são; Mg, Boro, Cobre e M. (Tabela 4).

O elemento Fósforo apresentou alta concentração (Fósforo-20(mg/dm³)/Muito Alto/Ideal 6-8(mg/dm³) e pode ser um indicador da quantidade de matéria orgânica que a floresta nativa produz, segundo Clark (1998) a concentração alta deste elemento pode ser um indicador da grande presença de vegetais e resíduos animais em processos de decomposição no solo, ou até mesmos por escorrimento de águas contaminadas que se acumulam no próprio solo.

O Cálcio também se apresentou com nível muito alto (Ca-30(mmolc/dm³)/Muito Alto/Ideal 4-7(mmolc/dm³), estando sempre como constituinte de rochas ou minerais e tem

relação com a gênese do solo, como a área é proveniente de um granito (rochas silicatadas), isto pode ser o indicador da presença deste elemento. O Cálcio tem a função de reduzir a acidez do solo, a sua presença elevada pode indicar um solo altamente acidificado (CRONAN; GRIGAL, 1995).

Outro elemento que resultou em um nível extremamente alto na amostra 1 foi o Ferro (Ferro-166 (mg/dm³)/ Muito Alto/ Ideal 5-12 (mg/dm³). Segundo Sahrawat (2004) o elemento Ferro é essencial ao metabolismo energético que atua na fixação do nitrogênio, na fotossíntese, respiração e síntese de DNA e de hormônios. Porém seu excesso pode causar deficiência nas formações vegetais, sendo um indicador dos desnivelamentos nutricionais nos vegetais e induzindo a deficiência de minerais essenciais como P, Ca, K, Mg e Zn (CHEN, 2006). Este nível elevado de Ferro pode ser um indicador da variação da temperatura, do excesso da água ou área inundada ou por acúmulo em forma de poças ou barramentos ou até mesmo da gênese do solo (AUDEBERT; FOFANA, 2009). Uma das possibilidades para a alta concentração deste elemento no solo do estrato florestal onde foi realizada a coleta da amostra pode ser a formação nativa do solo (intemperismo) ou pelo carreamento de sedimentos, pois o local se encontra na face superior da área em estudo, onde a característica do local se apresenta como um platô abaciado em zona de acúmulo que em períodos de chuva apresenta uma maior concentração da água.

Quanto ao nível elevado do elemento Manganês, (Manganês-18,3 ((mg/dm³)/Muito Alto/Ideal 1,2-5,0 (mg/dm³) um possível indicador é o pH baixo, a combinação entre pH, as condições de oxidorredução e o teor de matéria orgânica favorecem a elevação do Manganês (VALADARES; CAMARGO, 1983). O Zinco foi o outro elemento que apresentou seu teor elevado (Zinco-3,6 (mg/dm³)/Alto/Ideal 0,6-1,2 (mg/dm³), em grandes concentrações este pode ser potencialmente tóxico, a elevação deste elemento pode ser um indicador das sucessivas modificações naturais do material ou extraordinariamente quando se consideram as variações entre perfis dentro de um mesmo material de origem (FADIGA, 2002).

Amostra 1A

Em relação a Amostra 1A os elementos com níveis equilibrados são; Fósforo, Mg, Boro, Cobre, pH 5,1 e M. Orgânica.

O Cálcio resultou em excesso (Ca-31(mmolc/dm³)/Muito Alto/Ideal 4-7 mmolc/dm³) e pode ser constituído pelas rochas ou minerais e pode ter relação com a gênese do solo (CRONAN; GRIGAL, 1995).

Quanto o teor do elemento Ferro (Ferro-39 (mg/dm³)/Muito Alto/Ideal 5-12 (mg/dm³), pode ser um indicador da proximidade com os cursos d'água, que pode variar sua intensidade em épocas de alta precipitação, a área se encontra próximo a um açude, onde a capacidade e a presença da água são constantes. Outra possibilidade do elemento Ferro em excesso é a gênese do solo, ou a intemperização constante da área. (AUDEBERT; FOFANA, 2009).

Quanto ao nível elevado do elemento Mg, (Manganês-30,6 9(mg/dm³)/Muito Alto/Ideal 1,2-5,0 (mg/dm³) um possível indicador é o pH baixo do solo ou a possibilidade da alta concentração da matéria orgânica que é derivada da serrapilheira existente no fragmento da florestal nativa (Figura 7A) (VALADARES; CAMARGO, 1983).

O Zinco elevado (Zinco-1,5 (mg/dm³)/Alto/Ideal 0,6-1,2 (mg/dm³) pode ser um indicador das modificações naturais do material de origem ou variações entre perfis dentro de um mesmo material de origem (FADIGA, 2002).

Quanto a avaliação da paisagem a classificação do solo da amostra 1 (Mata Nativa) está classificada como Argissolo e a amostra 1A (mata nativa) como Gleysolo. Utilizando o método A.E.R (Avaliação Ecológica Rápida) e o “Wide Patrolling” (RATTER, 2003), para classificar a fitofisionomia vegetal e com base no referencial teórico Manual Técnico da Vegetação Brasileira (IBGE, 2012) a área se encontra com características de vegetação de Mata Atlântica Semididicial secundária em estágio médio de regeneração, esta vegetação é resultante de processos naturais de sucessão, após supressão total ou parcial de vegetação primária por ações antrópicas ou causas naturais, ocorreu os remanescentes de vegetação. O nível de preservação destas áreas apresentam se com características de floresta conservada, devido à diversidade das espécies de árvores nativas, as epífitas como bromélias e orquídeas, a serapilheira, ausência de espécies exóticas e invasoras como bambus e leucenas e a inexistência de elementos degradantes como lixo e entulhos ou ações antrópicas.

Segundo a análise da paisagem o indicado é manter a condução natural destes estratos, aplicando apenas o isolamento da área e o controle de possíveis intervenções antrópicas como a queimada e a proliferação de espécies exóticas.

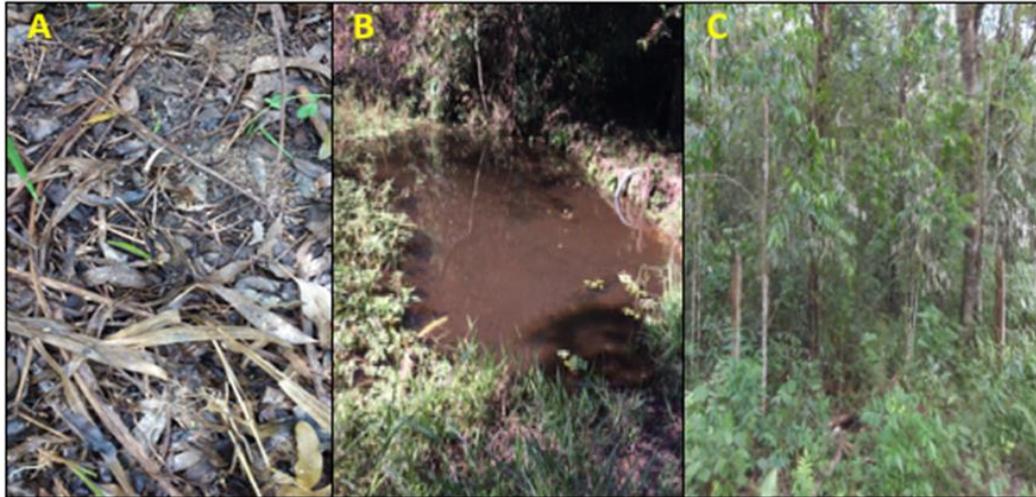
Mantendo o monitoramento e controle destes fragmentos de floresta nativa tem potencialidade de atingir o estágio avançado de regeneração, trazendo benefícios à fauna e flora e se tornando um possível corredor ecológico ligando áreas distintas dentro do Centro de Pesquisas Agrícolas da Uniso.

Em relação à avaliação da paisagem da área onde foram coletas as amostras 1 e 1A (Mata/espécies nativas) se assemelham em suas características, apresentaram uma

estratificação vegetal em estágio médio de regeneração, a qualidade ambiental se mostra preservada de acordo com suas características atuais.

As imagens da área da coleta da Amostra 1 (Figura 06) mostram boa concentração de serrapilheira e vegetação abundante e nascentes intermitentes, que só ocorrem em um determinado período. .

Figura 06 - Imagens amostra 1 mata/espécies nativas, A) serrapilheira, B) nascente intermitente C) extrato vegetal.



As imagens da área da coleta da Amostra 1A (Figura 7) mostram a presença da serrapilheira e do extrato vegetal com bom desenvolvimento.

Figura 07 - Imagens amostra 1A mata/espécies nativas, A) serrapilheira, B) extrato vegetal.



Os fragmentos florestais destas áreas se classificaram em estágio médio por suas fisionomias observadas em campo como, a presença de espécies arbóreas de médio porte com máximo de DAP (diâmetro, altura do peito) 15 centímetros e a altura variando de 3 a 9 metros, alguns arbustos jovens, herbáceas e pouca presença de epífitas e lianas. Podendo

destacar espécies arbóreas nativas como a Embaúba (*Cecrópia sp*), jerivá (*Syagrus romanzoffiana*) e a Laranjinha do campo (*Peritassa campestris*) que são indicadoras de dispersão zoocóricas. Outra característica das áreas é a cobertura arbórea, variando de aberta a fechada, com a ocorrência eventual de indivíduos emergentes e a serrapilheira presente, variando de espessura de acordo com o terreno. Os estratos indicam um ambiente em processo de formação e adensando, demonstrando a dinâmica, a diversidade e capacidade da resiliência da floresta nativa, que graças à neutralidade das ações antrópicas e com apenas o isolamento e o monitoramento da área, se demonstra com qualidade e conservação. Os dados coletados em campo sobre a classificação do estágio do fragmento onde foi feita a coleta da amostra 1 e 1A (mata nativa) alinhou se com o referencial teórico Manual Técnico da Vegetação Brasileira (IBGE, 2012).

As amostras 1 e 1A apresentam resultados relevantes como base de comparação para as demais amostras. Embora sejam áreas distintas apresentaram características semelhantes o que comprovam que as características fito fisionômicas resultam em semelhança referente aos seus elementos químicos. A interação do solo com a vegetação em fragmento florestal é fundamental para a conservação dos ecossistemas, esta interação é necessária para que os ambientes possam se manter sustentáveis conservando as funções como biodiversidade, a ciclagem dos nutrientes, abastecimento dos lençóis freáticos e a proteção do solo (ROVEDDER, 2009; SCIPIONI, 2009).

5.1.2 AMOSTRA 2 AGRICULTURA.

Os resultados da análise química do solo da amostra 2 (Agricultura) foram comparadas com o Boletim nº 2, IAC, Níveis de fertilidade para interpretação de análise de solos para o estado de São Paulo, que determina para Atributos Cultivar Anual os níveis aceitáveis para este estrato (Tabela 5).

Tabela 5 - Os resultados das análises químicas do estrato agricultura – amostra 2.

Determinação	Unidade	Quantidade Amostra 2 Argissolo	Avaliação	Ideal
Fosforo	mg/dm ³	5	Baixo	6 – 8
K (Potássio)	mmolc/dm ³	1,5	Baixo	1,6 – 3,0
Ca	mmolc/dm ³	25	Muito Alto	4 – 7
Mg	mmolc/dm ³	7	Ideal	5 – 8
Boro	mg/dm ³	0,18	Médio	0,21 – 0,60
Cobre	mg/dm ³	5,2	Muito Alto	0,3 – 0,8
Ferro	mg/dm ³	51	Muito Alto	5 – 12
Manganês	mg/dm ³	13,6	Muito Alto	1,2 – 5,0
Zinco	mg/dm ³	0,9	Ideal	0,6 – 1,2
Acidez pH	-	4,7	Baixo	5,1 – 5,5
M.Orgânica	g/dm ³	25	Baixo	31 – 60

Fonte - Boletim Técnico N° 2, IAC – Atributos Anuais (2004).

Em relação às análises químicas apenas dois elementos foram classificados com nível “Ideal ou aceitável”, o Mg e o Zinco, sendo o Boro em nível próximo ao ideal, mas ainda fora do padrão (Boro 0,18 (mg/dm³)/Médio/aceitável/Ideal 0,21-0,60 (mg/dm³).

O Cálcio apresenta nível elevado, o que pode ser explicado devido o elemento ser absorvido na zona de crescimento das raízes, principalmente nos estágios iniciais onde as atividades são mais intensas, e pode ser um indicador da constante umidade presente neste período, favorecendo o fluxo do elemento, o Cálcio no solo é responsável por manter a estrutura e o funcionamento das membranas celulares, funções estas que estão presentes no ciclo do cultivar (DUARTE, 2003).

O cobre está em excesso no solo, o que pode restringir o crescimento das raízes e tem a possibilidade de indicar à ocorrência de raízes com coloração escurecida, como um sintoma típico da toxicidade (MOURATO; MARTINS; CAMPOS-ANDRADA, 2009).

A alta concentração do Ferro em geral esta associada ao excesso de chuvas, irrigação, enxurradas e falta de drenagem adequada na cultura. A umidade constante é um possível indicador dos teores elevados do elemento Ferro (NUNES, 2004).

O alto teor do Manganês pode ser um indicador que a cultura do Milheto (*Pennisetum glaucum*) que foi realizada no verão, com índices elevados de pluviosidade e associadas a altas temperaturas e também pelo teor de matéria orgânica em sua ciclagem, o que pode favorecer a elevação do Manganês (CAZETTA; FORNASIERI; GIROTTO, 2005).

Os elementos alterados com níveis “Baixo” foram; Fósforo, Potássio, o pH e a Matéria Orgânica. O Fósforo baixo no solo onde está presente o cultivar pode ser um indicador de possível remoção e movimentação dos fertilizantes ou até mesmo as fases da decomposição e

movimentação orgânica (ALVAREZ; FONSECA, 1990). O Potássio é um elemento que é absorvido em quantidades elevadas pelos vegetais e não constitui a estrutura de moléculas e tecidos, o que o torna um indicador passível de ser extraído com certa facilidade da cobertura morta, sem haver, a necessidade da decomposição e mineralização biológicas. Sendo assim o nível baixo deste elemento no solo pode estar alinhado com a possibilidade da absorção de grandes quantidades pelo cultivar em sua matéria orgânica (MARSCHNER, 1995).

O pH baixo no solo é um indicador de acidez e baixa capacidade de troca de cátions (CTC), ou retenção de cátions, tais como cálcio, magnésio, potássio, alumínio e hidrogênio, os quais, em geral, irão tornar-se disponíveis às plantas (EMBRAPA, 2006). Neste caso um possível indicador do pH baixo é a relação com a atividade constante e intensa que a área passa, pois se trata de atividades e culturas rotacionais, o que acaba exigindo mais dos elementos do solo, resultando em acidez e baixa CTC, fato que pode levar a baixa concentração da Matéria Orgânica, atividades rotativas é um indicador que os níveis oscilam com mais frequência e intensidade na decomposição, o que fazem os níveis baixarem de acordo com a cultura presente. O local da coleta da amostra 2 (agricultura), pós colheita do Milheto e sendo preparado para outro cultivar, isso demonstra que a área passa por diversas pressões e experimentos agrícolas, o que condiz com a qualidade ambiental da área, resultando em um solo desequilibrado em seus elementos.

Quanto a avaliação da paisagem a amostra 2 foi classificada como solo Argissolo vermelho, amarelo eutrófico. A fitofisionomia vegetal durante a coleta da amostra do solo apresentou como área utilizada para o cultivo da planta Milheto (*Pennisetum glaucum*), que é uma gramínea anual de verão. O plantio ocupa uma área de 0,33 hectares e esta localizada na região superior do terreno próximo as estruturas do Centro de Pesquisas Agrícolas, em questionamento ao responsável Zenoque Ribeiro (estagiário curso de Agronomia), a informação é que ocorreu grande diversidade de produção agrícola na área anteriormente ao milheto, entre elas a cultura da soja, assim como são sucessivas as rotações de culturas, fato que pode indicar que o solo passa por constantes impactos agrícolas resultando em níveis alterados conforme a cultura.

De acordo com as informações cedidas pelo estagiário do curso de Agronomia que atua no Centro de Pesquisas Agrícolas da Uniso, Zenoque Ribeiro, o local é utilizado para experimentos agrícolas do curso desde o ano de 2014. O local passa por diversas ações como correção do solo, rotação de cultura, o uso de defensivos, fertilizantes, irrigação, mecanização e ensaios experimentais (Figura 08).

Figura 08 - Imagens amostra 2 área agricultura, A) Milheto, B) solo.



Como se trata de uma área altamente ativa onde durante o ano pode ser sujeita a até duas culturas diferentes e manejos intensos, esta acaba por ser uma área sobrecarregada e com desgaste do solo, o que resulta em níveis baixos de nutrientes e da qualidade ambiental. O excesso do uso para fins experimentais pode ser um indicador de pressão e da baixa capacidade da resiliência do solo, o que demonstrou os resultados obtidos.

O Milheto (*Pennisetum glaucum*), vegetal plantado no local, é uma espécie de fácil adaptação em diversos tipos de solo, esta variedade vegetal apresenta boa persistência em solos de baixa fertilidade e com estresse hídrico moderado, o manejo adequado ajuda a manter a produtividade do vegetal e o balanceamento dos nutrientes do solo (GUIMARÃES JÚNIOR, 2009). A utilização desta variedade vegetal é uma alternativa para equilibrar a microbiota do solo em meses de transição chuva/seca e seca/chuva e também promove um descanso para a recuperação completa do solo (SPEHAR; TRECENTI, 2011).

Segundo Azevedo e Monteiro (2003) a diversidade de técnicas agrícolas faz com que o solo alterne e esgote seus elementos e reservas nutricionais, desta forma como a área passa por diversos cultivos e tratos, podem resultar em qualidade alternada dos elementos químicos do solo, necessitando de ajustes a cada cultura implantada.

5.1.3 AMOSTRA 3 PASTO DESATIVADO.

Os resultados das análises químicas do solo foram comparadas com o Boletim nº 2, IAC, Níveis de fertilidade para interpretação de análise de solos para o estado de São Paulo, que determina para Atributos Pastagens os níveis aceitáveis para este estrato (Tabela 6).

Tabela 6 - Os resultados das análises químicas do estrato pasto desativado – amostra 3.

Determinação	Unidade	Quantidade Amostra 3 Cambissolo	Avaliação	Ideal
Fosforo	mg/dm ³	6	Ideal	6 – 8
K (Potássio)	mmolc/dm ³	3,1	Ideal	1,6 – 3,0
Ca	mmolc/dm ³	7	Ideal	4 – 7
Mg	mmolc/dm ³	5	Ideal	5 – 8
Boro	mg/dm ³	0,2	Baixo	0,21 – 0,60
Cobre	mg/dm ³	0,8	Ideal	0,3 – 0,8
Ferro	mg/dm ³	46	Muito Alto	5 – 12
Manganês	mg/dm ³	22,8	Muito Alto	1,2 – 5,0
Zinco	mg/dm ³	2,7	Alto	0,6 – 1,2
Acidez Ph	-	4,7	Baixo	5,1 – 5,5
M.Orgânica	g/dm ³	34	Ideal	31 – 60

Fonte - Boletim Técnico N° 2, IAC – Atributos Pastagens (2004).

Os elementos em equilíbrio foram; Fósforo, K, Ca, Mg, Cobre e Matéria Orgânica. O elemento Boro apresentou-se em nível “Baixo” podendo ser o indicador da ausência do crescimento das espécies vegetais no pasto. Em relação ao pH ácido encontrado, possivelmente indica um solo que sofre pressões pela sua exposição, a ausência da cobertura vegetal, e o desprendimento de massa.

O Ferro que está em excesso, assim como o Manganês e o Zinco, podem ter relação com a gênese do solo, pois a exposição a intemperização é constante. Outra possibilidade é a proximidade deste local com nascentes e cursos d’água, sendo que e em épocas de precipitação ocorre o deslocamento desenfreado da água, arrastando e lixiviando a parte superficial do solo.

Os resultados positivos para a maioria dos elementos químicos do pasto desativado possivelmente podem ter relação com a falta de atividade no local, sem pressões no solo os elementos químicos acabam sendo preservados.

O elemento que se destacou em equilíbrio foi a Matéria Orgânica, como a paisagem da área apresentava sinais de início de degradação, o resultado positivo pode ter relação com os fatores externos como fragmentos de florestas com espécies nativas no entorno podem interferir de forma positiva no solo. Na área foram observadas características de um pasto desativado e abandonado com indicadores iniciais de degradação, como exposição do solo, ausência de vegetação e pequenas erosões laminares. Outra característica desta área também é a presença de fragmentos de floresta nativa em torno do pasto, a fitofisionomia vegetal e de Mata Atlântica semidecidual secundária em estágio médio de regeneração, esta vegetação nativa se assemelha as áreas referentes às amostras 1 e 1A (MATA/ESPÉCIES NATIVAS).

A área da Amostra 3 (pasto desativado) era utilizada para a atividade de pastagem, anteriormente a pertencer a Uniso, posteriormente quando a área já pertencia a Universidade de Sorocaba, ficou sem atividades desde o ano de 1998 e a partir de 2014 as atividades foram retomadas, mesmo assim no local onde foi feito a coleta da amostra 3 (pasto desativado), permaneceu sem atividade, apenas isolado, estas informações foram colhidas com o estagiário do curso de Agronomia Zenoque Ribeiro, que atua no CEPAGRI.

Figura 09 - Imagens do local da coleta da amostra 3 (pasto desativado).



As características encontradas na área no dia da coleta da amostra (21/07/2016) demonstravam um pasto abandonado e com indícios de um solo em estágio inicial de degradação como a exposição do solo, ausência da vegetação e a presença de pequenos sulcos e erosões laminares.

5.2 QUANTIFICAÇÃO DE DNA POR ANÁLISE MOLECULAR

Segundo Primavesi (2002) o solo e seus nutrientes são fundamentais para os vegetais e para a garantia da produção vegetal com qualidade ambiental o solo deve conter grande biodiversidade microbiológica, como exemplo os fungos e as bactérias.

Como todo ser vivo a microbiota necessita de nutrição, sendo dependente da matéria orgânica para tal, a ausência deste composto no solo resulta em diminuição e até o desaparecimento da microbiota. Os microrganismos são fundamentais para a qualidade do solo, pois é uma ponte para a nutrição dos vegetais, pois processam e mobilizam os nutrientes minerais para os vegetais (LIMA, 2001).

O estudo da microbiota do solo através de quantificação molecular ainda é recente existindo a necessidade de maiores avaliações para se conseguir relacionar o comportamento da microbiota com alterações climáticas, tipo de solo, tratamento, etc. Existe também a necessidade de acompanhamento da microbiota do solo por longo período de tempo para que seja possível avaliar as alterações ocorrentes neste solo e relaciona-las com alterações ambientais e tratamentos realizados. De uma forma geral acredita-se que esta microbiota consiga manter os níveis necessários de bactérias para que a ciclagem do nitrogênio, uma vez alterada, possa ser restabelecida com o tempo.

Os resultados obtidos no estudo da comparação dos diferentes solos ou ocupação apresentaram dados de relevância para a avaliação dos processos ecológicos e consequente recuperação do solo, uma vez que, o equilíbrio é essencial para a sustentabilidade e a preservação da qualidade ambiental.

5.2.1 RESULTADOS DA qPCR

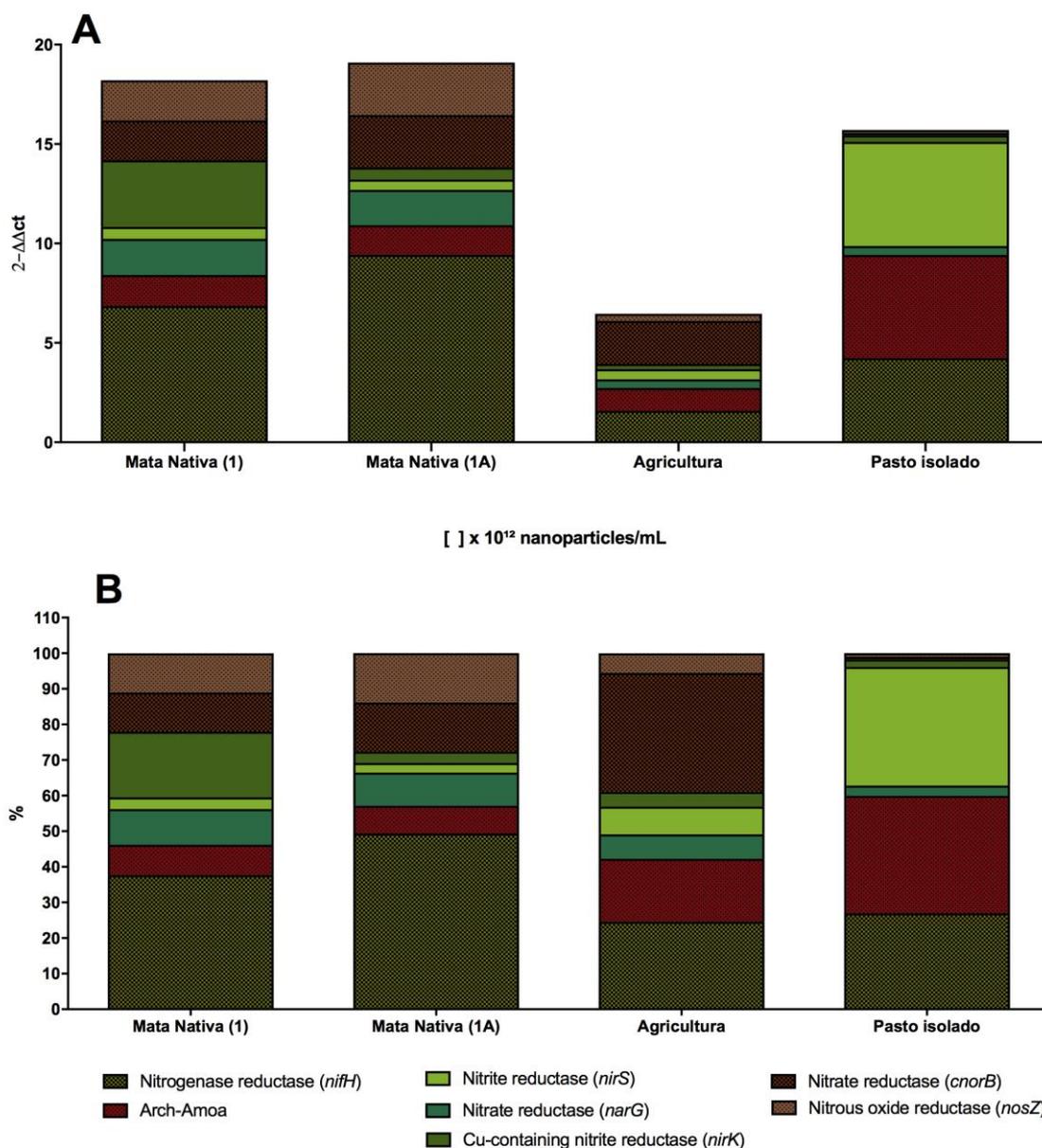
As análises de quantificação molecular da microbiota envolvida com o ciclo de nitrogênio mostram que as áreas 1 e 1A, referentes a Mata/espécies nativas apresentaram uma quantidade maior destes microrganismos, seguida em quantidade pela área de pasto isolado (Figura 10 A). Na mesma figura é possível observar que a amostra da área de agricultura foi a que apresentou uma quantidade menor dos mesmos microrganismos. Muitos são os parâmetros que interferem na quantidade de microbiota existente no solo, entre eles o calor, luz, água. A alteração da microbiota observada provavelmente se dá devido a diferença na composição dos solos encontrada em cada uma das localidades, uma vez que, estas estão relativamente próximas, porém em relação a disponibilidade de água estas diferem devido ao relevo que apresentam, logo a diferença pode ser em sua maior parte devido ao tratamento realizado de acordo com o tipo de utilização da área.

Em relação à proporção da microbiota (Figura 10) é possível observar que as áreas 1 e 1A apresentam distribuição semelhantes, apresentando uma maior proporção de bactérias fixadoras nestas áreas de mata nativa, principalmente na área denominada de 1A. As demais amostras apresentam quantidades inferiores de bactéria fixadoras, em geral se observarmos a paisagem nas áreas 1 e 1A é possível visualizar vegetação (Figura 6), isto colabora para o desenvolvimento de bactérias responsáveis pela fixação do nitrogênio. Alguns estudos indicam alterações na composição da microbiota resultantes do tipo de vegetação existente, como estudos que avaliaram a variação dos genes *nifH*, *amoA* e *nosZ* da microbiota de

diferentes solos de cultivo de milho, gramíneas e rizomas de *Miscanthus x giganteus* (MAO *et al.*, 2012).

Nas amostras de pasto isolado nitidamente é possível observar uma maior proporção de bactérias com genes Arch-Amoa responsável pela nitrificação, assim como uma maior proporção de genes de síntese de enzimas responsáveis pela fase 1 da denitrificação. Mostrando que existe um balanço entre os 3 processos do ciclo. A amostra correspondente a área agrícola apresenta em relação a distribuição de genes uma grande proporção de nitrato redutase, responsável pela fase 2 da denitrificação (Figura 10 B).

Figura 10 – Análises moleculares quantitativas de genes bacterianos envolvidos com o ciclo do nitrogênio (*nifH*, *nosZ*, *cnorB*, *nirK*, *narG* e *nirS*) nas diferentes amostras estudadas.



Os maiores interesses das pesquisas em solos são referentes ao comprometimento da fertilidade principalmente devido à perda de nitrogênio e a liberação de gases contribuintes para o efeito estufa durante a denitrificação. As áreas que apresentaram uma quantificação maior de *cnorB* do que *nosZ* provavelmente estão liberando uma grande quantidade de N₂O, isso é chamada de denitrificação incompleta (ZUMFT; KRONECK, 2007), a relação envolvendo o gene *nosZ* e a liberação de N₂O foi demonstrada por HARTER *et al* (2014), onde as amostras com maior quantidade de *nosZ* liberavam menos N₂O.

Uma visão geral do estudo realizado é mostrada da tabela 07. Lembrando que todos os resultados dos elementos químicos foram analisados de acordo com o Boletim n° 2, Níveis de fertilidade para interpretação de análise de solos para o estado de São Paulo, 2004. (Atributos Florestais, Atributos Cultivar Anual, Atributos Pastagens).

Tabela 07. *Visão geral dos resultados coletados em campo: elementos químicos, microbiota, fitofisionomia/paisagem e uso/ocupação em cada área.*

Área avaliada	Elementos Químicos Alterados	Microrganismos Microbiota do solo	Fitofisionomia Paisagem	Uso/Ocupação	Proposta de condução da Área
Mata/esp. nativa Amostra 1 (Argissolo)	K, Mg, B, Cu, pH, M.O (elementos equilibrados). P, Ca, Fe, Mn, Zn. (elementos teores elevados)	Grande quantidade de microrganismos Alta fixação	Vegetação semidecidual secundária em estágio médio de regeneração	Estrato de floresta nativa isolada em sucessão de regeneração Área preservada	Condução de espécies nativas com isolamento de área e controle de intervenção antrópica. Área com potencialidade para atingir o estágio avançado de regeneração.
Mata/esp. nativa Amostra 1A (Gleyssolo)	K, Mg, B, Cu, P, pH, M.O (elementos equilibrados) Ca, Fe, Mn, Zn. (elementos teores elevados)	Grande quantidade de microrganismos Alta fixação	Vegetação semidecidual secundária em estágio médio de regeneração	Estrato de floresta nativa isolada em sucessão de regeneração Área preservada	
Atividade agrícola Amostra 2 (Argissolo)	Mg, B, Zn. (elementos equilibrados) Ca, Fe, Cu, Mn, (elementos teores elevados) P, K, pH, M.O (elementos teores inferiores)	Baixa quantidade de microrganismos Alta nitrificação	Plantio do Vegetal Milheto (<i>Pennisetum glaucum</i>)	Área de Agricultura Experimental Pressão constante	Descanso do solo, plantio direto, rotação de culturas e correção do solo.
Área pasto Amostra 3 (Cambissolo)	K, Mg, P, Ca, Cu, M.O (elementos equilibrados) Fe, Mn, Zn. (elementos teores elevados) B, pH (elementos teores inferiores)	Media quantidade de microrganismos alta denitrificação	Pasto Desativado (ausência de vegetação e exposto)	Pasto isolado com ausência de atividades	Isolamento da área, controle de espécies invasoras e competidoras, condução da regeneração natural, adensamento e enriquecimento de espécies nativas com Mudas ou Semente Caso tenha interesse de reflorestar.

6 CONCLUSÃO

Com base nos resultados obtidos no estudo foi possível observar que áreas distintas com atividades diversas podem ser semelhantes em sua microbiota, a variação de dados se deu a partir da atividade realizada em cada área.

As amostras das áreas 1 e 1A resultaram níveis equilibrados dos elementos químicos e microbiológicos, o que condiz com o tipo da ocupação, como a fitofisionomia da área com vegetação nativa preservada e com a ausência de ações antrópicas.

A amostra 2 da área agricultável demonstrou níveis alterados tanto dos elementos químicos como dos microrganismos, isso devido ser um estrato de agricultura experimental, onde a variedade vegetal, os tratamentos culturais constantes e as movimentações do solo, resultam em uma pressão no local o que apresenta a relação atividade/qualidade do solo.

A amostra 3 apresentou um resultado inesperado, como se trata de um estrato de pasto com a paisagem visivelmente afetada pela ausência da vegetação e pequenas erosões laminares, o pasto apresentou seus níveis equilibrados, tanto os elementos químicos como os microbiológicos, principalmente a concentração da matéria orgânica que está em nível ideal e juntamente com a grande diversidade microbiológica. O que indica um resultado positivo, demonstrando que estratos isolados, sem atividades ou pressões e em descanso podem obter uma microbiota ativa, outro fator relevante para a microbiologia presente no pasto e a proximidade da área com fragmentos florestais de espécies nativas em sua borda, estas vegetações são de fitofisionomia de floresta semidecidual, que tem como característica o desprendimento das folhas em determinada época do ano e que são espalhadas eolicamente no pasto, que acaba alimentando o solo e mantendo os níveis nutricionais.

Sendo assim, se faz necessário o entendimento dos ecossistemas e dos processos para a recuperação do solo dando ênfase a métodos de baixo impacto, custo mínimo e resultados eficazes, espera-se que os resultados do estudo possam auxiliar no conhecimento e na compreensão e que as interações dos estratos podem ser a chave do equilíbrio e da qualidade ambiental dos solos. As análises do solo podem traduzir seus elementos e suas atividades e a utilização da extração do DNA da microbiota do solo se mostra ser uma ferramenta no auxílio durante o processo das interpretações, que tem a finalidade do entendimento e da compreensão em busca do equilíbrio e da sustentabilidade ambiental do solo.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AESCHT, E.; FOISSNER, W.; SCHINNER, F.; OHLINGER, R.; KANDELER, E.; MARGESIN, R. **Microfauna: Methods in soil biology**. Berlin, 1996.

AUDEBERT, A.; FOFANA, M. **Rice yield gap due to iron toxicity in West Africa**. Journal of Agronomy and Crop Science, 2009.

AITA, C. **Dinâmica do nitrogênio no solo durante a decomposição de plantas de cobertura: efeito sobre a disponibilidade de nitrogênio para a cultura em sucessão**. In: Atualização em adubação e calagem: ênfase em plantio direto. Departamento de solos da UFSM. Santa Maria, 1997.

ALEXANDER, M.; MILLER, R. H.; KEENEY, D. R. **Most probable number method for microbial populations**. Methods of Soil Analysis. Chemical and microbiological properties. Madison, American. Society Agronomy, 1982.

ALMEIDA, G. S.; RIDENTE JÚNIOR, J. L. **Diagnóstico, prognóstico e controle de erosão**. Apostila de curso ministrado no VII Simpósio Nacional de Controle de Erosão. Goiânia, 2001.

AMADO, T. J. C.; BAYER, C.; ELTZ, F. L.; BRUM, A. C. R. **Potencial de culturas de cobertura em acumular carbono e nitrogênio no solo no plantio direto e a melhoria da qualidade ambiental**. Revista Brasileira de Ciência do Solo, 2001.

ARAÚJO, A. S. F.; MONTEIRO, R. T. R. **Indicadores biológicos de qualidade do solo**. Uberlândia, 2007.

ARAÚJO, A. S. F.; MONTEIRO, R. T. R. **Microbial biomass and activity in a Brazilian soil amended with untreated and composted textile sludge**. Chemosphere. Oxford, 2006.

ARAÚJO, A. S. F. **Ecologia microbiana do solo**. Sapiência, Teresina, 2007.

ARAÚJO, A. S. F.; MONTEIRO, R. T. R.; ABARKELI, R. B. **Effect of glyphosate on the microbial activity of two Brazilian soils**. Chemosphere, Oxford, 2003.

ARAÚJO, A. S. F.; BURITY, H. A.; LYRA, M. C. C. P. **Influência de diferentes níveis de nitrogênio e fósforo em leucena inoculada com Rhizobium e fungo micorrízico arbuscular**. Espírito Santo do Pinhal, 2001.

AZEVEDO, A. A. MONTEIRO, J. L. G. **Análise dos impactos ambientais da atividade agropecuária no cerrado e suas inter-relações com os recursos hídricos na região do Pantanal, 2002-2003**.

BACCARO, C. A. D. **As unidades morfológicas e a erosão nos chapadões do Município de Uberlândia**. Minas Gerais, 1994.

BACELLAR, L. de A. P.; BERTONI, J. F.; LOMBARDI, N. **Processos de formação de voçorocas e medidas preventivas e corretivas**. Ouro Preto, 2006.

BALOTA, E. L.; COLOZZI-FILHO, A.; ANDRADE, D. S.; HUNGRIA, M. **Biomassa microbiana e sua atividade em solos sob diferentes sistemas de preparo e sucessão de culturas**, 1998.

BRADY, N. C.; WEIL, R. R. **Elementos da Natureza e Propriedades dos Solos**. Porto Alegre, 2013.

BERTOLINI, D. ; LOMBARDI NETO, F. **Manual técnico de manejo e conservação de solo e água**: embasamento técnico do Programa Estadual de Microbacias Hidrográficas. CATI. Campinas, 1994.

BERTONI, J.; LOMBARDI NETO, F. **Conservação do solo**. São Paulo, 2012.

BIGARELLA, J. J. ; BECKER, R. D.; PASSOS, E. **Estrutura e origem das paisagens tropicais e subtropicais**. Editora da UFSC. Florianópolis, 1996.

BISSANI, C.A.; TEDESCO, M. J. **O enxofre no solo**. XVII Reunião Brasileira de Fertilidade do Solo. Londrina, 1988.

BRASIL. **RESOLUÇÃO SMA Nº 32, DE 03 DE ABRIL DE 2014**. Estabelece as orientações, diretrizes e critérios sobre restauração ecológica no Estado de São Paulo, e dá providências correlatas. Brasília, 2014.

BRASIL. **DECRETO Nº 8.972, DE 23 DE JANEIRO DE 2017**. Dispõe sobre a Política Nacional de Recuperação da Vegetação Nativa. Brasília, 2017.

BOLETIM TÉCNICO Nº 2. **INTERPRETAÇÃO DE ANÁLISE DE SOLO CONCEITOS E APLICAÇÕES**. Associação Nacional para Difusão de Adubos, 2004.

CAMPOS, R. C.; DEMATTÊ, J. A. M. **Cor do solo**: Uma abordagem da forma convencional de obtenção em oposição à automatização do método para fins de classificação de solos. Revista Brasileira de Ciência do Solo, 2004.

CARPANEZZI, A. A. **Banco de sementes e deposição de folheto e seus nutrientes em povoamentos de bracatinga (Mimosa scabrella Benth) na região metropolitana de Curitiba**. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas) – Instituto de Biociências. Universidade Estadual Paulista. Rio Claro, 1997.

CARTER, M. R. **Relative measures of soil bulk density to characterize compaction in tillage studies on fine sandy loams**. Canadian Journal of Soil Science, 1990.

CAPUTO, H. P. **Mecânica dos solos e suas aplicações**: Livros Técnicos e Científicos. São Paulo, 1989.

CORRÊA, J. C; MAUAD, M.; ROSOLEM, C. A. **Fósforo no solo e desenvolvimento de soja influenciada pela adubação fosfatada e cobertura vegetal**. Pesquisa Agropecuária Brasileira, 2004.

COSTA, J. B. **Caracterização e constituição do solo**. Fundação Calouste Gulbenkian. Lisboa, 1991.

CURY, N. **Pedologia: Fundamentos**. Sociedade Brasileira de Ciência do Solo. Viçosa, 2012.

CHEN, R. F. **Response of rice with root surface iron plaque under aluminium stress**. *Annals of Botany*, 2006.

CRISPIM, F. A. **Influência de variáveis de compactação na estrutura dos solos: caracterizações geotécnica, química, mineralógica e micro estrutural**. Universidade Federal de Viçosa, 2010.

CRUZ, J. C.; ALVARENGA, R. C.; NOYOTNY, E. H.; PEREIRA FILHO, I. A.; SANTANA, D. P.; PEREIRA, F. T. F.; HERNANI, L. C. **Rotação de culturas**. Sistema de Produção, 2002.

CEPAGRI METEOROLOGIA UNICAMP (CEPAGRI). **CENTRO DE PESQUISAS METEOROLOGICAS E CLIMATICAS APLICADA A AGRICULTURA**, Campinas, 2018. Disponível em: https://www.cpa.unicamp.br/outras-informacoes/clima_muni_584.html. Acesso em 11 jun.2018.

DAS, B. M. **Fundamentos de engenharia geotécnica**. Editora Thomson, 2006.

DERPSCH, R.; NIKOLAS, S.; HEINZMANN, F. X. **Manejo do solo com coberturas verdes de inverno**. Pesquisa Agropecuária Brasileira. Brasília, 1985.

DORAN, J. W.; JONES, A. J. **Methods for assessing soil quality**. Madison, 1996.

EMBRAPA. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Sistema brasileiro de classificação solos**. Rio de Janeiro, 1999.

EMBRAPA Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Centro Nacional de Pesquisa de Solos**. Rio de Janeiro, 2006.

EMBRAPA Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Práticas em Conservação do Solo e Recuperação de Área Degradada**. Rio Branco, 2003.

EMBRAPA Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Amostragem e Cuidados na Coleta de Solo para Fins de Fertilidade**. Embrapa Amazônia, 2014.

ESPÍRITO-SANTO, M. M.; FAGUNDES, M.; NUNES, Y. R. F.; FERNANDES, G. W.; AZOFEIFA, G. A. S. QUESADA, M. **Bases para a conservação e uso sustentável das florestas estacionais decíduais brasileiras**. *Revista Unimontes Científica*, 2006.

FAVERO, C.; JUCKSCH, L.; COSTA, L. M.; ALVARENGA, R. C.; NEVES, I. C. L. **Crescimento e acúmulo de nutrientes por plantas espontâneas e por leguminosas utilizadas para adubação verde**. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*. Viçosa, 2000.

FERREIRA, P. H. M. **Princípios de manejo e conservação do solo**. Nobel. São Paulo, 1981.

FIERER, N. **Assessment of Soil Microbial Community Structure by Use of Taxon-Specific Quantitative PCR Assays**. *Applied and Environmental Microbiology*, 2005.

FRANCHINI, J. C.; CRISPINO, C. C.; SOUZA, R. A.; TORRES, E.; HUNGRIA, M. **Microbiological parameters as indicators of soil quality under various soil management and crop rotation systems in Southern Brazil.** Soil and Tillage Research, 2007.

GALETTI, P. A. **Práticas de controle à erosão.** Instituto Campineiro de Ensino Agrícola. Campinas, 1987.

GILES, M.; MORLEY, N.; BAGGS, E. M.; DANIELL, T. J. **Soil nitrate reducing processes – drivers, mechanisms for spatial variation, and significance for nitrous oxide production.** Front. Microbiol, 2012.

GUERRA, A. J. T.; SILVA, A. S.; BOTELHO, R. G. M. **Erosão e conservação dos solos: conceitos, temas e aplicações.** Rio de Janeiro, 1999.

GUIMARÃES J. R.; GONÇALVES, L. C.; RODRIGUES, J. A. S. **Utilização do milheto para produção de silagem.** Planaltina, 2009.

HAI, B. **Quantification of Key Genes Steering the Microbial Nitrogen Cycle in the Rhizosphere of Sorghum Cultivars in Tropical Agroecosystems.** Applied and Environmental Microbiology, 2009.

HERNÁNDEZ, M. **Simazine application inhibits nitrification and changes the ammonia-oxidizing bacterial communities in a fertilized agricultural soil.** FEMS Microbiology Letters, 2011.

IBGE, Instituto Brasileiro de Geografia e Estatísticas: **Manual técnico de pedologia.** Rio de Janeiro, 2007.

IBGE, Instituto Brasileiro de Geografia e Estatísticas: **Brasil Uma Visão Geográfica e Ambiental no Início do Século XXI.** Rio de Janeiro, 2016.

JUNG, J. **Change in gene abundance in the nitrogen biogeochemical cycle with temperature and nitrogen addition in Antarctic soils.** Microbiol. England, 2011.

JUNG, J. **Seasonal changes in nitrogen-cycle gene abundances and in bacterial communities in acidic forest soils.** Microbiol. Switzerland, 2012.

KIEHL, E. J. **Fertilizantes orgânicos.** Agronômica Ceres. Piracicaba, 1985.

KOSHIMA, A. **FUNDAÇÕES: Teoria e Prática.** São Paulo, 1998.

LEITE, D.; BERTOL, I.; GUADAGNIN, J. C.; SANTOS, E. J.; RITTER, S. R. **Erosão hídrica em um nitossolo háplico submetido a diferentes sistemas de manejo sob chuva simulada.** Revista Brasileira de Ciência do Solo, 2004.

LEITE, L. F. C.; FREITAS, R. C. A.; OLIVEIRA, F. C.; COSTA, O.; LEMOS, J. O.; SOUSA, A. C. M. **Sistemas com base ecológica e suas implicações nos comportamentos de carbono de um Latossolo Vermelho-Amarelo cultivado com melancia na norte do Piauí.** Florianópolis, 2007.

LEPSCH, I. F. **Formação e Conservação Dos Solos.** Oficina de Textos. São Paulo, 2002.

- LIMA, V.C. **Fundamentos de pedologia**. Universidade Federal do Paraná, Setor de Ciências Agrárias. Departamento de Solos e Engenharia Agrícola, 2001.
- LINDSAY, E. A. **The Abundance of Microbial Functional Genes in Grassy Woodlands is Influenced More by Soil Nutrient Enrichment than by Recent Weed Invasion or Livestock Exclusion**. Applied and Environmental Microbiology, 2010.
- LOPES, A.S.; GHILHERME, L. R. G. Boletim Técnico nº 2. **Interpretação de Análise de Solo – Conceitos e Aplicações**, 2004.
- MAGALHÃES, R. A. **Processos Erosivos e Métodos de Contenção**. CEEB. Ouro Preto, 1995.
- MARUYAMA, C. R. **Nanoparticles based on Chitosan as Carriers for the Combined Herbicides Imazapic and Imazapir**. Scientific Reports, 2016.
- McKENZIE, N.; BROWN, K. **Australian Soils and Land-scapes: an illustrated compendium**. CSIRO Publishing, Melbourne. 2004.
- MINASNY, B.; McBRATNEY, A. B. **A rudimentary mechanistic model for soil formation and land-scape development**. A two-dimensional model incorporating chemical weathering. Geoderma, 2001.
- MAO, Y. **Impact of different bioenergy crops on N-cycling bacterial and archaeal communities in soil**. Environmental Microbiology, 2012.
- MONTEIRO, C. A. F. **A dinâmica climática e as chuvas no Estado de São Paulo**. USP/IG. São Paulo, 1973.
- MONIZ, A. C. **Elementos de pedologia**. Livros Técnicos e Científicos. São Paulo, 1975.
- MOREIRA, F. M. S.; SIOUEIRA, J. O. **Microbiologia e bioquímica do solo**. Lavras, 2006.
- MUNSELL. **Soil color charts**. New Windsor: Kollmorgen Instruments. Macbeth Division, 1994.
- NETO, D. D.; VAN LIER, Q. J. **Estimativa do armazenamento de água no solo para a realização de balanço hídrico**. Revista Brasileira de Ciência do Solo, 1993.
- NOVAIS, C. M.; PIRES, A. M. **Uma inovação tecnológica da reação em cadeia da polimerase (PCR)**. Biotecnologia, Ciência e Desenvolvimento, 2004.
- O'ANDREA, A. F. D.; SILVA, M. L. N.; CURI, N.; SIOUEIRA, J. O.; CARNEIRO, M. A. C. **Atributos bioquímicos indicadores da qualidade do solo em sistemas de manejo na região do cerrado no sul do estado de Goiás**. Revista Brasileira de Ciência do Solo. Viçosa, 2002.
- OTTONI, F. T. B. **Uma Classificação físico-hídrica dos Solos**. Revista Brasileira de Ciência do Solo. Campinas, 2003.

- PELCZAR, JR. M. J.; CHAN, E. C. S.; KRIEG, N. R. **Microbiologia: Conceitos e Aplicações**. Rio de Janeiro, 1997.
- PEDROSA, F. O.; HUNGRIA, M.; YATES, M. G.; NEWTON, W. E. **Nitrogen fixation: from molecules to crop productivity**. Dordrecht: Kluwer Academic Pub, 2000.
- PETERS, E. L. P. A. **Cadastro Ambiental Rural e Programa de Regularização Ambiental PRA**. Curitiba, 2014.
- PRIMAVESI, A.; **Manejo Ecológico do solo: a agricultura em regiões tropicais**. Nobel. São Paulo, 2002.
- PINTO, C. S.. **Curso Básico de Mecânica dos Solos**. Oficina de Textos. São Paulo, 2000.
- PARROTA, J. A. KOBAYAMA, M. **Áreas degradadas e sua recuperação**. 1992.
- RAIJ, B.; ANDRADE, J. C.; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J. A. **Análise química de para avaliação da fertilidade de solos tropicais**. Instituto Agronômico. Campinas, 2001.
- RATTER, J. A.; BRIDGEWATER, S.; RIBEIRO, J. F. **Analysis of floristic composition of the Brazilian cerrado vegetation: comparison of the woody vegetation of 376 areas**. Edinburgh Journal of Botany, 2003.
- RESENDE, M. **Pedologia: base para distinção de ambientes**. Viçosa, 1999.
- RHEINHEIMER, D. S.; ANGHINONI, I. **Distribuição do fósforo inorgânico em sistemas de manejo de solo**. Pesquisa Agropecuária Brasileira, 2001.
- ROVEDDER, A. P. M. **Organismos edáficos como bioindicadores da recuperação de solos degradados por arenização no Bioma Pampa**. Ciência Rural, 2009.
- SANTOS, R. D.; LEMOS, R. C.; SANTOS, H. G.; KER, J. C.; ANJOS, L. H. C. **Manual de descrição e coleta de solo no campo**. Sociedade Brasileira de Ciência do Solo. Viçosa, 2005.
- SANTOS, V. E.; CASTILHOS, D. D.; CASTILHOS, R. M. V.; PAULETTO, E. A.; GOMES, A. S.; SILVA, D. G. **Atividade microbiana e teores de carbono e nitrogênio totais de um planossolo sob diferentes sistemas de manejo**. Revista Brasileira de Agrociência. Pelotas, 2004.
- SALIMON, C. I. **Respiração do solo sob florestas e pastagens na Amazônia Sul Ocidental**. Acre, 2003.
- SEIXAS, B. L. S. **Fundamentos do manejo e da conservação do solo**. Centro Editorial e Didático da UFBA. Salvador, 1984.
- SILVA, V. R.; REINERT, D. J.; EICHERT, J. M. **Densidade do solo, atributos químicos e sistema radicular do milho afetados pelo pastejo e manejo do solo**. Revista Brasileira de Ciência do Solo, 2000.

- SINGH, R. K.; KUNDU, S. **Review on Changing Natural Nitrogen Cycle: Special Reference to Kingdom of Saudi Arabia.** International Journal of Engineering Science Invention Research & Development, 2014.
- SAHRAWAT, K. L. **Iron toxicity in wetland rice and the role of other nutrients.** Journal Plant Nutrition, 2004.
- SPEHAR, C. R.; TRECENTI, R. **Desempenho agrônômico de espécies tradicionais e inovadoras da agricultura em semeadura de sucessão e entressafra no cerrado do planalto central brasileiro.** Bioscience Journal, 2011.
- SCIPIONI, M. C. **Distribuição do compartimento arbóreo em gradiente de relevo e solos na encosta meridional da Serra Geral, RS.** Ciência Rural, 2009.
- SCHELLING, J. **Soil genesis, soil classification and soil survey.** Geoderma, Amsterdam, 1970.
- SCHOENEBERGER, P. J. **Field book for describing and sampling soils.** Department of Agriculture National Soil Survey Center, Natural Resources Conservation Service, 1998.
- SCHMIDT, M. A. **Soil microbial communities respond differently to three chemically defined polyphenols.** Plant Physiology and Biochemistry, 2013.
- SOUSA, D. M. G.; LOBATO, E. **Cerrado: correção do solo e adubação.** Embrapa Informação Tecnológica. Brasília, 2004.
- SOLBRIG, O. T. **The origin and function of biodiversity.** Annual Environment Editions, 1996.
- SOIL, D. C. **Department of Agriculture.** Agriculture handbook, 1951.
- STOLF, R.; THURLER, A. M.; BACCHI, O. O. S.; REICHARDT, K. **Method to estimate soil macroporosity and microporosity based on sand content and bulk density.** Revista Brasileira de Ciência do Solo, 2011.
- TEIXEIRA, W.; FAIRCHILD, T. R.; TOLEDO, M. **Decifrando a Terra.** Companhia Editora Nacional. São Paulo, 2009.
- TORMENA, C. A.; BARBOZA, M. C.; COSTA, A. C. S.; GONÇALVES, C. A. **Densidade, porosidade e resistência à penetração em latossolo cultivado sob diferentes sistemas de preparo do solo.** Revista Scientia Agrícola. São Paulo, 2002.
- TOKESHI, H. **Doenças e pragas agrícolas geradas e multiplicadas pelos agrotóxicos.** Fitopatologia, 2000.
- TUNDISI, J. G. **Água no século XXI: enfrentando a escassez.** São Carlo, 2003.
- VAN ELSAS, J. D.; JANSSON, J. K.; TREVORS, J. T. **Modern soil microbiology.** Boca Raton. CRC Press, 2006.
- WHITE, R. E. **Princípios e Práticas da Ciência do Solo.** Ed. Andrei. São Paulo, 2009.