



MESTRADO EM SUSTENTABILIDADE E TECNOLOGIA AMBIENTAL

Nátilla Carvalho Pereira

**AVALIAÇÃO DO IMPACTO DO USO E OCUPAÇÃO DO SOLO SOBRE A
QUALIDADE DE SUA MICROBIOTA EM MONOCULTURAS ESTABELECIDAS
NA ZONA DE AMORTECIMENTO DO PARQUE NACIONAL DA SERRA DA
CANASTRA**

Bambuí - MG

2020

NÁTILA CARVALHO PEREIRA

**AVALIAÇÃO DO IMPACTO DO USO E OCUPAÇÃO DO SOLO SOBRE A
QUALIDADE DE SUA MICROBIOTA EM MONOCULTURAS ESTABELECIDAS
NA ZONA DE AMORTECIMENTO DO PARQUE NACIONAL DA SERRA DA
CANASTRA**

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Sustentabilidade e Tecnologia Ambiental do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Minas Gerais - IFMG, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Sustentabilidade e Tecnologia Ambiental.

Linha de Pesquisa: Ecologia Aplicada

Orientador: Prof. Dr. Gustavo Augusto Lacorte

Bambuí - MG

2020



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
SECRETARIA DE EDUCAÇÃO PROFISSIONAL E TECNOLÓGICA
INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE MINAS GERAIS
Campus Bambuí
Diretoria Geral
Diretoria de Inovação, Pesquisa e Pós-graduação
Coordenadoria de Pós-Graduação
Av. Professor Mário Werneck, 2590 - Bairro Buritis - CEP 30575-180 - Belo Horizonte - MG
37 3431 4900 - www.ifmg.edu.br

FICHA DE APROVAÇÃO

Mestranda: **Nátia Carvalho Pereira.**

Orientador: **Prof. Dr. Gustavo Augusto Lacorte.**

Dissertação de Mestrado, intitulada "*avaliação do impacto do uso do solo sobre a qualidade de sua microbiota em monoculturas estabelecidas na Zona de Amortecimento do Parque Nacional da Serra da Canastra*", de autoria da mestranda em Sustentabilidade e Tecnologia Ambiental, **Nátia Carvalho Pereira**, aprovada pela Banca Examinadora de Defesa, em **09/10/2020**, com a média de pontuação dos baremas de **87,7 pontos**.

Bambuí (MG), 09 de outubro de 2020.



Documento assinado eletronicamente por **Ronaldo dos Reis Barbosa**, Assistente em Administração, em 11/10/2020, às 07:11, conforme art. 1º, III, "b", da Lei 11.419/2006.



Documento assinado eletronicamente por **Gustavo Augusto Lacorte**, Professor, em 11/10/2020, às 10:12, conforme art. 1º, III, "b", da Lei 11.419/2006.



Documento assinado eletronicamente por **Sheila Isabel do Carmo Pinto**, Professora, em 11/10/2020, às 11:35, conforme art. 1º, III, "b", da Lei 11.419/2006.



Documento assinado eletronicamente por **Ricardo Sousa Cavalcanti**, Professor, em 11/10/2020, às 23:37, conforme art. 1º, III, "b", da Lei 11.419/2006.



Documento assinado eletronicamente por **Glória Maria Marinho Silva**, Usuário Externo, em 12/10/2020, às 09:27, conforme art. 1º, III, "b", da Lei 11.419/2006.



Documento assinado eletronicamente por **Fernanda Carla Wasner Vasconcelos**, Usuário Externo, em 12/10/2020, às 22:49, conforme art. 1º, III, "b", da Lei 11.419/2006.



A autenticidade do documento pode ser conferida no site <https://sei.ifmg.edu.br/consultadocs> informando o código verificador **0658728** e o código CRC **650179A4**.

Criado por [ronaldo.barbosa](#), versão 2 por [ronaldo.barbosa](#) em 11/10/2020 07:10:43.

P436a Pereira, Nátila Carvalho.

Avaliação do impacto do uso e ocupação do solo sobre a qualidade de sua microbiota em monoculturas estabelecidas na zona de amortecimento do Parque Nacional da Serra da Canastra. / Nátila Carvalho Pereira. – Bambuí, 2020.

165 f.: il.; color.

Orientador: Prof. Dr. Gustavo Augusto Lacorte.

Dissertação (Mestrado) - Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Minas Gerais – Campus Bambuí, MG, Curso Mestrado Profissional em Sustentabilidade e Tecnologia Ambiental, 2020.

1. Práticas agrícolas. 2. Áreas de preservação permanente. 3. Microbiota do solo. I. Lacorte, Gustavo Augusto. II. Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Minas Gerais – Campus Bambuí, MG. III. Título.

CDD 579

DEDICATÓRIA

Dedico essa dissertação aos meus pais, Marcos e Mirna, pelo exemplo de vida que sempre tento seguir. Ao meu pai que me ensinou a correr atrás dos meus sonhos, a focar nos estudos e nos objetivos a serem alcançados, pois só consegue algo na vida dando o seu melhor sempre. À minha mãe pelo amor incondicional, pela paciência e por acreditar sempre no meu potencial. Se eu for metade do que vocês são, já ficarei satisfeita.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, o maior arquiteto do universo, que me deu a vida e força para chegar até aqui. Consegui porque o Senhor se fez presente, transformando a fraqueza em força e a derrota em vitória.

Agradeço aos meus Pais pelo incentivo, amparo e por abrirem as portas para o meu futuro, muitas das vezes sacrificando os seus sonhos em favor dos meus, sem vocês não seria ninguém. Amo Vocês!

Agradeço a minha irmã Mirian pela amizade, companheirismo e por estar sempre ao meu lado nas horas boas e ruins.

A você Bruno, que foi muito paciente, pois em vários momentos não pude estar presente, mas mesmo assim esteve ao meu lado me apoiando.

Ao professor Dr. Gustavo Augusto Lacorte, por ter me orientado a desenvolver esse trabalho, pois sem a sua ajuda não teria conseguido.

“Vivemos em uma época perigosa. O homem domina a natureza antes que tenha aprendido a dominar a si mesmo”.

Albert Schweitzer

RESUMO

A conversão de terras naturais em áreas agrícolas está aumentando, assim as práticas agrícolas convencionais vêm acarretando em degradação do solo e perda de diversidade. Toda essa mudança pode alterar a população microbiana causando desequilíbrios no meio ambiente. O objetivo geral desse estudo foi avaliar se o uso da terra pelas quatro principais monoculturas da produção agrícola (Café, Milho, Eucalipto e Pastagem) implantados na zona de amortecimento (ZA) do Parque Nacional da Serra da Canastra (PNSC) levam às alterações na microbiota natural do solo. Os objetivos específicos foram verificar se o manejo do solo dessas áreas comparadas com suas Áreas de Preservação Permanente (APP) levam às alterações na composição das condições químicas naturais do solo e comparar se levam a alterações na composição, na diversidade taxonômica e funcional das comunidades bacterianas do solo da ZA do PNSC. Foi utilizado o sequenciamento de alto rendimento do gene 16S rRNA, para acessar a estrutura das comunidades bacterianas do solo, e uma ampla gama de medições de propriedades químicas do solo para realizar uma abordagem comparativa, para encontrar as diferenças nas comunidades microbianas e correlacionar os manejos químicos locais do solo nos quatro sistemas de uso da terra. Os resultados demonstraram que a conversão de terras em agroecossistemas e o manejo do solo das áreas de Café, Milho, Eucalipto e Pastagem levaram às alterações na composição das condições químicas do solo; na α - diversidade das áreas de milho quando comparadas com suas APPs; na composição taxonômica (β – diversidade) das comunidades bacterianas, exceto nas plantações de eucalipto; e nas poucas funções metabólicas das comunidades bacterianas do solo da ZA do PNSC. Concluiu-se que a composição química, a composição taxonômica e as funções metabólicas da comunidade do solo são sensíveis às perturbações, como a aplicação de corretivos e fertilizantes minerais no solo, sendo assim é necessário adotar práticas agrícolas sustentáveis para manter a qualidade do solo, através do plantio direto, rotação de culturas, uso adequado de fertilizantes, cobertura vegetal, adubação orgânica e acúmulo de matéria orgânica no solo.

PALAVRAS-CHAVE: práticas agrícolas; áreas de preservação permanente; microbiota do solo; qualidade do solo; bactérias do solo.

ABSTRACT

The conversion of natural land into agricultural areas is increasing, so conventional agricultural practices have resulted in soil degradation and loss of diversity. All of this change can alter the microbial population causing imbalances in the environment. The general objective of this study was to evaluate whether the use of land by the four main monocultures of agricultural production (Coffee, Corn, Eucalyptus and Pasture) implanted in the buffer zone (ZA) of the Serra da Canastra National Park (PNSC) leads to changes in natural soil microbiota. The specific objectives were to verify whether the soil management of these areas compared to their Permanent Preservation Areas (APP) leads to changes in the composition of the soil's natural chemical conditions and to compare whether they lead to changes in the composition, taxonomic and functional diversity of bacterial communities of the soil of the PNSC ZA. High-throughput sequencing of the 16S rRNA gene was used to access the structure of soil bacterial communities, and a wide range of measurements of soil chemical properties to perform a comparative approach, to find differences in microbial communities and to correlate management local soil chemicals in the four land use systems. The results showed that the conversion of land into agroecosystems and soil management in the areas of Coffee, Maize, Eucalyptus and Pasture led to changes in the composition of soil chemical conditions; α - diversity of maize areas when compared to their APPs; in the taxonomic composition (β - diversity) of bacterial communities, except in eucalyptus plantations; and in the few metabolic functions of the soil bacterial communities of the PNSC ZA. It was concluded that the chemical composition, the taxonomic composition and the metabolic functions of the soil community are sensitive to disturbances, such as the application of correctives and mineral fertilizers in the soil, so it is necessary to adopt sustainable agricultural practices to maintain soil quality, through no-till, crop rotation, proper use of fertilizers, vegetation cover, organic fertilization and accumulation of organic matter in the soil.

KEYWORDS: agricultural practices; permanent preservation areas; soil microbiota; soil quality; soil bacteria.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Esboço do estudo, incluindo a hipótese do estudo, tipos de sistemas de uso da terra acessados, principais abordagens comparativas e mapa de amostragem geográfica.....	29
Figura 2 - Análises de coordenadas principais (PCA) com base nas propriedades químicas do solo para cada monocultura. Círculos cinzas representam agrupamentos de amostra significativos com base em testes PERMANOVA.....	38
Figura 3 - Curva de Rarefação.....	41
Figura 4 - Boxplots de diversidade alfa por agroecossistema. O valor p do teste de Wilcoxon (cultura vs APP) foi indicado na parte inferior de cada gráfico	43
Figura 5 - Abundância relativa de filos bacterianos dominantes para cada ponto amostrado. Os filos bacterianos de baixa abundância (abundância relativa inferior a 3%) foram agrupados como “outros filos”.....	49
Figura 6 - Diagrama de mapa de calor das abundâncias das famílias dominantes de cada amostra de solo por agroecossistema.....	51
Figura 7 - Mapa de calor baseado na correlação entre as famílias bacterianas mais abundantes e propriedades químicas do solo. * Indica correlações significativas com $p < 0,05$	54
Figura 8- Representação de dissimilaridades Unifrac ponderadas (diversidade β) na estrutura da comunidade bacteriana por biplots de Análise de Coordenadas Principais (PCoA) para cada monocultura. Os valores de PERMANOVA p (PPERM) para testes de agrupamento de culturas vs. APPs adjacentes foram descritos no canto inferior direito de cada gráfico.	56
Figura 9 - Grupos funcionais previstos de ASVs encontrados em cada monocultivo com base na Enciclopédia de Genes e Genomas de Kyoto (KEGG) resumidos para KEGG Pathway Nível 2. Grupos funcionais com menos de 2% de abundâncias relativas não foram incluídos.	57
Figura 10 - Boxplot de KO riqueza e KO diversidade de Shannon do agroecossistemas. Teste Wilcoxon (cultura x APP) o valor p foi indicado na parte inferior de cada gráfico.....	59
Figura 11 - Diversidade de KO e comparações de composição entre cultura e amostras de APP por agroecossistema.....	61

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Propriedades químicas do solo dos quatro usos da terra. Os dados são médias de três repetições de cada área amostrada com erros padrão entre parênteses. As comparações entre as amostras cultivadas e de APP significativamente diferentes de acordo com o teste de Wilcoxon estão representadas em negrito e o valor p é mostrado na coluna “valor p”.....	40
Tabela 2 - Correlação de Spearman entre propriedades químicas do solo e índices de diversidade α por agroecossistema. As correlações não significativas são codificadas como “ns”.....	48
Tabela 3 - Testes de PERMANOVA em pares (pontuações PPERM para métrica Bray-curtis) para agrupamento de função metabólica para cada agroecossistema	58
Tabela 4 - Diversidade de Shannon de funções moleculares previstas (KOs) classificadas pelas vias KEGG de nível 2 encontradas em cada sistema de uso da terra acessado. As diferenças significativas encontradas nas comparações de solos cultivados e APPs adjacente estão representadas em negrito	60

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Al	Alumínio
APP	Área de Preservação Permanente
ASVs	<i>Amplicon Sequencing Variants</i>
B	Boro
C	Carbono
C/N	Relação Carbono/Nitrogênio
Ca	Cálcio
t	Capacidade de troca de cátions
cm ³	Centímetro cúbico
CEFAP	Centro Multiusuário de Sequenciamento
Cu	Cobre
DNA	Ácido desoxirribonucleico
Fe	Ferro
g	Grama
GPS	Sistema de Posicionamento Global
h	Hora
ICB	Instituto de Ciências Biológicas
IFMG	Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Minas Gerais
K	Potássio
KCl	Cloreto de Potássio
<i>KEGG</i>	<i>Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes</i>
kg	Quilograma
<i>KO</i>	<i>KEGG Ontology</i>
L	Litro
m	Metro
Mg	Magnésio
m ²	Metro quadrado
min.	Minuto
mL	Mililitro
Mn	Manganês
MO	Matéria orgânica
N	Nitrogênio

<i>OTU</i>	<i>Operational Taxonomic Unit</i>
P	Fósforo
PCA	Análise de Coordenadas Principais
pH	Potencial de Hidrogênio
P-rem	Fósforo remanescente
PNSC	Parque Nacional da Serra da Canastra
S	Enxofre
SB	Soma de Bases
TFSA	Terra fica seca ao ar
UC	Unidade de Conservação
USP	Universidade de São Paulo
W	Watt
ZA	Zona de Amortecimento
Zn	Zinco

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	15
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	19
2.1 Solo como prestador de serviços ambientais.....	19
2.2 Impactos da prática agrícola na qualidade do solo	20
2.3 Papel dos microrganismos na manutenção dos ecossistemas do solo	21
3. OBJETIVOS	24
3.1 Objetivo Geral	24
3.2 Objetivos específicos	24
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	25
4.1 Desenho experimental.....	25
4.2 Descrição da área de estudo	25
4.3 Hipótese.....	27
4.4 Descrição da amostragem do solo	27
4.4.1 Localização da Região	27
4.4.2 Período de coleta	27
4.4.3 Critérios de definição das áreas cultivadas e APPs	27
4.4.4 Descrição do método de coleta do solo.....	28
4.5 Descrição dos atributos químicos do solo	29
4.5.1 Análise química do solo.....	29
4.6 Extração de DNA.....	29
4.7 Amplificação por PCR e sequenciamento de DNA.....	30
4.8 Análise bioinformática dos dados.....	31
4.9 Análise estatística dos dados	32
4.9.1 Análise dos dados referentes à composição química do solo	32
4.9.2 Análise dos dados referentes à composição microbiológica do solo.....	33

4.10	Desenvolvimento de produto técnico e acadêmico	35
5.	RESULTADOS.....	37
5.1	Propriedades químicas do solo	37
5.1.1	Análise de Coordenadas Principais	37
5.2	Diversidade bacteriana.....	40
5.2.1	Robustez e eficiência do sequenciamento.....	40
5.2.2	Diversidade das comunidades bacterianas (α diversidade).....	41
5.2.3	Correlações de Spearman entre as propriedades químicas do solo e a α -diversidade.....	47
5.3	Composição bacteriana	48
5.3.1	Filos bacterianos.....	48
5.3.2	Mapa de calor das famílias bacterianas	49
5.3.3	Análise de correlação famílias x propriedades do solo.....	53
5.3.4	Composição das comunidades bacterianas (β diversidade)	55
5.4	Funções bacterianas	56
5.4.1	Funções metabólicas mais frequentes.....	56
5.4.2	Composição geral de funções metabólicas com a implantação dos sistemas agrícolas.....	58
5.4.3	Diversidade geral das vias	58
5.4.4	Comparação da diversidade de Shannon das vias metabólicas entre as áreas de cultivo e as áreas de APPs adjacentes	59
6.	DISCUSSÃO	62
7.	CONCLUSÃO	82
	REFERÊNCIAS	84

1. INTRODUÇÃO

O uso da terra tem sido considerado uma importante questão ambiental, pois as mudanças nas florestas e terras agrícolas do mundo, estão sendo impulsionadas pela necessidade de fornecer alimentos, bens de consumo e abrigo para bilhões de pessoas.

Áreas de pastagens e plantações se expandiram nas últimas décadas, acompanhadas por consideráveis perdas de biodiversidade e diminuição da capacidade dos ecossistemas de sustentar a produção de alimentos, manter os recursos de água doce e florestal, regular a qualidade do ar e do clima e preservar a sobrevivência da microbiota do solo (FOLEY et al., 2005).

A maioria dos solos próprios para cultivo já estão sendo usados para a produção agrícola e essa intensificação da produção para cobrir as demandas futuras, deve considerar a sustentabilidade ambiental, caso contrário será acompanhada por impactos ambientais que podem se tornar irreversíveis aos solos.

Impactos esses que podem levar à salinização de áreas, erosão do solo, acúmulo de agroquímicos e patógenos, perda de fertilidade, biodiversidade e de serviços ecossistêmicos (BENDER et al., 2016).

O solo presta serviços ecossistêmicos através de suas inúmeras funções, sendo assim estes serviços dependem das propriedades do solo e suas interações e é influenciado pelos diferentes usos e pelo seu manejo, o que é chamado de serviços ambientais, os quais são realizados pelas atividades humanas que contribuem para a manutenção, recuperação ou melhoria dos serviços ecossistêmicos.

Para Babin et al. (2019) as práticas agrícolas convencionais prejudicam o solo e seus microrganismos devido ao aumento da aplicação de agroquímicos, a falta de rotação de culturas, a excessiva mecanização entre outras práticas de manejo. O solo passou a ser manejado com novas tecnologias que propiciaram o desenvolvimento das culturas, o que transformou as terras agrícolas e pastagens nos maiores biomas confrontando com a cobertura florestal que vem sendo perdida devido à expansão agrícola e a extração de madeira (FOLEY et al., 2005).

As práticas agrícolas conservacionistas, através do sistema de plantio direto, do uso de plantas na cobertura do solo e do uso adequado de fertilizantes são algumas das práticas de agricultura de conservação promovidas para a mitigação da erosão do solo, melhoria na qualidade do solo e conseqüentemente na produtividade das culturas (MBUTHIA et al., 2015).

Portanto, grande parte das alterações químicas e biológicas que ocorrem no solo é devido ao manejo inadequado do mesmo, pois os solos sofrem degradação física, como erosão e compactação, degradação química devido à acidificação e perda de nutrientes, e degradação biológica, através da perda de matéria orgânica e da biodiversidade. Então, toda essa mudança altera a população microbiana, causando desequilíbrios no meio ambiente e danos nas diferentes funções desenvolvidas pela microbiota do solo.

Os organismos do solo são um componente integral dos ecossistemas, porém as suas atividades recebem pouco reconhecimento nas estratégias de manejo agrícola, o que é errado, pois a microbiota do solo tem um potencial para melhorar a prestação de serviços ecossistêmicos e assim a biodiversidade do solo promove múltiplas funções ecossistêmicas (BENDER et al., 2016).

Segundo Andreola e Fernandes (2007) a diversidade de microrganismos presentes no solo é grande, pois além de fazerem parte desse sistema, estão envolvidos em vários processos de grande interesse agrônomo, pois são responsáveis por inúmeras reações bioquímicas, controla as principais funções e propriedades do solo, como a transformação da matéria orgânica; atuam como reguladores de nutrientes, pela decomposição da matéria orgânica e ciclagem dos elementos, ou seja, atuam como fonte e dreno de nutrientes para as plantas, ajudam na agregação, aeração, capacidade de retenção de água e proliferação de raízes.

O que permite analisar a diversidade de microrganismos do solo são as ferramentas moleculares, que de acordo com Fierer et al. (2012) vem ocorrendo o desenvolvimento contínuo de ferramentas moleculares de alta produtividade e as ferramentas necessárias para analisar essa grande quantidade de dados.

Portanto é por meio dessas ferramentas que caracterizam-se a diversidade taxonômica, filogenética e funcional das comunidades microbianas do solo. A partir dessa tecnologia é que diversos estudos já foram desenvolvidos, e sabe-se agora que as comunidades bacterianas do solo são fortemente influenciadas por diversas propriedades do solo, como pelo pH e os nutrientes presentes no mesmo, o que explica uma grande proporção da variação na diversidade bacteriana do solo e na composição da comunidade. Um exemplo são os solos com pH neutro que apresentam maior diversidade bacteriana, diferente dos solos mais ácidos ou mais básicos e as abundâncias relativas de muitos filos bacterianos mostraram-se fortemente correlacionados com o pH do solo. Mudanças na disponibilidade de nutrientes ao solo podem ter influências consideráveis nas estruturas das comunidades microbianas do solo.

Para Andreote e Cardoso (2016) em relação a diversidade e a estrutura das comunidades microbianas do solo, trabalhos mostram a homogeneização da microbiota em

áreas de floresta convertidas em monoculturas, indicando que a remoção da floresta diminui a beta diversidade do bioma. Este efeito possivelmente é uma consequência das alterações nas propriedades físicas, químicas e biológicas naturais do solo, o que resulta em maior exposição de nutrientes e conseqüentemente o surgimento de novos nichos a serem ocupados pela microbiota, ou seja, ocorre a seleção de determinados grupos microbianos.

Portanto, o uso e ocupação do solo com a implantação e manutenção de monoculturas pode levar a alterações nas condições químicas naturais do solo da zona de amortecimento (ZA) do Parque Nacional da Serra da Canastra (PNSC). Essas alterações são diferentes em cada tipo de monocultura implantada, como é o caso da cultura do café, milho, eucalipto e pastagem, e estão associadas a mudanças na composição da microbiota do solo, principalmente as bactérias, ocorrendo alterações nas funções ecológicas e serviços ecossistêmicos desempenhados por elas.

Esse estudo é de grande importância, pois a microbiota do solo desempenha funções, e as bactérias que é o objeto de estudo, estão envolvidas em vários processos e as mudanças que ocorrem no solo, altera a população das mesmas, causando desequilíbrios no meio ambiente e danos na ciclagem dos nutrientes.

Um outro fator de desenvolvimento do estudo é porque a ZA deveria estar amortecendo e protegendo os ecossistemas do PNSC. Sendo assim para conscientizar e disponibilizar informações aos produtores rurais que estão presentes na região da ZA, disponibilizou-se propostas de ações para os produtores obterem boa produtividade e produzirem sem causar danos à microbiota do solo, realizando um manejo adequado do solo e considerando as propriedades físicas (aeração, retenção de água, compactação, estruturação), químicas (reação do solo, disponibilidade de nutrientes, interações entre estes) e biológicas (teor de matéria orgânica, respiração, biomassa de carbono, biomassa de nitrogênio, taxa de colonização e espécies de microrganismos). E por fim pode-se considerar que haverá diminuição de custos com o controle químico e preservação da microbiota do solo. Numa escala maior, considera-se que haverá preservação dos serviços ecossistêmicos prestados pela unidade de conservação a longo prazo, beneficiando toda a comunidade local.

O objetivo desse estudo foi investigar se o uso da terra pelas quatro principais monoculturas da produção agrícola, Café, Milho, Eucalipto e Pastagem implantados na zona de amortecimento do Parque Nacional da Serra da Canastra levam às alterações na microbiota natural do solo.

Contudo para atender à maior demanda da população por alimentos é necessária uma melhor compreensão de como o manejo do solo e as práticas agrícolas afetam a microbiota do

local, pois o solo deve ser manejado visando a sustentabilidade, ou seja, produzir através de uma agricultura sustentável, levando em consideração a qualidade do solo e o bom funcionamento de seu ecossistema.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Solo como prestador de serviços ambientais

Os serviços ambientais prestados pelo solo estão relacionados às funções que o mesmo executa, e que são de grande importância para o entendimento do papel relevante desse recurso natural.

O conceito de serviços ambientais está relacionado com os benefícios que as pessoas obtêm da natureza direta ou indiretamente, através dos ecossistemas, a fim de sustentar a vida no planeta. Segundo o Millennium Ecosystem Assessment (2005) os serviços ambientais são classificados em serviços de provisão que reportam o abastecimento de alimentos diretos ou indiretos para seres humanos, água doce, madeira, fibra e combustível, assim os ecossistemas fornecem as condições para o cultivo de alimentos e outros recursos; serviços de regulação são aqueles que regulam a qualidade da água, do ar e do clima, afetam as inundações e desastres naturais, controlam a erosão, os processos biológicos como polinização e as doenças e degradam resíduos; serviços culturais são os benefícios não materiais obtidos a partir do contato com os ecossistemas, incluindo benefícios estéticos, espirituais, educacionais e recreativos; e serviços de apoio que estão relacionados com a formação do solo, com os processos de fotossíntese, de ciclagem de nutrientes, de produção, habitat e biodiversidade, assim esses serviços sustentam quase todos os outros serviços.

Os serviços ecossistêmicos dependem das propriedades do solo e suas interações, e é influenciado pelos diferentes usos e pelo seu manejo. Vinculando os serviços ambientais às várias funções fornecidas pelo solo tem-se que o solo é a base para a biodiversidade. É habitat para os genes de animais e microrganismos e o meio para suporte e desenvolvimento de plantas, pois dependem do solo para serem supridas de água, ar e nutrientes. O solo realiza a estocagem, regulação e liberação de nutrientes, constituindo parte dos ciclos biogeoquímicos e influenciando os outros recursos naturais, assim os elementos podem ser transformados em formas que são facilmente disponíveis para as plantas e armazenados no solo. O solo fornece uma dieta saudável para o bem estar humano e animal. Atua no ciclo da água, pois pode regular a drenagem, o fluxo e o estoque de água e solutos. A água é direcionada para os reservatórios de subsuperfície ou para o uso das plantas e animais edáficos. O solo age na manutenção da qualidade da água e do ar. Os compostos tóxicos introduzidos no ambiente podem ser retidos, degradados ou se tornarem indisponíveis para plantas e animais, assim sua capacidade de estocar, filtrar, tamponar e transformar substâncias, é crucial para produção e

proteção do suprimento de água e para regulação dos gases de efeito estufa. O solo é um provedor de matérias-primas, como fibras, madeiras e antibióticos sintetizados de fungos e bactérias do solo para produzir medicamentos. Ele é a base para as estruturas urbanas e conserva o legado arqueológico, essencial para a preservação do patrimônio cultural da humanidade. E entre outras tantas funções o solo é um componente fundamental das paisagens, oferecendo beleza à humanidade (ADHIKARI e HARTEMINK, 2016; ELDOR, 2015; VEZZANI, 2015).

2.2 Impactos da prática agrícola na qualidade do solo

De acordo com Eldor (2015) e Moreira (2006) alguns processos de práticas agrícolas do cultivo intensivo impactam de forma negativa o solo, por meio da derrubada da vegetação nativa, do preparo do solo e do cultivo e manutenção de monoculturas, causando a degradação dos solos, promovendo a erosão e o aumento das perdas de matéria orgânica.

A implantação de culturas e pastagens com a retirada de florestas naturais causam efeitos deletérios sobre a composição química do solo e sobre os microrganismos e seus processos, diminuindo as populações de organismos e, conseqüentemente, a qualidade do solo. As modificações que ocorrem nos fatores químicos do solo estão relacionadas com a adição ou remoção de elementos (adubação, calagem, exportação por colheita), e as práticas de cultivo (plantio convencional e direto), as quais causarão impacto na microbiota do solo. A adubação, química ou orgânica, no geral aumenta a microbiota através do aumento da disponibilidade de nutrientes e fontes de carbono. O plantio direto parece favorecer a microbiota em relação ao plantio convencional, principalmente pelo maior acúmulo de matéria orgânica vegetal, que é fonte de C e nutrientes para a biota e ausência de mecanização. A prática da queima dos restos vegetais pode ter efeito deletério sobre os microrganismos, visto que a maior parte dela está localizada nas camadas superficiais, menos protegidas do efeito isolante térmico do solo. Compostos ou elementos tóxicos (xenobióticos, metais pesados) adicionados ao solo por meio de diversas atividades antrópicas (agrícolas, indústrias, mineradoras) têm efeitos prejudiciais à microbiota. Por isso, os organismos do solo podem ser importante ferramenta em estudos de avaliação da qualidade dos solos (ELDOR, 2015; MOREIRA, 2006).

Portanto diversos fatores afetam os organismos de solo, por isso suas populações são extremamente variáveis dependendo do tipo de solo, da vegetação, do manejo do solo e das condições climáticas. Assim, grandes variações podem ser encontradas entre ecossistemas

distintos na mesma região ou de distintas regiões geográficas. Além disso, a grande variabilidade dos micro-habitat com seus respectivos ambientes permite a coexistência de organismos com características bastante distintas.

2.3 Papel dos microrganismos na manutenção dos ecossistemas do solo

Os microrganismos do solo, principalmente as bactérias, realizam serviços ambientais auxiliando os sistemas agrários e naturais, que atuam na proteção de plantas contra doenças e pragas, ou seja, ação antagônica aos patógenos, na fixação biológica de N_2 , na solubilização de fosfatos, no fornecimento de hormônios vegetais, na transferência de nutrientes diretamente do solo para as raízes entre outras (ANDREOLA e FERNANDES, 2007).

Os microrganismos realizam atividades importantes para a manutenção e sobrevivência das comunidades vegetais e animais. No solo, as funções principais dos organismos são: decomposição da matéria orgânica, produção de húmus, ciclagem de nutrientes e fluxo de energia, produção de compostos complexos que contribuem para a agregação do solo, decomposição de xenobióticos e controle biológico de pragas e doenças, entre outras funções. As atividades microbianas resultam da necessidade desses organismos de sustentar sua própria vida e se reproduzir em resposta a um conjunto único de restrições ambientais (ELDOR, 2015; MOREIRA, 2006).

Muitos aspectos da função microbiana do solo estão relacionados ao papel dos microrganismos na determinação dos resultados nos ecossistemas. Ecossistemas são sistemas definidos por uma composição específica de populações em interação e o ambiente no qual esses organismos interagem. Eles são definidos espacialmente pelas interações dos organismos e sua relação com o espaço físico como um sistema integrado e são afetados por eventos de longo e curto prazo (ELDOR, 2015).

As atividades humanas alteram a dinâmica do ecossistema através do cultivo e queima, aumentando as cargas químicas do solo e introduzindo pesticidas e outros produtos químicos produzidos pelo homem no solo. Todas essas práticas terão impactos na estrutura da comunidade microbiana, alterando ainda mais as funções metabólicas.

Alterações na taxa de mineralização de qualquer nutriente necessário às plantas alterarão a produtividade do ecossistema. Se as taxas desse processo aumentam ou diminuem, depende das mudanças específicas de temperatura e umidade e da interação entre os dois, assim podem ocorrer impactos na eficiência microbiana e no grau em que os microrganismos evoluem sob as novas restrições. Os fatores de formação do solo, incluem clima, tempo,

material de origem, biota e topografia, estabelecem limites para os tipos e taxas de processamento e as matérias-primas disponíveis para processamento no ecossistema. O clima é um dos fatores mais importantes, pois determina as taxas de processamento, controlando a disponibilidade, a temperatura e a umidade. O tempo é um fator importante para avaliar o grau de intemperismo dos solos ou o desenvolvimento vegetativo desde uma perturbação. O tempo necessário para o desenvolvimento dos solos está relacionado de forma interativa com o clima, pois as condições ambientais adversas exigem muito mais tempo para o desenvolvimento do solo, enquanto os ambientes mais quentes, com ampla umidade e temperaturas moderadas, exigem consideravelmente menos. O tipo de material de origem determina a capacidade de retenção de nutrientes e água do meio em que os organismos crescem e os tipos de micro e macrorganismos que podem existir. A topografia, a inclinação e as características determinam o acesso à água, o movimento dos materiais, a profundidade do solo e o grau de intemperismo do material de origem. A topografia pode alterar a estrutura da comunidade acima e abaixo do solo e a consequente atividade microbiana com base na localização da encosta, que tem grandes impactos na umidade e na produtividade da planta e refletirá na quantidade de energia recebida. Em termos de desenvolvimento do solo, a função da comunidade microbiana altera a química do solo diretamente através de processos que aumentam a disponibilidade de nutrientes (fixação de N, solubilização de P) e/ou alteram as taxas de decomposição. A função da comunidade microbiana altera a estrutura física do solo como resultado do envolvimento da agregação, que afeta diretamente a infiltração de água, a resistência à erosão e a disponibilidade de nutrientes. A função microbiana afeta diretamente as características do ecossistema (ELDOR, 2015).

No solo, a diversidade e a composição microbiológica, assim como suas funções, estão relacionadas a características intrínsecas desse habitat, que é um sistema heterogêneo, complexo, descontínuo, estruturado e dinâmico com diferentes características químicas, físicas e comunidades biológicas. Tais características permitem que organismos com metabolismos diferentes possam conviver lado a lado, interagindo de forma positiva ou negativa em estado de equilíbrio dinâmico, muitas vezes com relações de dependências essenciais para sua sobrevivência, proporcionando, assim, condições ideais para uma biodiversidade extremamente elevada. Assim, as relações entre organismos influenciam vários processos do solo como a mineralização da matéria orgânica e de xenobióticos, controle biológico de pragas e doenças, ciclagem de nutrientes, formação de húmus e equilíbrio biológico. Sabe-se então que muitos tipos de variação ambiental afetam a composição da comunidade, biomassa e atividade microbiana do solo. No entanto, existem

muitas diferenças entre tipos de solo, tipos de ecossistema e usos da terra e é provável que uma combinação complexa de fatores de perturbação do solo esteja envolvida na diferenciação de comunidades microbianas em escala regional (MOREIRA, 2006; ELDOR, 2015).

Como os processos no solo são mediados por microrganismos é essencial entender o grau de sensibilidade da comunidade microbiana às práticas de manejo, para poder prever os efeitos no funcionamento do solo.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

O objetivo desse estudo foi avaliar se o uso da terra pelas quatro principais monoculturas da produção agrícola (Café, Milho, Eucalipto e Pastagem) implantados na ZA do PNSC levam às alterações na microbiota natural do solo.

3.2 Objetivos específicos

- Verificar se o manejo do solo dos quatro tipos de monoculturas (Café, Milho, Eucalipto e Pastagem) levam às alterações na composição das condições químicas naturais do solo da ZA do PNSC;
- Comparar se o manejo do solo dos quatro tipos de monoculturas (Café, Milho, Eucalipto e Pastagem) levam a alterações na composição, na diversidade taxonômica e funcional das comunidades bacterianas do solo da ZA do PNSC.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Desenho experimental

Com o propósito de alcançar o objetivo proposto de verificar o impacto causado pelo uso e ocupação do solo por diferentes tipos de monoculturas sobre a microbiota, foi escolhida uma área com paisagem típica do Cerrado do sudeste brasileiro com os quatro monocultivos (café, milho, pastagem e eucalipto) implantados em áreas muito próximas e foram comparadas amostras da microbiota do solo impactado por cada um destes cultivos com amostras da microbiota de solo de áreas de preservação permanente adjacentes às áreas impactadas.

4.2 Descrição da área de estudo

A área de estudo está localizada na zona de amortecimento (ZA) pertencente ao Parque Nacional da Serra da Canastra (PNSC). Estas zonas de amortecimento são áreas demarcadas desde o processo de implantação de uma Unidade de Conservação (UC) onde as atividades humanas estão sujeitas às normas e restrições específicas no sentido de garantir uma maior eficácia na proteção dos recursos naturais e culturais das UCs, através da minimização dos impactos negativos ocorridos no entorno da mesma (MMA/IBAMA, 2005).

A área do PNSC e seu entorno situam-se no domínio fitogeográfico do Cerrado. Esse bioma tem uma extensão de aproximadamente 200 milhões de hectares, o que representa 23,03% do território nacional e o Parque contribui com a proteção de aproximadamente 3,8% da área protegida de cerrado sob as Unidades de Conservação federais, uma área cuja prioridade para a conservação é extremamente alta.

Com a substituição de grande parte da cobertura vegetal nativa por pastagens e lavouras, restaram apenas algumas manchas de florestas mesófilas, outras de cerrado e árvores isoladas em meio às pastagens (MMA/IBAMA, 2005).

O PNSC apresenta praticamente todas as fitofisionomias do bioma Cerrado que englobam formações florestais (mata ciliar, mata de galeria, mata de encosta, mata seca e cerradão), savânicas (cerrado sentido restrito) e campestres (campo limpo, campo sujo e campo rupestre) (MMA/IBAMA, 2005).

Referente ao solo do PNSC, foram identificados vários tipos, onde predominam os Latossolos Vermelho-Amarelo distróficos de textura argilosa e Cambissolos distróficos e

litólicos. Dentro dos limites do Chapadão da Canastra foram identificados solos latossólicos; solos medianamente profundos; solos cambisólicos medianamente profundos com ou sem cascalho; solos poucos profundos cambisólicos; solos pouco profundos neossolos; e afloramentos rochosos (MMA/IBAMA, 2005).

A agropecuária é desenvolvida no PNSC e na ZA de forma desordenada e não sustentável, estando presente em toda a ZA, onde se encontram instaladas fazendas, que em alguns casos ocupam proporções extensivas. O uso e ocupação do solo na região é bem diversificado, e as principais atividades desenvolvidas são as de lavouras perenes e anuais, pastagens naturais e exóticas, matas naturais e plantadas, lavouras em descanso e produtivas não utilizadas.

As áreas de preservação permanente também sofrem impactos negativos, as quais são definidas como áreas protegidas, cobertas ou não por vegetação nativa, com a função ambiental de preservar os recursos hídricos, a paisagem, a estabilidade geológica e a biodiversidade, facilitar o fluxo gênico de fauna e flora, proteger o solo e assegurar o bem-estar das populações humanas. As APPs também estão presentes dentro da UC, porém encontram-se descaracterizadas e descontínuas, impedindo a formação de corredores entre as matas, diminuindo a diversidade de espécies e a estabilidade ecológica (MMA/IBAMA, 2005).

De acordo com Cruz (2015), o Cerrado é o segundo maior bioma do Brasil, ocupando a região central do país e sendo chamado também de savana brasileira. É uma região caracterizada por uma vegetação baixa de até 20 m, esparsa, com caules retorcidos e folhas espessas. Além das árvores também possui plantas herbáceas, principalmente as gramíneas. Apesar de parecer uma resposta à escassez de água, na verdade é uma resposta à escassez de nutrientes. Seu solo é muito pobre e possui alta concentração de alumínio, que é tóxico para as plantas. As árvores possuem essa aparência também em função do fogo, que pode acontecer de forma espontânea e natural no período de seca. Muitas plantas possuem adaptações ao fogo, como resina de proteção a órgãos internos e sementes com casca resistente. Suas fisionomias são nomeadas em função da quantidade de plantas encontradas na região e podem ser classificadas como cerradão (fisionomia florestal), cerrado limpo (com poucas plantas) ou cerrado sujo (com muitas plantas). É considerada área de prioridade para conservação, a nível mundial, porém vem sofrendo muitos impactos causados pela agricultura. Como seu solo é muito pobre em nutrientes e ainda tóxico, até a década de 50 ele não era explorado, mas com o desenvolvimento de novas tecnologias das práticas agrícolas (calagem do solo, fertilizantes minerais, maquinário agrícola) e o crescimento do plantio de

diferentes culturas através de incentivos oferecidos pelo governo, foi possível produzir em grande escala nesse bioma. Todos esses fatores iniciaram o processo de crescimento econômico e consequente impacto ambiental descontrolado na região.

4.3 Hipótese

Cada monocultura impacta o solo de uma maneira diferente, podendo alterar a composição química do solo, a diversidade, a composição da microbiota do local e a diversidade funcional das bactérias.

4.4 Descrição da amostragem do solo

4.4.1 Localização da Região

A amostragem de solo foi realizada na ZA do PNSC, pois é nessa região no entorno do Parque que podem ser desenvolvidas as atividades agropecuárias conforme Figura 1.

4.4.2 Período de coleta

A coleta de solo foi realizada em março de 2018, e as amostras foram utilizadas para realizar as análises químicas e a extração de DNA para a caracterização metagenômica das comunidades microbianas do solo.

4.4.3 Critérios de definição das áreas cultivadas e APPs

Na ZA do PNSC estão presentes várias propriedades de produtores rurais, os quais promovem atividades agrossilvipastoris, ou seja, desenvolvem atividades de agricultura, pecuária e floresta, para a produção de grãos, leite, carne e madeira. As amostras de solo coletadas nas áreas cultivadas dos empreendimentos foram definidas como áreas de tratamento e as amostras de solo coletadas nas áreas de preservação permanente (APP) foram definidas como áreas de controle, ou seja, áreas com características do solo em condições originais sem influência do impacto estudado.

Foram selecionados, ao acaso, quinze empreendimentos rurais, nos quais tinham implantados uma das quatro monoculturas sob estudo: café (4 empreendimentos), milho (4

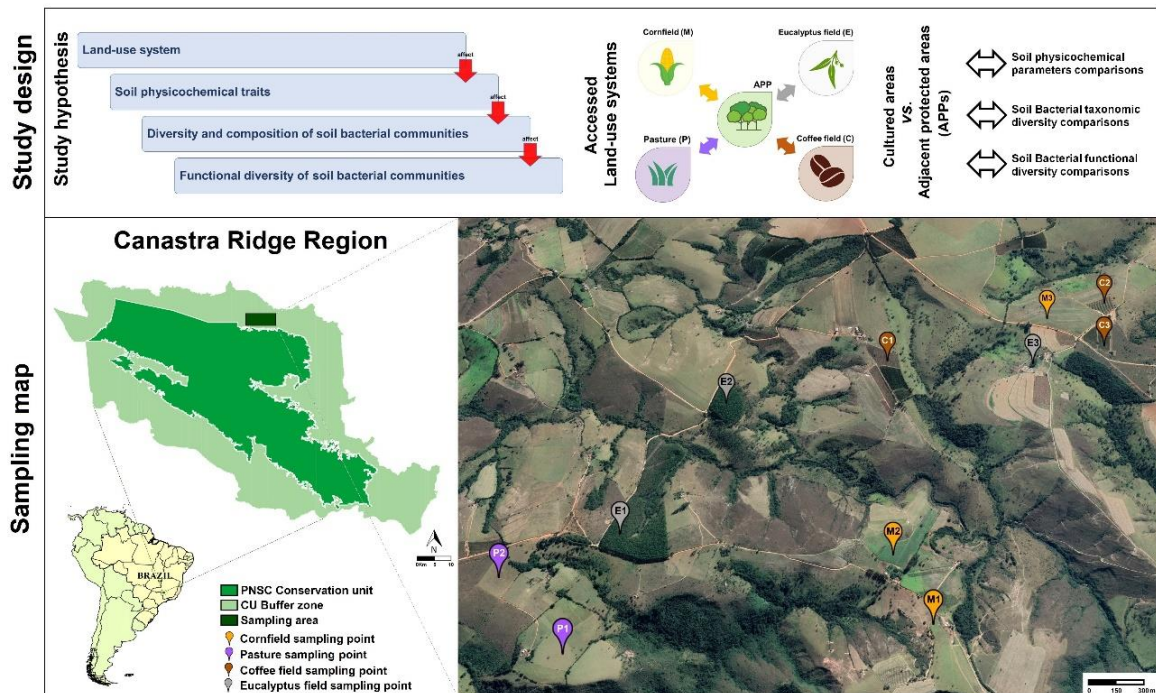
empreendimentos), eucalipto (3 empreendimentos) e pastagens (4 empreendimentos) e uma área de preservação permanente (APP) adjacente a cada uma delas. Totalizando em 15 áreas de tratamento e 15 áreas de controle, ou seja, 30 pontos amostrais.

Entretanto não foi possível realizar as análises microbiológicas de amostras de solo de quatro áreas selecionadas. Portanto as análises microbiológicas foram baseadas em três áreas de produção de café, três áreas de produção de milho, três áreas de produção de eucalipto e apenas duas áreas de pastagem (Figura 1).

4.4.4 Descrição do método de coleta do solo

Em cada área de cultura instalada e de APP, coletou-se uma amostra composta de solo, ou seja, foram coletadas duas subamostras na área agricultável e duas subamostra na área de floresta, formando para cada uso do solo uma amostra composta, totalizando trinta amostras. No instante das coletas, em cada área selecionada foram georreferenciados os pontos amostrais utilizando um GPS. Cada ponto amostrado foi delimitado em uma área de 4 m². A superfície foi limpa com o auxílio de uma enxada e coletou-se quatro sub amostras de solo dentro da área selecionada, sendo cada uma composta de 250 gramas, as quais foram misturadas em um balde para se obter uma amostra composta representativa de aproximadamente 1,0 kg de solo. As amostras de solo foram coletadas entre 0 e 20 cm de profundidade, retiradas com a cavadeira. Depois as amostras compostas foram acondicionadas em sacos plásticos, com as devidas identificações e mantidas em caixas de isopor contendo gelo durante a viagem entre a área de amostragem do solo até o Laboratório de Biologia Molecular do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia - IFMG - Campus Bambuí, onde foram mantidas resfriadas.

Figura 1 - Esboço do estudo, incluindo a hipótese do estudo, tipos de sistemas de uso da terra acessados, principais abordagens comparativas e mapa de amostragem geográfica



Fonte: Autor, 2020.

4.5 Descrição dos atributos químicos do solo

4.5.1 Análise química do solo

As trinta amostras coletadas foram divididas em duas porções, uma parte foi acondicionada novamente em sacos plásticos limpos e com identificação e encaminhadas para o Laboratório de Solos do IFMG - Campus Bambuí, para serem analisadas, porém para cada amostra foram necessárias três réplicas, totalizando em noventa amostras.

As amostras foram analisadas no sentido de aferir as treze propriedades químicas que potencialmente podem estar relacionados com o metabolismo microbiano do solo: pH; P; K; Ca; Mg; Al; M.O.; B; Cu; Fe; Mn; Zn e S.

A metodologia utilizada na análise de solo seguiu o que diz Teixeira et al. (2017) e Ribeiro et al. (1999).

4.6 Extração de DNA

A etapa de preparação das amostras para a extração do DNA dos microrganismos foi realizada no Laboratório de Biologia Molecular do IFMG - Campus Bambuí, em agosto de 2018. Para concluir esse objetivo foram separadas amostras de 0,25 mg do solo de cada uma das 30 amostras coletadas em triplicata, totalizando 90 amostras.

O DNA foi extraído utilizando o Kit comercial DNeasy PowerSoil Kit (Qiagen), seguindo as instruções do fabricante incluindo apenas um período de incubação à 95°C por 2 minutos para favorecer a extração de DNA de bactérias gram-positivas.

Primeiramente realizou-se a higienização da câmara de fluxo laminar vertical com hipoclorito de sódio e álcool 70%, pois todas as etapas são realizadas dentro da câmara. Colocaram-se todos os materiais a serem utilizados dentro da câmara, a qual foi ligada por 15 minutos para esterilizar os materiais e o ambiente de uma possível contaminação, garantindo a segurança da manipulação.

Os materiais e os procedimentos utilizados para a extração de DNA foram de acordo com as instruções do fabricante.

A qualidade do DNA extraído foi verificada por eletroforese de uma alíquota da amostra em gel de agarose a 1,5% corado com corante não-mutagênico. A concentração do DNA extraído, ou seja, a quantidade foi estimada por espectrofotometria utilizando o aparelho NanoDrop (ThermoFischer).

4.7 Amplificação por PCR e sequenciamento de DNA

A caracterização da composição das comunidades procarióticas típicas de cada amostra foi realizada através do sequenciamento da região hipervariável V4 do gene ribossomal rDNA 16S, utilizando os oligoiniciadores 515F (5'-GTGYCAGCMGCCGCGGTAA-3') e 806R (5'-GTGYCAGCMGCCGCGGTAA-3') adicionados de adaptadores que permitem o sequenciamento simultâneo de muitas amostras por placa de sequenciamento, através da presença de uma sequência de nucleotídeos exclusiva de cada oligoiniciador (chamada "barcode") e sequências de ligação ao cartucho da plataforma Illumina MiSeq (GILBERT; JANSSEN; KNIGHT, 2014).

A reação de PCR foi realizada em triplicata utilizando as condições padrões do sistema de amplificação otimizado OneTaq Hot Start Quick-Load® 2X Master Mix with GC Buffer (New England Biolabs) num volume total de 25 µL, com concentração final de cada primer de 5 µM. As condições de amplificação foram: 1X(94°C/3'), 25X(94°C/45s, 50°C/60s, 72°C/90s), 1X(72°C/10m, 04°C/∞). Os amplicons produzidos em triplicata foram combinados

e purificados utilizando o sistema Agencourt AMPure XP (Beckman Coulter). A quantificação dos amplicons foi realizada utilizando o kit Quant-iT PicoGreen dsDNA Assay Kit (ThermoFisher/Invitrogen cat. no. P11496) seguindo as instruções do fabricante.

Os amplicons purificados foram reunidos num único tubo (pool de bibliotecas) em quantidades equitativas de amplicons (normalização das bibliotecas) de modo a não favorecer o sequenciamento de alguma amostra em detrimento das demais. As amostras foram submetidas ao sequenciamento utilizando a plataforma Illumina MiSeq no centro multiusuário de sequenciamento CEFAP, localizado no Instituto de Ciências Biológicas da Universidade de São Paulo (ICB/USP). O sequenciamento seguiu as condições padrão do sistema Illumina MiSeq V2 de 500 ciclos, esquema de sequenciamento de “pontas pareadas” (paired-end) equitativo (2 x 250), no qual o fragmento alvo é sequenciado no sentido direto (do primeiro nucleotídeo em diante) e também no sentido reverso (a partir do último nucleotídeo em direção ao primeiro).

4.8 Análise bioinformática dos dados

Todo o tratamento dos dados gerados no sequenciamento da região V4 do gene ribossomal 16S rRNA foi realizado utilizando a plataforma bioinformática de análise de dados de microbiomas gerados por sequenciamento de nova geração QIIME2TM (BOLYEN et al., 2018) e seguindo os parâmetros sugeridos pelo The Earth Microbiome Project (GILBERT; JANSSON; KNIGHT, 2014).

O módulo DEMUX foi utilizado para separar as sequências brutas de cada amostra sequenciada (considerada aqui como biblioteca de leituras de sequenciamento) através do trecho identificador chamado de *barcode*.

O módulo DEMUX foi também utilizado para gerar relatórios interativos de qualidades das leituras para embasamento dos pontos de corte das leituras. O módulo DENOISE foi utilizado para remover os iniciadores das leituras, cortar os trechos de baixa qualidade, identificar e remover sequências quimeras, unir as leituras diretas e reversas e identificar as diferentes leituras, chamadas de ASVs (*amplicon sequencing variants*), utilizando o método de DADA2. Cada uma das diferentes ASVs foram assumidas nas análises posteriores com a unidade taxonômica básica e tiveram a sua taxonomia estimada utilizando o classificador Naïve Bayes Classifier. O classificador foi treinado utilizando o módulo FEATURE-CLASSIFIER, utilizando o banco de dados taxonômico SILVA, versão 1.32 (QUAST et al., 2013). Todos os dados de sequenciamento gerados neste estudo foram

depositados no banco de dados genômicos GENBANK, identificados pelo Bioprojeto PRJNA658063.

Com o objetivo de se estimar a diversidade de funções metabólicas presentes nas comunidades bacterianas identificadas através do sequenciamento da região V4 do gene 16S rDNA, foi utilizada uma análise preditiva de funções metabólicas utilizando o módulo PICRUt2 (DOUGLAS et al., 2020), seguindo a *pipeline* “qiime picrust2 full-pipeline” que foi desenvolvido para realizar a análise dentro da plataforma QIIME2, utilizando as tabelas de ASVs como base para buscas de funções metabólicas dos grupos bacterianos elencados nas tabelas no banco de dados de funções metabólicas KEGG (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes), gerando para cada amostra uma tabela de funções metabólicas relacionada a cada ASV (chamadas KOs). Cada uma das funções metabólicas previstas por PICRUSt2, chamadas aqui de KOs, foi considerada neste estudo como unidade funcional nas análises funcionais posteriores.

4.9 Análise estatística dos dados

4.9.1 Análise dos dados referentes à composição química do solo

Primeiramente, para a comparação entre variâncias foi necessário aplicar o teste F de Fisher ao nível de significância de 5%. Nos casos de variâncias entre amostras comparadas, aplicou-se o teste t de Student de duas amostras presumindo variâncias diferentes ao nível de significância de 5% para a comparação das médias. No caso de variâncias iguais entre amostras comparadas, aplicou-se o teste t de Student de duas amostras presumindo variâncias equivalentes ao nível de significância de 5% para a comparação das médias. Todos os testes foram realizados no programa Microsoft Office Excel.

Compararam-se dois grupos por vez quanto a sua variância, assim aplicou-se o teste F, um teste de hipótese de que as variâncias das duas populações são iguais, ou seja, para verificar se há variância entre as amostras de solo testadas. O teste F de Fisher é simplesmente uma razão de duas variâncias, que são uma medida de dispersão, ou até que ponto os dados estão dispersos em relação à sua média, no qual valores maiores representam maior dispersão. Utilizou-se o teste unilateral e estabeleceram-se as seguintes hipóteses:

H₀: as variâncias da variável quantitativa da área da cultura (Café, Milho, Eucalipto ou Pastagem) são iguais à variância da área da floresta associada à cultura;

H₁: uma das variâncias analisadas é maior do que a outra.

O teste t de Student, de acordo com Vieira (2011) é indicado para testar a igualdade de duas médias quando os grupos são independentes. É um teste de hipótese que usa conceitos estatísticos para rejeitar ou não uma hipótese nula. Para calcular o valor de t, é realizado o cálculo da média e da variância de cada grupo; o cálculo da variância ponderada; o cálculo do valor de t, que está associado aos graus de liberdade.

O valor calculado de t (valor absoluto) é comparado com o valor crítico de t (valor tabelado), no nível estabelecido de significância e com os mesmos graus de liberdade. Em relação ao teste unilateral ou bilateral, segue-se, se a hipótese alternativa não especifica o sinal da diferença, dizemos que o teste é bilateral; se a hipótese alternativa especifica o sinal da diferença, dizemos que o teste é unilateral, porém é sempre mais seguro aplicar um teste bilateral, pois é aquele em que você tanto pode concluir por um aumento como uma diminuição da medida, depois da intervenção. Afinal de contas, o tratamento pode dar resultado contrário ao esperado.

Contudo, utilizou-se o teste t, pois foram comparados dois grupos independentes quanto a uma variável quantitativa, solos de uma monocultura (Café, Milho, Eucalipto e Pastagem) com solos de florestas associadas, para cada propriedade da análise química do solo.

Definiram-se as hipóteses de nulidade que foram testadas:

H_0 (hipótese nula): $\mu_{\text{Floresta}} = \mu_{\text{Cultura}}$; ou seja, a média da variável quantitativa da área da cultura (Café, Milho, Eucalipto ou Pastagem) é igual à média da área da floresta associada a cultura.

H_1 (hipótese verdadeira): $\mu_{\text{Floresta}} \neq \mu_{\text{Cultura}}$; ou seja, a média da variável quantitativa da área da cultura (Café, Milho, Eucalipto ou Pastagem) é diferente da média da área da floresta associada.

Além dos testes por parâmetros individuais, foi realizada uma análise multivariada de componentes principais (PCA) com a proposta de identificar padrões gerais de similaridade entre amostras de solo dos dois grupos de teste (área cultivada x APP) em cada um dos tipos de monocultura estudado. Testes de agrupamento foram realizados através de PERMANOVA (Permutational Multivariate Analysis of Variance) assumindo o nível de significância de 5%.

As análises de PCA foram realizada utilizando o software R (versão 3.3.2 pacote vegan).

4.9.2 *Análise dos dados referentes à composição microbiológica do solo*

As análises estatísticas nesta seção do estudo foram delineadas para comparar a estrutura, tanto taxonômica quanto funcional, das comunidades bacterianas acessadas em amostras de solo das áreas cultivadas e comunidades de solo das áreas de APPs adjacentes, sob a premissa de que as comunidades bacterianas presentes nas APPs representam as comunidades bacterianas do solo antes da conversão das áreas nativas de Cerrado em sistemas agrícolas.

Além disso, considerou-se que como os procedimentos de manejo do solo são específicos para cada cultura, comparar os padrões encontrados entre amostras de culturas diferentes seria contraproducente. E ainda, como o manejo do solo para uma mesma cultura é similar entre as áreas amostradas, considerou-se que as áreas utilizadas para o plantio de um mesmo tipo de cultura, podem ser tratadas como réplicas nas análises.

Para as análises dos dados taxonômicos, foi utilizada a plataforma QIIME2 para gerar vetores de alfa-diversidade bem como matrizes de beta-diversidade, utilizando um ponto de corte que considerou apenas amostras representadas por bibliotecas com mais de 5000 leituras.

O ponto de corte se baseou no ponto de inflexão da curva de rarefação gerada para as ASVs. Este processo reduziu o número de amostras adequadas para a análise de 90 (30 pontos amostrais) para 68 amostras (16 pontos amostrais).

As análises de alfa-diversidade foram realizadas baseando-se em quatro métricas: número de ASVs, índice de diversidade de Shannon, índice de diversidade filogenética de Faith e índice de equitabilidade de Pielou. Testes de Wilcoxon pareados foram realizados para verificar diferenças significativas entre comunidades bacterianas das áreas cultivadas e áreas de APPs, em cada tipo de cultivo, para cada uma das quatro métricas de estimativa de alfa-diversidade. Além disso, os índices de alfa-diversidade também foram utilizados para testar se estes índices apresentaram correlações significativas com as propriedades químicas aferidas, através de testes de correção de Spearman, utilizando o software R (versão 3.3.2).

As análises de composição de grupos bacterianos, ou análises de beta-diversidade, basearam-se no cálculo de matrizes de dissimilaridade utilizando-se três diferentes métricas: Bray-curtis (que leva em consideração apenas a presença/ausência de ASVs), Unifrac não-ponderada (que leva em consideração a distância filogenética entre as ASVs) e Unifrac ponderada (que leva em consideração a distância filogenética entre as ASVs e sua frequência relativa nas amostras comparadas). Testes de agrupamentos entre amostras referentes às comunidades bacterianas das áreas cultivadas e áreas de APPs, foram realizados utilizando o teste de PERMANOVA. As análises foram realizadas de maneira independente para cada tipo

de cultura e para cada uma das três métricas, assumindo o nível de significância de 5% e utilizando QIIME2 para a realização dos testes.

A abundância relativa dos filos bacterianos com frequência superior a 1% foi apresentada em gráficos de barras. Teste Exato de Fisher foi utilizado para verificar diferenças significativas na frequência dos filos dominantes entre as áreas cultivadas e APPs, utilizando o software R (versão 3.3.2). As frequências relativas das famílias bacterianas dominantes (com freq. > 3%) foram utilizadas para a construção de um mapa de calor de distribuição destes grupos nas amostras, utilizando QIIME2 para a realização dos testes.

Para as análises funcionais foram adotadas duas abordagens ao se utilizar os dados gerados por PICRUST2: uma análise global que considerou todas as KOs indiscriminadamente; e uma análise estruturada pela classificação de cada KO em categorias metabólicas hierárquicas estabelecida pelo banco de dados KEGG (KEGG Level 2). Tanto na análise global quanto na estruturada, foram calculados índices de diversidade de Shannon e matrizes de dissimilaridade de Bray-Curtis a partir das tabelas de frequência de KOs geradas para cada amostra. Foram realizados testes pareados de Wilcoxon para verificar diferenças na diversidade de funções metabólicas (KOs) entre comunidades bacterianas de áreas cultivadas e APPs. De forma similar, testes de PERMANOVA foram realizados para testar a similaridade no conjunto de funções metabólicas presentes nas comunidades bacterianas de áreas cultivadas e APPs. Os testes foram realizados para os dados globais e independentemente para cada uma das categorias de KEGG (análise estruturada).

Adicionalmente, foi realizada uma análise de discriminante, chamada LEfSe - *Linear Discriminant Analysis Effect Size* (Segata et al., 2011), com o objetivo de identificar funções metabólicas com abundância discrepante entre comunidades bacterianas de áreas cultivadas e APPs, assumindo um valor de corte, ou *LDA score – Least Discriminant Score*, de 1,5.

4.10 Desenvolvimento de produto técnico e acadêmico

Os resultados obtidos levaram à geração de um artigo científico, submetido à revista *Applied Soil Ecology*, Qualis A1 na Capes, muito importante na área de microbiologia ambiental e do solo e uma cartilha informativa para levar informação e conhecimento para os produtores rurais da região do Parque Nacional da Serra da Canastra.

A cartilha desenvolvida é uma ação de conscientização e com propostas para minimizar o impacto da agricultura na ZA do PNSC, o que poderá auxiliar na tomada de

decisão sobre o melhor manejo do solo buscando produtividade e diminuindo o impacto do uso e ocupação do solo.

Na cartilha foram abordados diversos assuntos, de maneira simples e objetiva, porém por si só não tem o objetivo de suprir em sua totalidade as informações de cada assunto, mas na verdade busca instigar o produtor a refletir sobre determinado tema e a buscar mais informações técnicas sobre o uso de produtos fitossanitários, as práticas de uso e conservação do solo, práticas de calagem e adubação e principalmente sobre as atividades que podem ser desenvolvidas em zonas de amortecimento de Unidades de Conservação, compatíveis com a preservação dos serviços ambientais prestados pela unidade de conservação em especial ao solo e sua microbiota, preservação da área de amortecimento protegendo os ecossistemas do PNSC e a manutenção da integridade dos recursos naturais remanescentes do parque.

5. RESULTADOS

5.1 Propriedades químicas do solo

5.1.1 *Análise de Coordenadas Principais*

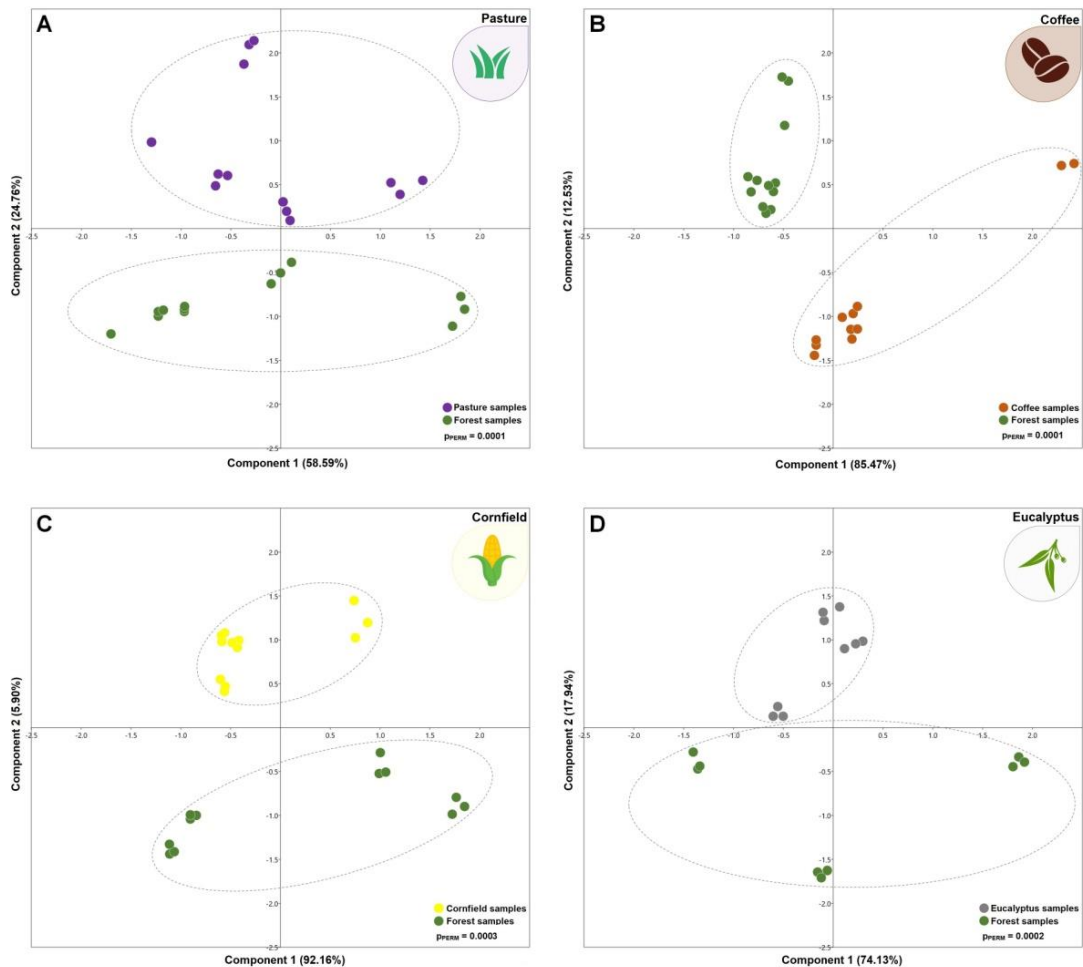
A Análise de Coordenadas Principais (PCA) são análises multivariadas que foram baseadas nos testes PERMANOVA que são testes de agrupamentos para investigar se estatisticamente as propriedades químicas das amostras de solo das culturas são diferentes das amostras de solo de suas APPs adjacentes.

Em cada quadrante, conforme Figura 2, tem-se um uso do solo e sua respectiva APP e cada ponto representa uma amostra de solo, assim quanto mais perto um ponto for do outro mais similar em relação a todas as propriedades químicas vai ser uma amostra da outra.

Nas áreas implantadas com pastagem, a PCA explicou 83,35% (eixo x: 58,58% e eixo y: 24,76%) das propriedades químicas do solo, conforme Figura 2 A. Nas áreas de café explicou-se 98% (eixo x: 85,47% e eixo y: 12,53%), Figura 2 B. Nas áreas com milho explicou-se 98,06% (eixo x: 92,16% e eixo y: 5,90%) e nas áreas com a presença de eucalipto explicou-se 92,07% (eixo x: 74,13% e eixo y: 17,94%) das propriedades químicas do solo, conforme Figura 2 C e D, respectivamente.

As áreas implantadas com milho, café, eucalipto e pastagem apresentaram um valor de $p < 0,05$, ou seja, há diferenças significativas entre as amostras de solo dos diferentes usos e as amostras de solo de suas respectivas APPs em relação a todas as propriedades químicas do solo.

Figura 2 - Análises de coordenadas principais (PCA) com base nas propriedades químicas do solo para cada monocultura. Círculos cinzas representam agrupamentos de amostra significativos com base em testes PERMANOVA.



Fonte: O Autor, 2020.

5.1.2 Propriedades químicas dos solos cultivados e APPs

Verificou-se que existe diferença estatística entre as médias das propriedades pH, H+Al, SB, t, m, MO, B, Cu, Fe, K, Ca, Zn, S, Mg e Al das áreas de café quando comparadas à média dessas propriedades das áreas de APPs associadas ($P < 0,05$), ou seja, as médias são diferentes no nível estabelecido de significância. As propriedades pH, SB, t, Cu, K, Ca, Zn, S e Mg apresentaram as maiores médias nas áreas de café e para H+Al, m, MO, B, Fe e Al as maiores médias foram nas áreas de APP.

As áreas de pastagem comparadas às áreas de APPs adjacentes apresentaram diferença significativa entre as médias do pH, SB, H+Al, m, P-rem, Ca, S, Mg e Al ($P < 0,05$). As

propriedades pH, SB, P-rem, Ca, S e Mg apresentaram as maiores médias nas áreas de pastagem e para H+Al, m e Al as maiores médias foram nas áreas de APP.

As médias das propriedades H+Al, SB, m, MO, P-rem, B, Fe, Ca, Mn, S, Mg e Al apresentaram diferenças significativas para as áreas de milho quando comparadas com suas APPs ($P < 0,05$). As propriedades SB, P-rem, Ca, Mn, S e Mg apresentaram as maiores médias nas áreas de milho e para H+Al, m, MO, B, Fe e Al as maiores médias foram nas áreas de APP.

E por fim as médias das propriedades pH, H+Al, MO, P-rem, P, B, Cu, S e Al apresentaram diferenças significativas para as áreas de eucalipto quando comparadas com suas APPs ($P < 0,05$). As propriedades pH, P-rem e S apresentaram as maiores médias nas áreas de eucalipto e para H+Al, MO, P, B, Cu e Al as maiores médias foram nas áreas de APP, conforme Tabela 1.

Verificou-se que não existe diferença estatística entre as médias do t, MO, P, B, Cu, Fe, K, Mn e Zn das áreas de pastagem quando comparadas à média dessas propriedades químicas das áreas de APPs associadas ($P > 0,05$), ou seja, as médias são similares no nível estabelecido de significância. As áreas de milho comparadas às áreas de APPs adjacentes não apresentaram diferença significativa entre as médias do pH, t, P, Cu, K e Zn ($P > 0,05$). As médias das propriedades P-rem, P e Mn não apresentaram diferenças significativas para as áreas de café quando comparadas com suas APPs ($P > 0,05$). E por fim as médias das propriedades SB, t, m, Fe, K, Ca, Mn, Zn e Mg também não apresentaram diferenças significativas para as áreas de eucalipto quando comparadas com suas APPs ($P > 0,05$), conforme Tabela 1.

Como esperado para os solos do Cerrado, o teor de Al, bem como a saturação de Al (m%) foram maiores nas amostras de solo de APP para todas as comparações. Além disso, os teores de matéria orgânica, Fe e B foram maiores para as áreas de APP em todos os agroecossistemas. E a acidez ativa (pH), bem como a acidez potencial (H + Al) também foram maiores nos solos de APPs, exceto nas áreas amostradas de milho que não apresentaram diferença significativa ($p = 0,106$).

Por outro lado, as práticas de fertilização realizadas nas terras cultivadas resultaram em maiores teores de Prem e S em todas as áreas cultivadas, exceto nas áreas amostradas de café que não apresentaram diferença significativa ($p = 0,065$). Da mesma forma, os teores de Ca e Mg, assim como algumas das bases (SB), apresentaram valores maiores para todas as áreas cultivadas, devido aos procedimentos de calagem no solo, exceto para os solos de plantio de eucalipto que não apresentaram valores significativos ($p = 0,25$). Além disso, a

fertilização específica de cada cultura e os procedimentos de manejo do solo levaram a resultados diferentes nas comparações de áreas cultivadas e APPs adjacentes para vários micronutrientes, como os teores de Cu, K e Zn que foram maiores nos solos do cafeeiro, enquanto o teor de Mn foi maior nos solos com cultivo de milho.

Tabela 1- Propriedades químicas do solo dos quatro usos da terra. Os dados são médias de três repetições de cada área amostrada com erros padrão entre parênteses. As comparações entre as amostras cultivadas e de APP significativamente diferentes de acordo com o teste de Wilcoxon estão representadas em negrito e o valor p é mostrado na coluna “valor p”.

Soil parameter	Pasture			Cornfield			Coffee			Eucalyptus		
	Cultured	APP	p-value	Cultured	APP	p-value	Cultured	APP	p-value	Cultured	APP	p-value
pH	6.07 (0.44)	5.33 (0.12)	0.0001	6.21 (0.83)	5.86 (0.50)	0.106	6.19 (0.60)	5.51 (0.13)	0.012	5.6 (0.45)	5.14 (0.30)	0.016
H+Al (g/dm ³)	2.95 (1.08)	6.61 (1.60)	0.0001	2.11 (0.73)	5.98 (2.42)	0.0003	2.35 (1.02)	6.86 (1.25)	< 0.000.1	3.87 (0.65)	10.92 (1.43)	0.0004
SB (g/dm ³)	3.10 (2.44)	0.94 (0.28)	0.0402	4.86 (1.41)	0.71 (0.23)	< 0.000.1	5.10 (0.54)	0.79 (0.17)	< 0.000.1	2.53 (1.86)	0.90 (0.22)	0.251
CEC (g/dm ³)	3.26 (2.27)	2.27 (0.49)	1	4.86 (1.41)	3.80 (1.98)	0.184	5.11 (0.54)	2.09(0.37)	< 0.000.1	3.14 (1.18)	2.99 (0.74)	1000
V (%)	63.39 (19.17)	13.27 (6.11)	< 0.000.1	68.77 (11.83)	7.79 (2.35)	< 0.000.1	69.34 (9.60)	10.76 (3.50)	< 0.000.1	46.55 (9.39)	7.78 (2.27)	0.0004
m (%)	13.68 (24.73)	57.77 (11.89)	0.0012	0.001 (< 0.0.1)	30.06 (28.30)	0.0004	0.18 (0.33)	61.78 (7.71)	< 0.000.1	32.25 (41.58)	67.92 (10.32)	0.25
OM (dag/Kg)	3.46 (0.82)	3.72 (0.48)	0.5068	3.50 (1.09)	5.00 (0.80)	0.004	2.92 (0.68)	3.93 (0.67)	0.002	3.32 (1.43)	5.74 (0.59)	0.0003
P _{rem} (mg/L)	21.43 (10.23)	13.36 (1.25)	0.0153	21.81 (5.42)	14.59 (4.80)	0.004	20.08 (8.11)	14.84 (2.45)	0.065	25.17 (7.99)	15.6 (3.94)	0.021
P (mg/dm ³)	3.41 (3.54)	2.61 (1.13)	0.5057	3.73 (0.89)	7.62 (5.99)	0.885	8.87 (6.03)	3.49 (2.10)	0.088	3.18 (1.30)	5.28 (2.10)	0.03
B (mg/dm ³)	0.36 (0.05)	0.44 (0.10)	0.0873	0.35 (0.05)	0.58 (0.12)	0.0004	0.42 (0.17)	0.52 (0.09)	0.042	0.52 (0.11)	0.63 (0.04)	0.012
Cu (mg/dm ³)	2.09 (0.15)	2.03 (0.20)	0.2911	1.81 (0.49)	1.88 (0.18)	0.169	3.01 (0.85)	1.87 (0.23)	0.0002	1.41 (0.23)	2.11 (0.32)	0.001
Fe (mg/dm ³)	53.77 (30.03)	81.88 (38.28)	0.094	58.22 (20.29)	90.37 (27.67)	0.014	29.68 (15.03)	67.18 (31.22)	0.002	74.7 (13.80)	77.1 (16.62)	0.757
K (mg/dm ³)	95.08 (74.39)	110.75 (48.99)	0.3114	196.00 (97.49)	260.2 (204.3)	1.000	218.00 (132.5)	80.09 (15.85)	< 0.000.1	108.33 (82.29)	111.44 (27.04)	0.723
Ca (g/dm ³)	1.96 (1.55)	0.40 (0.11)	0.013	3.09 (0.82)	1.64 (1.35)	0.01	3.33 (0.41)	0.37 (0.09)	< 0.000.1	1.47 (1.06)	0.38 (0.11)	0.25
Mn (mg/dm ³)	13.40 (10.60)	8.42 (1.08)	1	21.02 (11.47)	5.48 (2.62)	0.0001	10.27 (6.26)	13.53 (6.42)	0.452	13.19 (7.35)	8.76 (3.35)	0.157
Zn (mg/dm ³)	1.57 (0.89)	1.23 (0.27)	0.1226	2.01 (0.80)	1.75 (0.70)	0.451	3.71 (0.48)	1.18 (0.16)	< 0.000.1	1.22 (0.79)	1.84 (0.37)	0.249
S (mg/dm ³)	7.01 (3.94)	0.0001 (< 0.0.1)	< 0.000.1	12.52 (10.44)	0.27 (0.30)	< 0.000.1	14.76 (6.35)	0.10 (0.18)	< 0.000.1	9.05 (5.07)	0.29 (0.31)	0.0004
Mg (g/dm ³)	0.90 (0.71)	0.25 (0.67)	0.0396	3.09 (0.82)	1.64 (1.35)	0.012	1.21 (0.33)	0.22 (0.07)	< 0.000.1	0.78 (0.80)	0.24 (0.13)	0.25
Al (g/dm ³)	0.16 (0.29)	1.34 (0.52)	< 0.000.1	0.0001 (< 0.0.1)	0.64 (0.34)	0.0004	0.01 (0.01)	1.30 (0.32)	< 0.000.1	0.61 (0.70)	2.09 (0.78)	0.006

Fonte: O Autor, 2020.

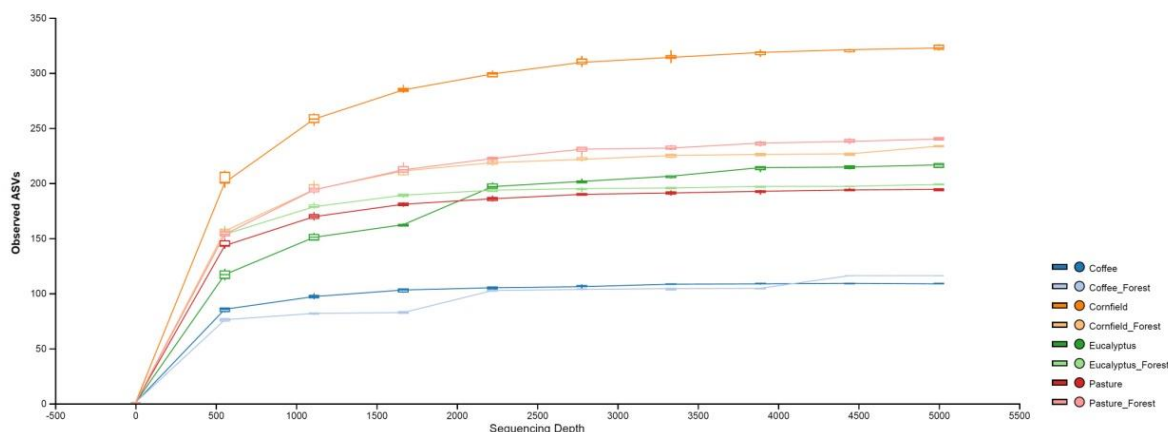
5.2 Diversidade bacteriana

5.2.1 Robustez e eficiência do sequenciamento

O sequenciamento de alto rendimento de todas as amostras de solo gerou um total de 836.702 leituras de sequenciamento 16S, com uma frequência mediana de leituras por amostra de 12.185, recuperando 5.487 ASVs com uma média de 136 ASVs por amostra.

As curvas de rarefação indicaram o estágio de saturação em locais de amostragem, sugerindo que a profundidade de sequenciamento atual foi suficiente para cobrir a maior parte da diversidade da comunidade bacteriana, conforme Figura 3.

Figura 3 - Curva de Rarefação



Fonte: O Autor, 2020.

5.2.2 Diversidade das comunidades bacterianas (α diversidade)

As análises comparativas de α -diversidade entre as comunidades de microrganismos encontrados nos diferentes usos do solo e em suas APPs de referência não geraram diferença significativa nos índices estimados (Riqueza, Índice de Diversidade de Shannon, Equitabilidade e Índice de Diversidade Filogenética), exceto para as áreas cultivadas com milho que apresentaram diferença significativa para o índice de Diversidade de Shannon e Diversidade Filogenética, conforme Figura 4.

Porém pode se observar que o parâmetro riqueza, que significa o número de grupos bacterianos encontrados independentemente do número de indivíduos de cada espécie, segundo Magurran e McGill (2010) foram maiores nas áreas implantadas com a cultura do milho do que nas áreas adjacentes com APPs. As áreas de APPs relacionadas às áreas com a cultura da pastagem e eucalipto implantados apresentaram uma maior riqueza do que as áreas da cultura da pastagem e eucalipto respectivamente. E as áreas de café apresentaram uma maior riqueza quando comparadas com suas áreas de APPs adjacentes.

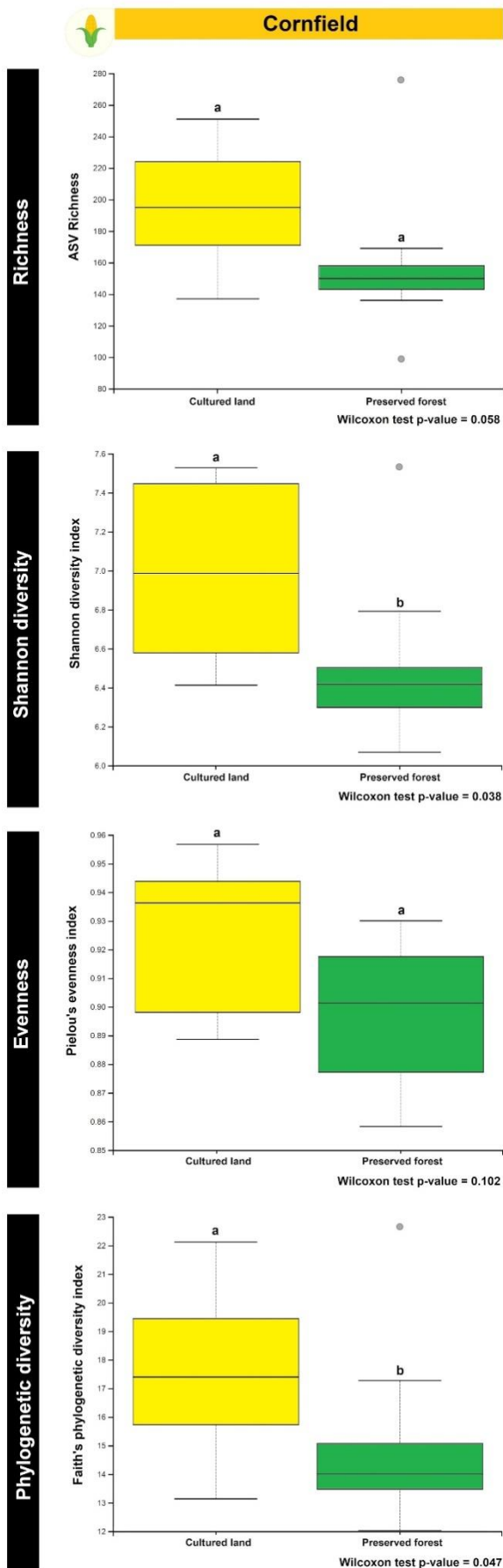
Ao se considerar o Índice de Diversidade de Shannon, que leva em consideração o número de espécies e também o número de indivíduos de cada espécie, ou seja, a abundância e sua variação entre grupos bacterianos encontrados, de acordo com Magurran e McGill (2010) os maiores valores foram encontrados nas áreas de milho, pastagem e café e mostrou um declínio nas APPs adjacentes a esses usos do solo. As áreas de florestas referentes às áreas de eucalipto apresentaram maiores valores do que a cultura, conforme Figura 4.

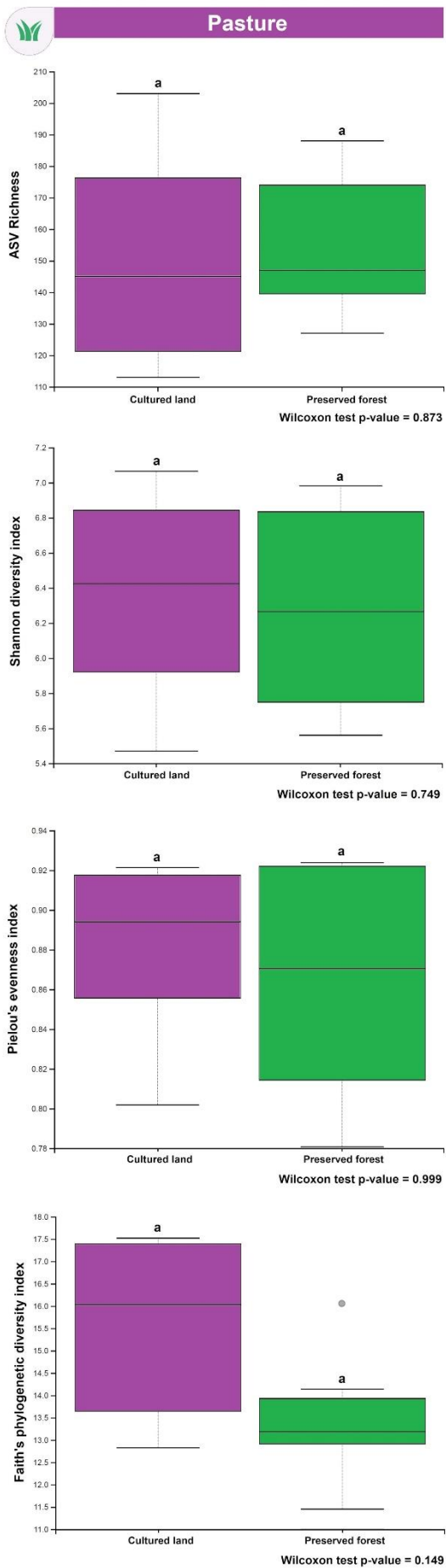
Segundo a Equitabilidade que é a distribuição dos indivíduos entre as espécies de uma amostra, no qual quer saber se está bem distribuída a diversidade, independente do número de indivíduos, para Magurran e McGill (2010) todos os diferentes usos do solo foram maiores em relação de suas áreas de APPs adjacentes.

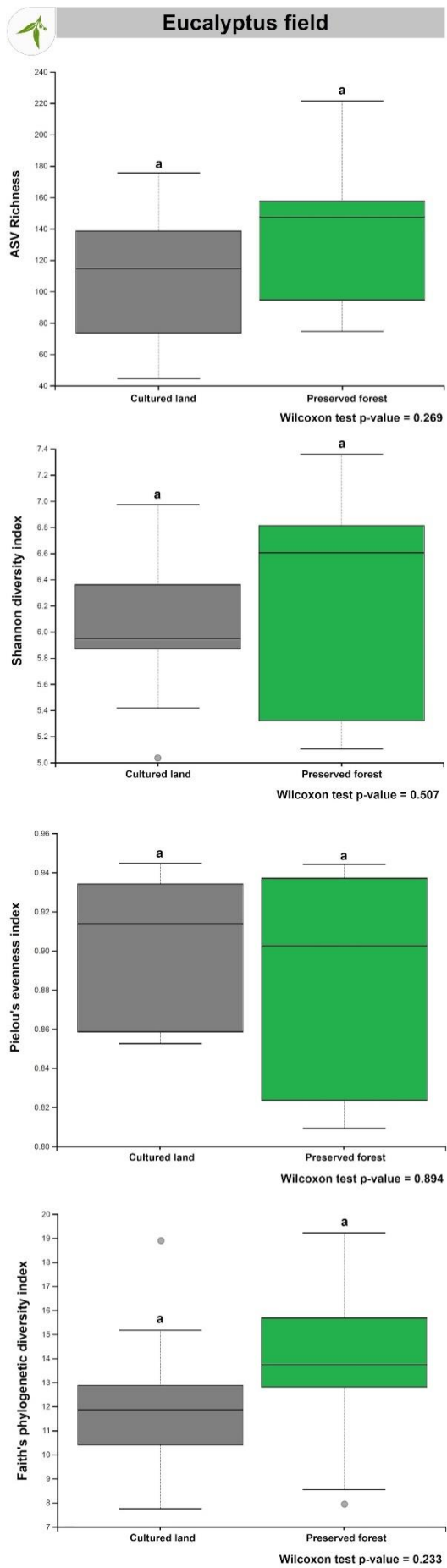
O Índice de diversidade filogenética considera não só a riqueza, mais a distância filogenética entre as espécies que compõem uma comunidade, a variabilidade dos grupos bacterianos e a sua distribuição, segundo Magurran e McGill (2010) e assim a maior diversidade filogenética foi observada nas áreas de milho, pastagem e café quando comparadas com suas áreas de florestas. E as áreas de eucalipto apresentaram uma menor diversidade do que suas áreas de APPs adjacentes, conforme Figura 4.

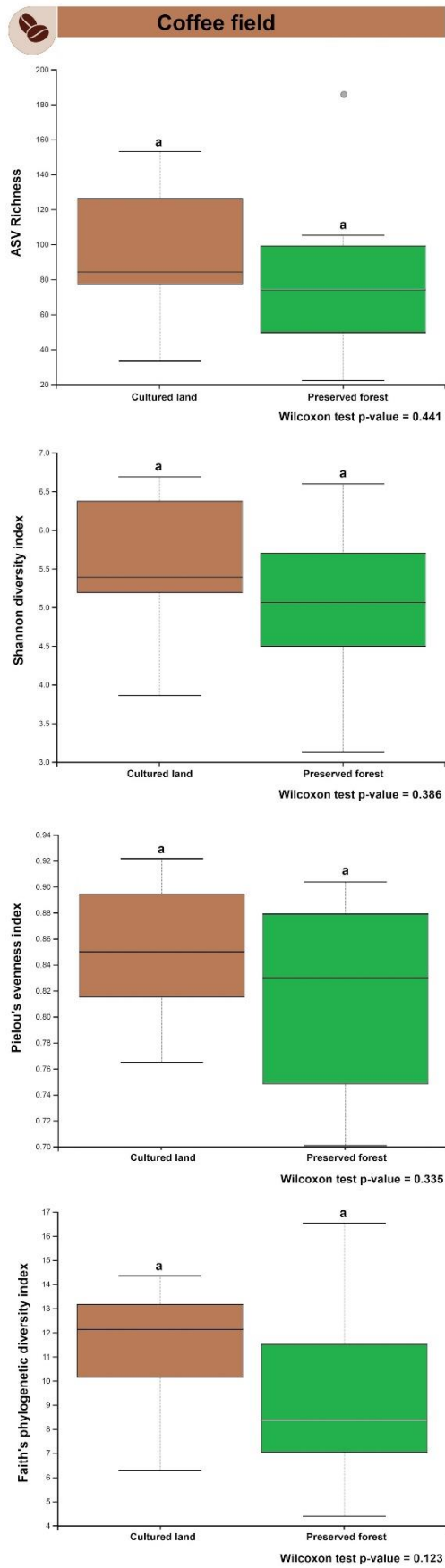
Portanto verificaram-se diferenças na diversidade bacteriana (índices de diversidade de Shannon e filogenética), apenas para o sistema de milho em que as comunidades bacterianas do solo de áreas cultivadas apresentaram índices de diversidade maiores que as APPs adjacentes, conforme Figura 4.

Figura 4 - Boxplots de diversidade alfa por agroecossistema. O valor p do teste de Wilcoxon (cultura vs APP) foi indicado na parte inferior de cada gráfico









Fonte: O Autor, 2020.

5.2.3 *Correlações de Spearman entre as propriedades químicas do solo e a α -diversidade*

As análises de correlação de Spearman entre as métricas de diversidade α (Riqueza, Diversidade de Shannon, Equitabilidade, Diversidade Filogenética) e a variação nas concentrações de elementos químicos do solo apresentaram diferentes padrões para cada um dos tipos de ocupação do solo, conforme Tabela 2. Para explicar essas correlações deve-se observar que uma correlação nula significa que não é possível identificar nenhuma relação entre as variáveis, ou seja, não há tendência de que uma variável aumente ou diminua enquanto a outra variável aumenta. A correlação positiva significa que quando uma variável tende a aumentar, a outra variável também aumenta. E a negativa significa que se uma variável tende a diminuir, a outra variável tende a aumentar.

Observaram-se várias correlações significativas entre as propriedades químicas do solo e os índices de diversidade alfa, em que as amostras de solo de Pastagem e Café apresentaram um número maior de correlações, conforme Tabela 2. Nos solos com Pastagem e Café, pode-se verificar que os valores de MO e t, assim como os teores de P-rem, B, Fe e Al apresentaram correlação positiva com a diversidade bacteriana. O pH apresentou correlação negativa com a diversidade, mas apenas nas áreas de Café e Eucalipto. A diversidade bacteriana de solos de floresta nativa apresentou correlações positivas t, Fe e Ca, e correlações negativas com Mn e S.

O elemento químico Fe e t foram as propriedades do solo com maior quantidade de correlações de acordo com a Tabela 2.

Tabela 2 - Correlação de Spearman entre propriedades químicas do solo e índices de diversidade α por agroecossistema. As correlações não significativas são codificadas como “ns”.

Soil parameters	Pasture			Cornfield			Coffee			Eucalyptus			Native forest		
	Observed ASVs	Shannon diversity	Phylogenetic diversity	Observed ASVs	Shannon diversity	Phylogenetic diversity	Observed ASVs	Shannon diversity	Phylogenetic diversity	Observed ASVs	Shannon diversity	Phylogenetic diversity	Observed ASVs	Shannon diversity	Phylogenetic diversity
pH	ns	ns	ns	ns	ns	ns	-0.8347	-0.7734	-0.7734	-0.7438	ns	-0.6583	ns	ns	ns
H+Al	ns	ns	ns	ns	ns	ns	0.8571	0.9048	0.7143	ns	ns	ns	ns	ns	ns
SB	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	-0.7364	ns	ns	ns	ns	ns
CEC	0.8804	0.7958	0.9411	ns	ns	ns	0.8810	0.833	0.7619	-0.6695	ns	ns	ns	0.3416	ns
V	-0.8804	-0.8920	-0.9051	ns	ns	ns	-0.8000	-0.9286	-0.7280	ns	ns	ns	ns	ns	ns
m	ns	ns	ns	ns	ns	ns	-0.7835	-0.7814	ns	0.6950	ns	ns	ns	ns	ns
OM	0.9276	0.9012	ns	ns	ns	ns	0.9461	0.8264	0.8214	ns	ns	ns	ns	ns	ns
P _{om}	0.8286	0.7273	0.8857	ns	ns	ns	0.7381	0.7366	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
P	ns	ns	ns	ns	ns	ns	0.9048	0.8571	0.7619	ns	ns	ns	ns	ns	ns
B	0.8783	0.8728	0.8909	ns	ns	ns	0.8264	0.8743	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Cu	ns	ns	ns	ns	ns	ns	0.9048	0.8810	0.7857	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Fe	ns	ns	0.9429	ns	-0.6833	ns	0.7857	ns	0.7619	0.6667	ns	ns	ns	0.3884	ns
K	ns	ns	0.8804	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Ca	0.8407	0.7944	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	-0.7167	ns	ns	ns	0.3460	0.3662
Mn	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	-0.3846
Zn	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
S	ns	ns	ns	ns	0.7459	ns	-0.7143	-0.8810	ns	ns	ns	ns	ns	-0.6219	-0.4815
Mg	ns	ns	0.88	ns	ns	ns	ns	ns	ns	-0.7448	ns	ns	ns	ns	ns
Al	-0.8701	-0.8716	-0.8083	ns	ns	ns	0.7559	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns

Fonte: O Autor, 2020.

5.3 Composição bacteriana

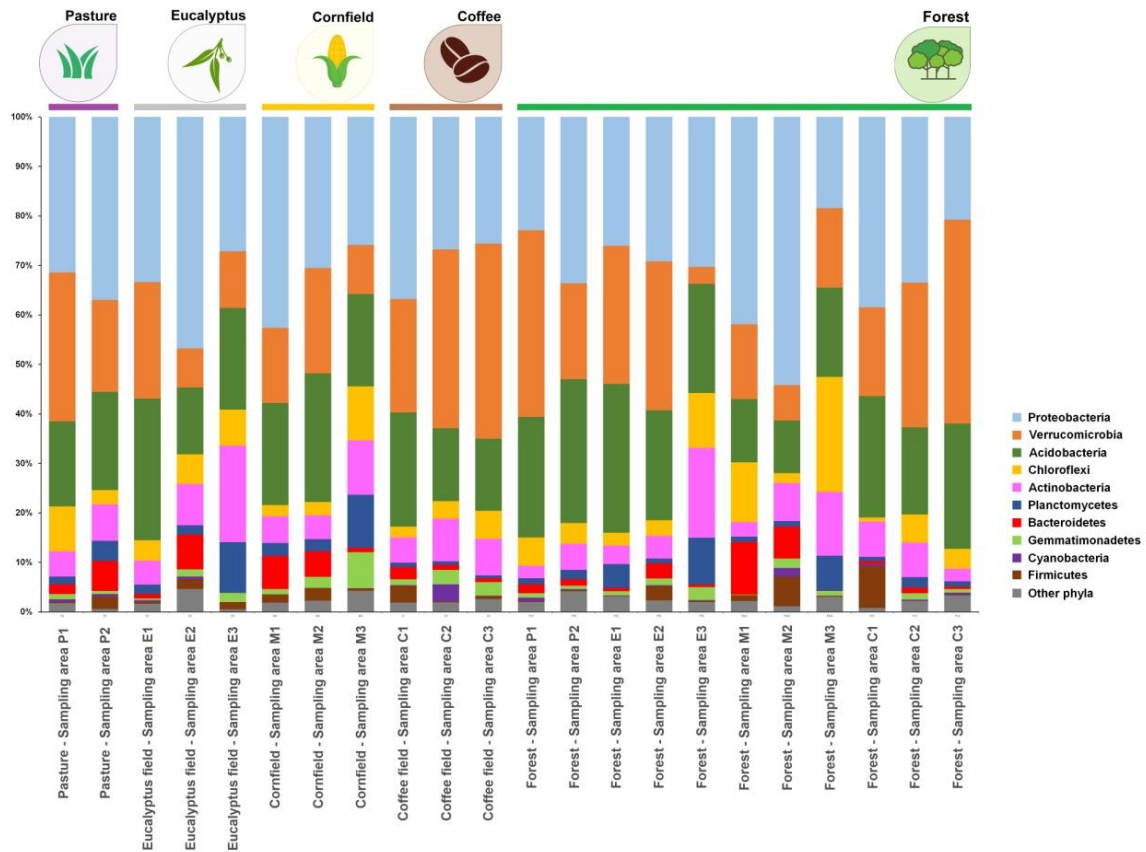
5.3.1 Filos bacterianos

Os grupos bacterianos encontrados nas amostras de solos avaliadas, foram verificados, e no geral em todos os tipos de uso e ocupação do solo, apresentaram os três filios mais abundantes, Proteobacteria, Verrucomicrobia e Acidobacteria. Também foram identificados os filios Actinobacteria, Chloroflexi e Planctomycetes, porém em menores frequências, mas presentes em todas as amostras. Outros filios também foram identificados nas amostras de solos analisadas, porém não estavam presentes em todas as amostras, como os filios Bacteroidetes, Gemmatimonadetes, Cyanobacteria, Firmicutes, e outros filios, conforme Figura 5.

Nas áreas cultivadas com pastagens os filios mais frequentes foram Proteobacteria, Verrucomicrobia, Acidobacteria, Chloroflexi e Actinobacterias. Nas áreas de eucalipto os filios foram Proteobacteria, Verrucomicrobia, Acidobacteria, Chloroflexi e Actinobacterias. As áreas de milho apresentaram os filios Proteobacteria, Verrucomicrobia, Acidobacteria e

Actinobacteria. Nas áreas de café os filos mais frequentes foram Proteobacteria, Verrucomicrobia, Acidobacteria e Actinobacteria. E as florestas apresentaram os filos Proteobacteria, Verrucomicrobia, Acidobacteria, Chloroflexi e Actinobacterias.

Figura 5 - Abundância relativa de filos bacterianos dominantes para cada ponto amostrado. Os filos bacterianos de baixa abundância (abundância relativa inferior a 3%) foram agrupados como “outros filos”.



Fonte: O Autor, 2020.

5.3.2 Mapa de calor das famílias bacterianas

A Figura 6 é descritiva e mostra uma análise comparativa mais refinada, visualizada por meio de um mapa de calor, considerando as famílias mais representativas entre as amostras de solo das áreas de cultivo e as amostras de solo das áreas de APPs adjacentes e suas abundâncias relativas dentro das comunidades.

Nesta análise é possível observar que existem famílias bacterianas que são abundantes em ambos os tipos de ambientes como Xiphinematobacteriaceae (Filo Verrucomicrobia),

Xanthobacteraceae (Filo Proteobacteria alfa), Chthoniobacteraceae (Filo Verrucomicrobia) e Acidobacteriales (Filo Acidobacteria).

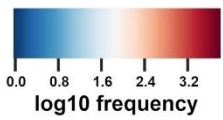
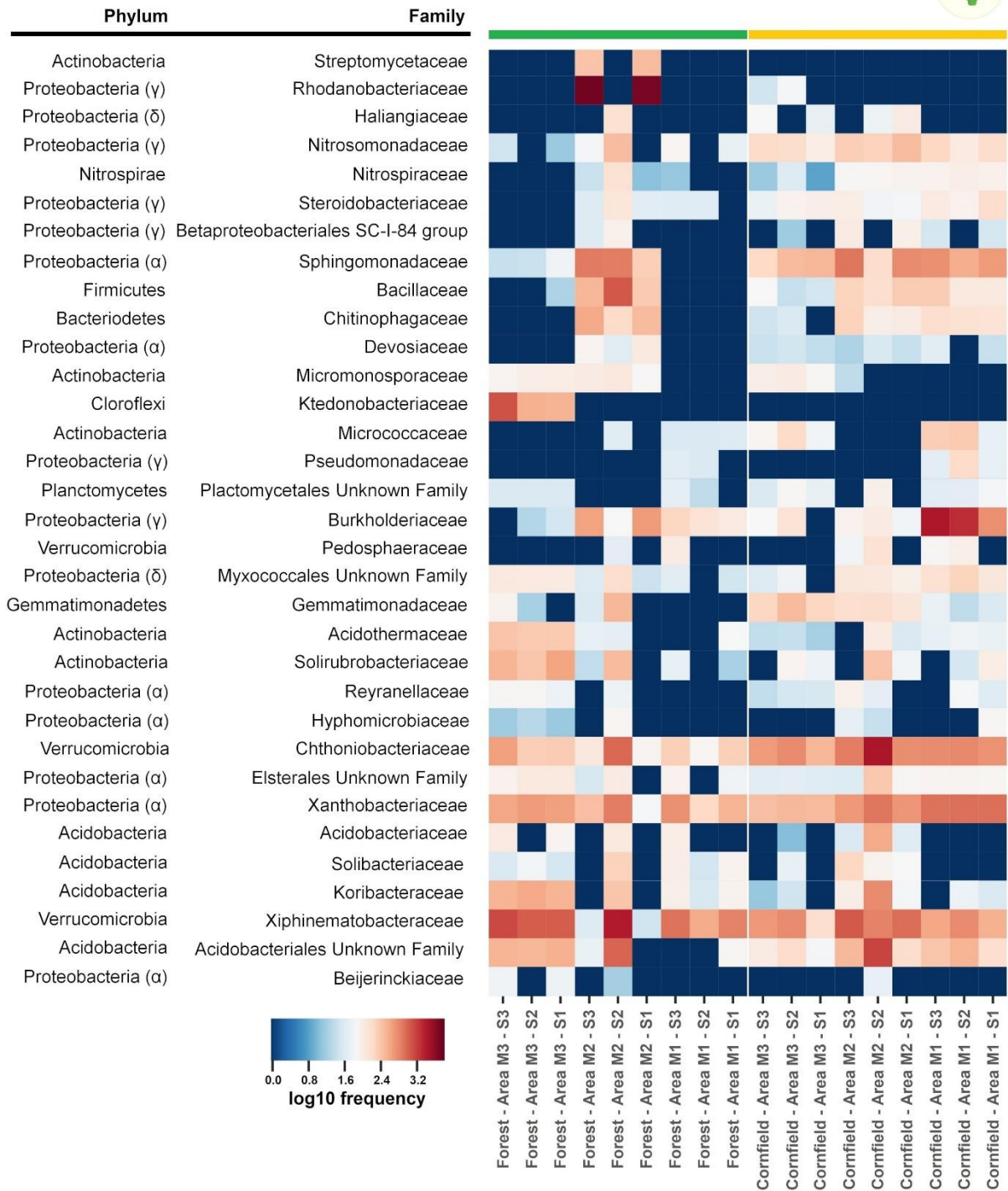
Em contraste, algumas famílias não foram detectadas em amostras de solo de usos específicos da terra, como Nitrospiraceae (em solos de pastagem e eucalipto) e Haliangiaceae (em solos de plantação de eucalipto).

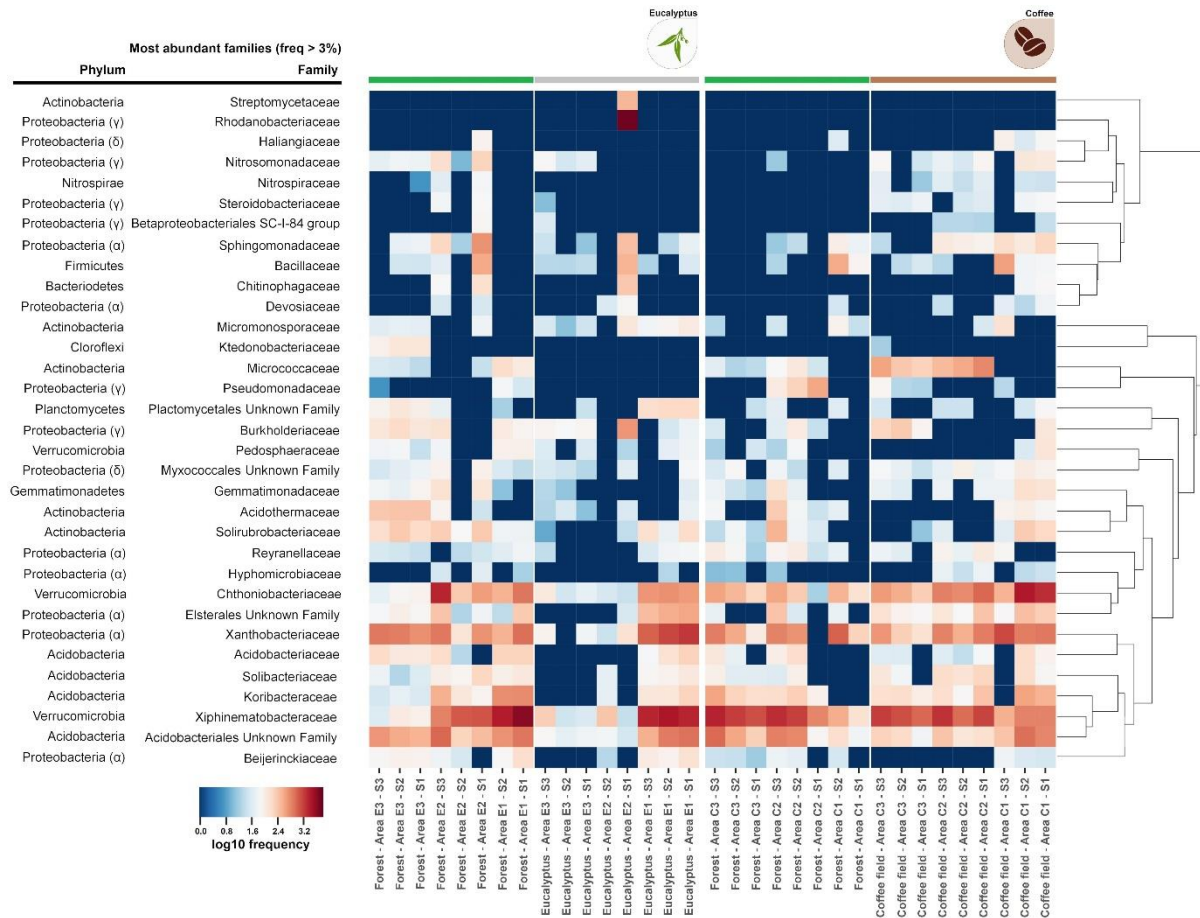
Figura 6 - Diagrama de mapa de calor das abundâncias das famílias dominantes de cada amostra de solo por agroecossistema.





Most abundant families (freq > 3%)





Fonte: O Autor, 2020.

5.3.3 Análise de correlação famílias x propriedades do solo

As correlações de Spearman é uma medida não paramétrica, em que mede o grau de relacionamento entre variáveis (MAGURRAN e MCGILL, 2010). Uma correlação nula significa que não é possível identificar nenhuma relação entre as variáveis, ou seja, não há tendência de que uma variável aumente ou diminua enquanto a outra variável aumenta. A correlação positiva significa que quando uma variável tende a aumentar, a outra variável também aumenta. E a negativa significa que se uma variável tende a diminuir, a outra variável tende a aumentar.

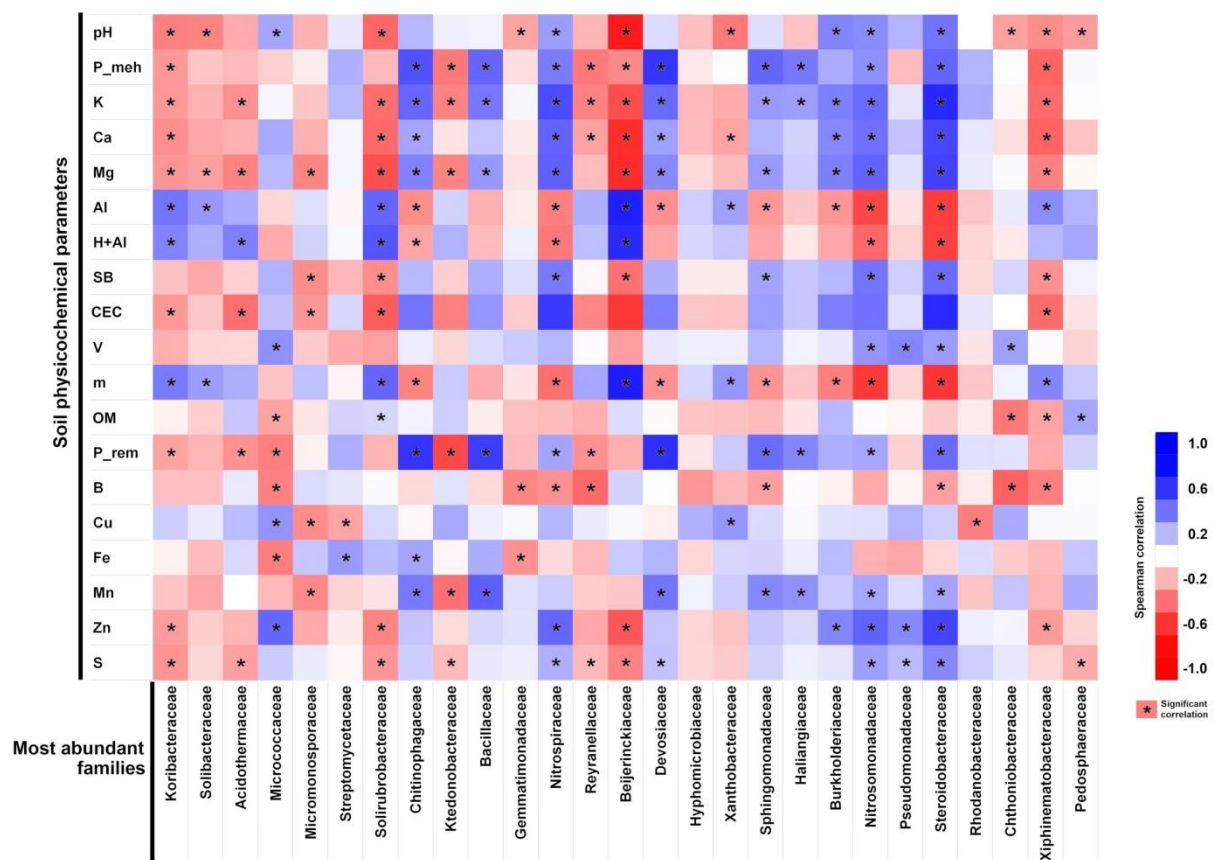
As análises de correlação de Spearman mostraram que cada propriedade química do solo afetou diferentes famílias dominantes, enquanto uma propriedade específica apresentou efeitos positivos ou negativos na abundância dependendo da família bacteriana.

A Figura 7 mostra um mapa de calor baseado nas análises de correlação entre cada uma das famílias bacterianas dominantes e cada um dos propriedades químicas do solo nos diferentes tipos de ocupação do solo. Observou-se então que se está azul tem-se uma alta

correlação positiva, ou seja, quanto maior a concentração daquele elemento químico maior a abundância da família na amostra de solo. Portanto as altas correlações positivas significam que quanto maior a concentração da propriedade H+Al, Al e m, maior a abundância da família Beijerinckiaceae; quanto maior a concentração de P-meh maior a abundância da família Devosiaceae; quanto maior a concentração de P-rem maior a abundância de Devosiaceae, Bacillaceae e Chitinophagaceae; e quanto maior a concentração de Mg, Ca e K maior a abundância de Steroidobacteraceae.

Quando está mais vermelho significa uma alta correlação negativa, ou seja, quanto maior a concentração do elemento químico menor é a abundância da família na amostra de solo. Destacou-se então que as altas correlações negativas significaram que quanto maior a concentração da propriedade pH, Ca e Mg menor é a abundância da família Beijerinckiaceae; quanto maior a concentração da propriedade Al, H+Al e m menor é a abundância da família Steroidobacteraceae e Nitrosomonadaceae, conforme Figura 7.

Figura 7 - Mapa de calor baseado na correlação entre as famílias bacterianas mais abundantes e propriedades químicas do solo. * Indica correlações significativas com $p < 0,05$.



Fonte: O Autor, 2020.

5.3.4 *Composição das comunidades bacterianas (β diversidade)*

Para comparar a composição total das comunidades, as amostras de solo sob os diferentes usos do solo e as amostras de solo das áreas de florestas associadas, utilizou-se a β -diversidade, que descreve o quanto as comunidades são distintas ou similares em termos de composição de espécies. A diversidade β , é uma medida de como a variedade e em alguns casos as abundâncias de espécies diferem entre comunidades ou amostras ao longo de gradientes (MAGURRAN e MCGILL, 2010).

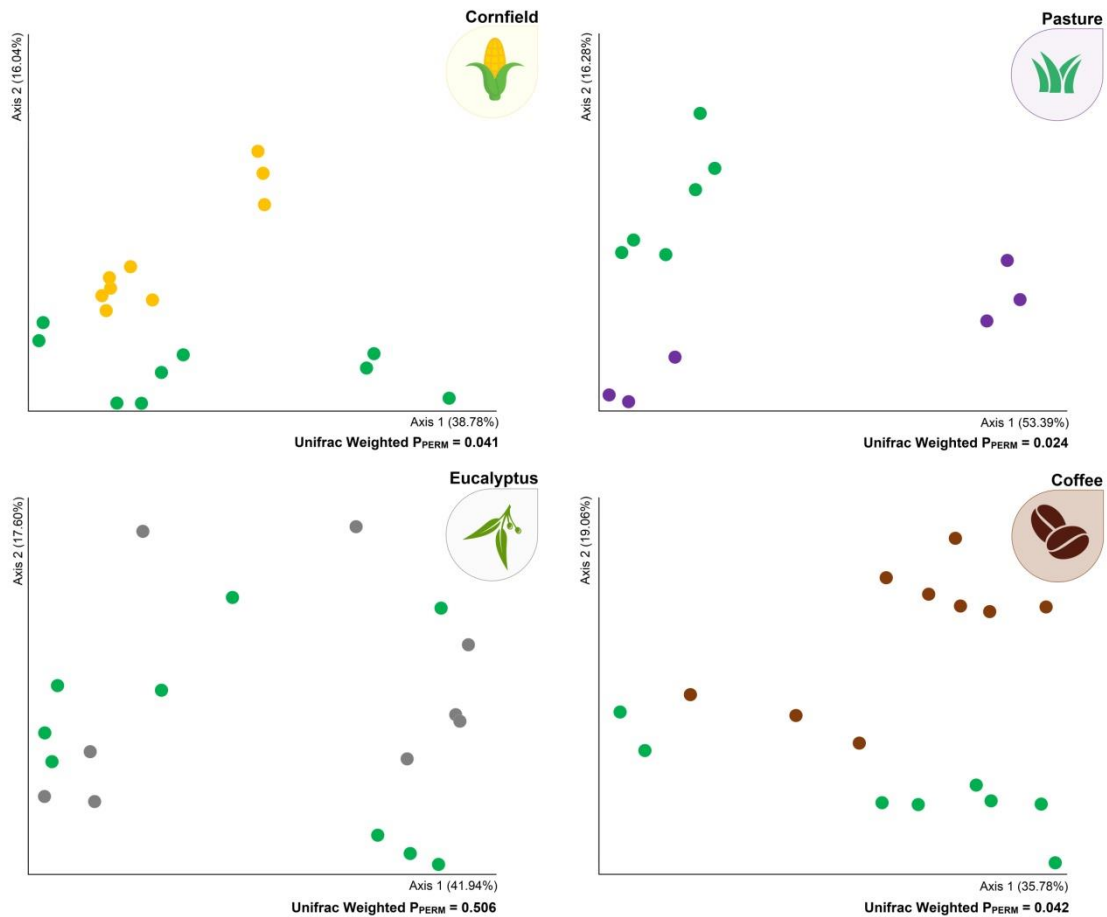
Portanto foi utilizada a métrica Unifrac, que é usada para comparar as comunidades biológicas e incorpora informações sobre o parentesco relativo de membros da comunidade e das distâncias filogenéticas entre organismos observados. A Unifrac não-ponderada considera as relações filogenéticas entre taxa não compartilhadas entre grupos e a Unifrac ponderada considera a abundância da taxa entre os grupos além das relações filogenéticas revelarem que a composição das comunidades varia significativamente entre os diferentes usos do solo e as suas florestas associadas. Para investigar se estatisticamente a composição das espécies das amostras de solo das culturas são distintas ou similares às amostras de solo de suas APPs, utilizou-se a PCA, a qual foi baseada nos testes PERMANOVA.

Em cada quadrante da Figura 8 tem-se um uso do solo e sua respectiva APP e cada ponto representa uma amostra de solo, assim quanto mais perto um está do outro, mais similar em relação à composição de espécies vai ser uma amostra da outra.

Nas áreas implantadas com milho e suas APPs adjacentes, a PCA explicou 54,82% (eixo x: 38,78% e eixo y: 16,04%) da composição das espécies das amostras de solo. Nas áreas de pastagem e suas florestas explicou-se 69,67% (eixo x: 53,39% e eixo y: 16,28%). Nas áreas de café explicou-se 54,84% (eixo x: 35,78% e eixo y: 19,06%) e nas áreas com a presença de eucalipto explicou-se 59,54% (eixo x: 41,943% e eixo y: 17,60%) da composição das espécies das amostras de solo, conforme Figura 8.

As áreas implantadas com milho, pastagem e café apresentaram um valor de $p < 0,05$, ou seja, as composições de espécies entre essas áreas cultivadas e suas florestas são diferentes. E apenas as áreas de eucalipto apresentaram composição de espécies similares às áreas de florestas ($P > 0,05$).

Figura 8- Representação de dissimilaridades Unifrac ponderadas (diversidade β) na estrutura da comunidade bacteriana por biplots de Análise de Coordenadas Principais (PCoA) para cada monocultura. Os valores de PERMANOVA p (PPERM) para testes de agrupamento de culturas vs. APPs adjacentes foram descritos no canto inferior direito de cada gráfico.



Fonte: O Autor, 2020.

5.4 Funções bacterianas

5.4.1 Funções metabólicas mais frequentes

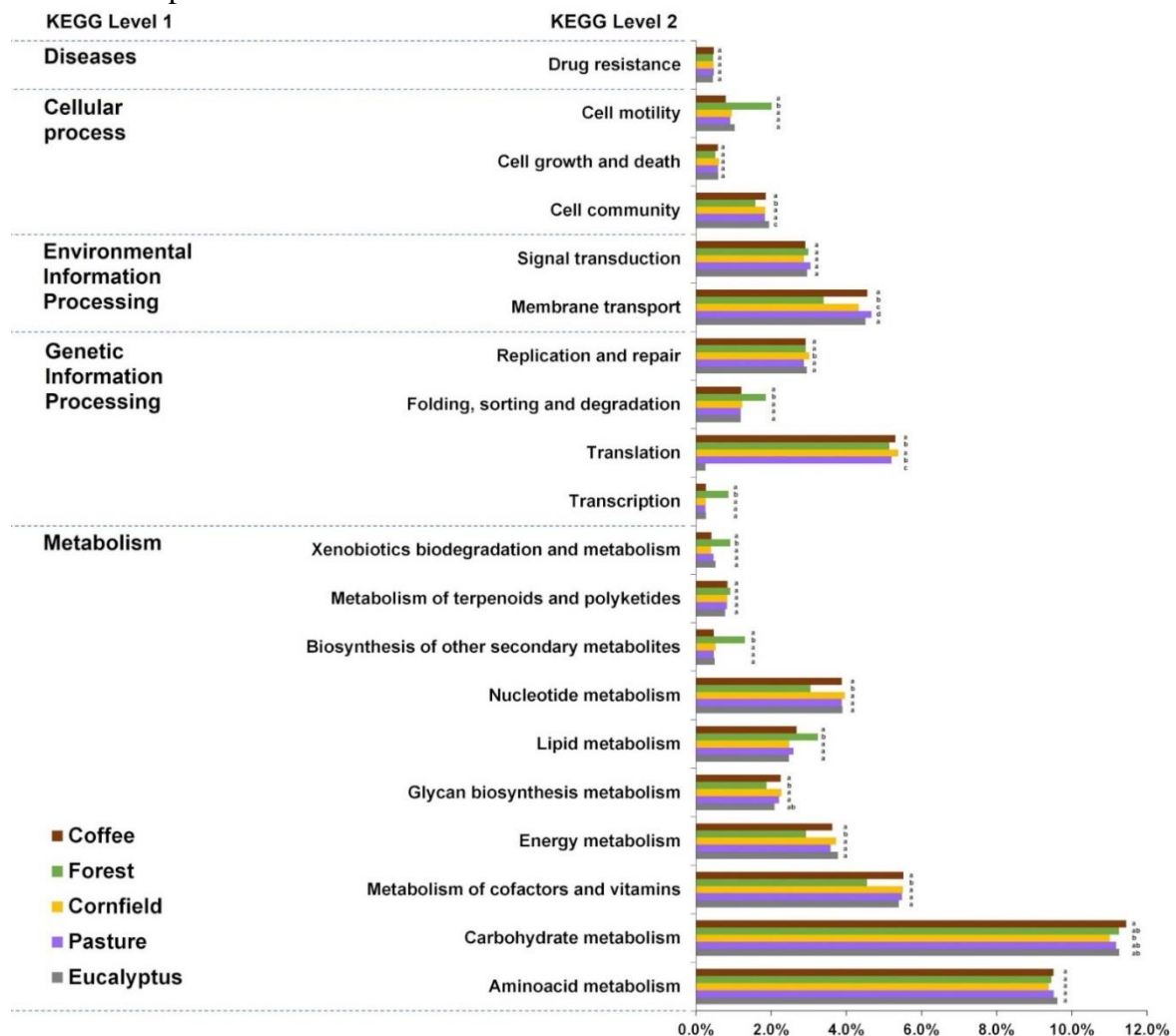
As principais funções metabólicas encontradas nas amostras de solo analisadas dos diferentes usos e suas APPs adjacentes foram as de metabolismo de carboidratos, metabolismo de aminoácidos e a síntese de proteínas de acordo com a Figura 9. O que pode ser observado também é que essas categorias de funções metabólicas não apresentaram diferenças entre os diferentes usos do solo e as áreas de APPs.

Nas áreas de florestas as funções metabólicas, como motilidade celular, dobramento, classificação e degradação, transcrição, biodegradação e metabolismo de xenobióticos,

biossíntese de outros metabólitos secundários e metabolismo lipídico são bem maiores do que nas áreas com as culturas implantadas, ou seja, nota-se que há diferenças entre o comportamento metabólico das áreas de APPs quando comparadas com os outros usos do solo, conforme Figura 9.

As menores funções metabólicas das áreas de APPs quando comparadas com os outros usos do solo, foram o metabolismo de cofatores e vitaminas, metabolismo de energia, metabolismo de biossíntese de glicano, metabolismo de nucleotídeos, transporte de membrana e comunidade celular, ou seja, essas funções são maiores nas áreas agricultáveis.

Figura 9 - Grupos funcionais previstos de ASVs encontrados em cada monocultivo com base na Enciclopédia de Genes e Genomas de Kyoto (KEGG) resumidos para KEGG Pathway Nível 2. Grupos funcionais com menos de 2% de abundâncias relativas não foram incluídos.



Fonte: O Autor, 2020.

5.4.2 Composição geral de funções metabólicas com a implantação dos sistemas agrícolas

As análises de PERMANOVA entre pares para agrupamentos de funções metabólicas para cada sistema de uso da terra e suas APPs, foram utilizadas para comparar as médias entre dois usos do solo, e utilizou-se também a métrica de Bray-curtis, que considera apenas presença e ausência de compartilhamento de funções metabólicas, ou seja, pode ser expresso como uma proporção de similaridade ou dissimilaridade (distância) na abundância de funções metabólicas (MAGURRAN e MCGILL, 2010).

Considerando os perfis funcionais (composição KO) encontrados nas comunidades bacterianas do solo nos quatro agroecossistemas estudados, não foi possível verificar diferenças significativas na composição KO entre áreas cultivadas e APPs adjacentes (Tabela 3).

Tabela 3 - Testes de PERMANOVA em pares (pontuações PPERM para métrica Bray-curtis) para agrupamento de função metabólica para cada agroecossistema

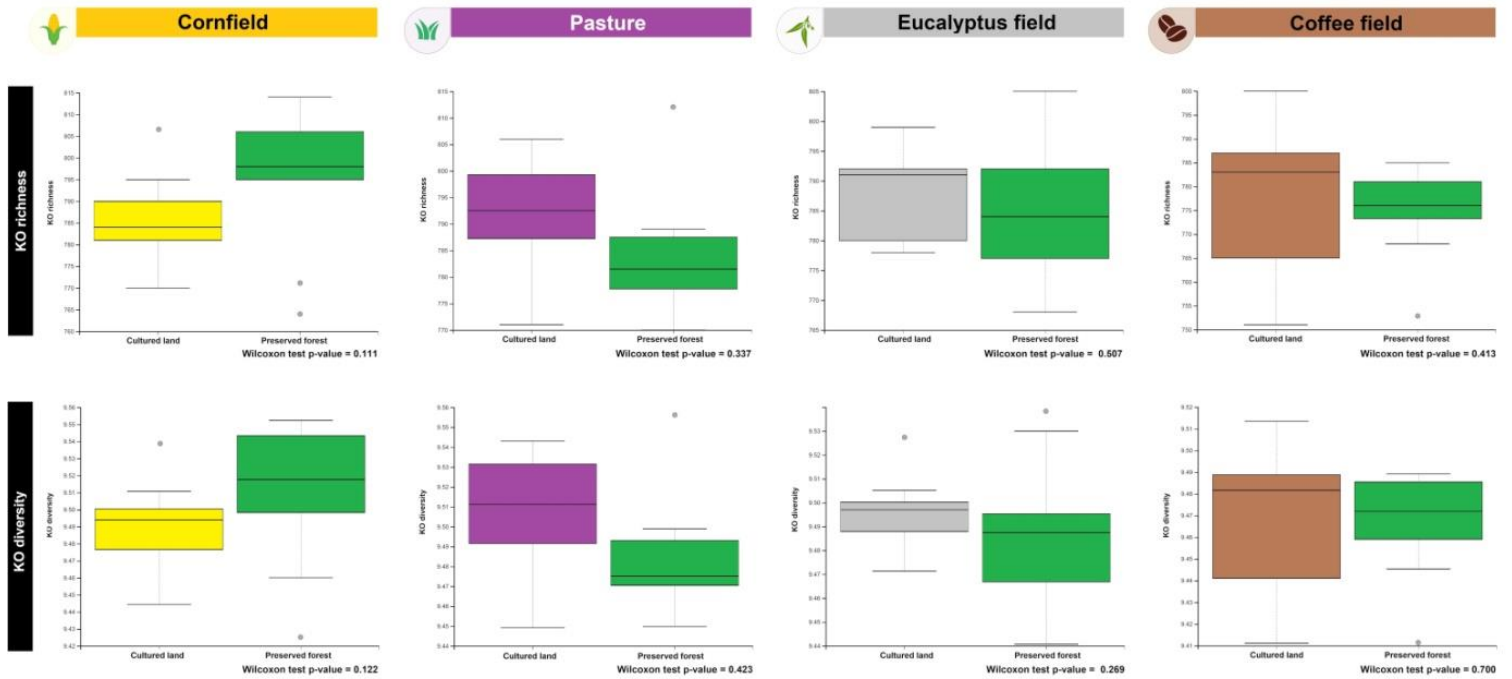
Land-use system	Molecular functions (KO)
Cornfield vs. APP	0.442
Pasture vs. APP	0.604
Eucalyptus field vs. APP	0.305
Coffee field vs. APP	0.931

Fonte: O Autor, 2020.

5.4.3 Diversidade geral das vias

A Figura 10 mostra que para a Riqueza das vias funcionais e para o parâmetro funções metabólicas testadas não houve diferenças significativas ($P > 0,05$) entre cada cultura e sua APP adjacente. E isso ocorreu também para a diversidade das vias funcionais.

Figura 10 - Boxplot de KO riqueza e KO diversidade de Shannon do agroecossistemas. Teste Wilcoxon (cultura x APP) o valor p foi indicado na parte inferior de cada gráfico



Fonte: O Autor, 2020.

5.4.4 Comparação da diversidade de Shannon das vias metabólicas entre as áreas de cultivo e as áreas de APPs adjacentes

Refinou-se a análise que comparou todas as análises metabólicas de uma só vez entre as culturas e APPs, pois na comparação das funções metabólicas não se viu diferenças significativas, conforme Tabela 3, sendo assim a Tabela 4 trata-se da comparação da diversidade de Shannon das vias metabólicas por categoria de vias metabólicas entre as áreas de cultivo e as áreas de APPs adjacentes.

A diversidade das vias metabólicas com diferenças significativas na comparação das áreas implantadas com pastagem com as áreas de APPs, foi para metabolismo de Nucleotídeos, energia, transporte de membrana e dobragem, seleção e degradação de elementos genéticos (maior diversidade na cultura da pastagem) ($P < 0,05$). Na comparação das áreas de milho com as áreas de APPs houve diferença significativa para as vias metabolismo de glycan (maior diversidade na cultura do milho). Para as áreas de eucalipto comparadas com suas APPs houve diferença significativa para as vias metabólicas biossíntese de metabolitos secundários (maior diversidade na cultura do eucalipto) e para as áreas de café e suas APPs

houve diferença significativa para as vias Dobragem, Seleção e Degradação de elementos genéticos (maior diversidade na cultura do café), conforme Tabela 4.

Tabela 4 - Diversidade de Shannon de funções moleculares previstas (KOs) classificadas pelas vias KEGG de nível 2 encontradas em cada sistema de uso da terra acessado. As diferenças significativas encontradas nas comparações de solos cultivados e APPs adjacente estão representadas em negro











































Level 2 KEGG Pathways	Pasture			Cornfield			Coffee			Eucalyptus		
	Cultured	APP	Wilcoxon p-value	Cultured	APP	Wilcoxon p-value	Cultured	APP	p-value	Cultured	APP	Wilcoxon p-value
Amino acid metabolism	7.25 (0.03)	7.25 (0.03)	0.87	7.24 (0.03)	7.22 (0.04)	0.20	7.22 (0.03)	7.21 (0.03)	0.63	7.2 (0.04)	7.19 (0.07)	0.76
Carbohydrate metabolism	7.42 (0.03)	7.41 (0.03)	0.75	7.43 (0.03)	7.38 (0.06)	0.12	7.33 (0.03)	7.33 (0.03)	1.00	7.4 (0.06)	7.39 (0.03)	0.27
Cell community	4.77 (0.05)	4.74 (0.03)	0.34	4.83 (0.1)	4.77 (0.11)	0.27	6.57 (0.03)	6.56 (0.05)	0.50	4.67 (0.07)	4.69 (0.08)	0.83
Cell cycle	3.1 (0.01)	3.09 (0.02)	0.08	3.1 (0.02)	3.09 (0.04)	0.10	4.7 (0.08)	4.7 (0.08)	0.85	3.09 (0.03)	3.08 (0.02)	0.45
Cofactor and vitamin metabolism	6.68 (0.03)	6.68 (0.02)	0.87	6.68 (0.03)	6.66 (0.04)	0.27	3.11 (0.04)	3.09 (0.08)	0.85	6.64 (0.03)	6.62 (0.04)	0.23
Drug resistance	2.8 (0.05)	2.79 (0.06)	0.87	2.93 (0.07)	2.92 (0.12)	0.45	2.81 (0.11)	2.83 (0.16)	0.44	2.85 (0.04)	2.83 (0.07)	0.51
Energy metabolism	6.02 (0.01)	5.95 (0.03)	> 0.001	5.98 (0.03)	5.95 (0.03)	0.10	6.02 (0.02)	6.01 (0.04)	0.44	5.95 (0.05)	5.93 (0.05)	0.63
Folding, sorting and degradation	4.14 (0.02)	4.11 (0.01)	0.04	4.17 (0.02)	4.18 (0.02)	0.35	4.12 (0.03)	4.06 (0.06)	0.01	4.12 (0.02)	4.1 (0.02)	0.06
Glycan metabolism	5.28 (0.03)	5.29 (0.03)	0.26	5.31 (0.02)	5.27 (0.04)	0.03	5.13 (0.03)	5.15 (0.04)	0.39	5.2 (0.05)	5.22 (0.02)	0.27
Lipid metabolism	4.69 (0.05)	4.71 (0.02)	0.63	4.6 (0.05)	4.6 (0.06)	0.69	4.65 (0.04)	4.64 (0.06)	0.85	4.59 (0.07)	4.56 (0.05)	0.31
Membrane transport	6.3 (0.03)	6.25 (0.05)	0.02	6.24 (0.02)	6.22 (0.05)	0.15	6.11 (0.05)	6.09 (0.04)	0.34	6.2 (0.04)	6.17 (0.06)	0.23
Cell motility	4.73 (0.02)	4.72 (0.03)	0.42	4.68 (0.02)	4.68 (0.03)	0.76	4.59 (0.01)	4.59 (0.01)	0.44	4.72 (0.02)	4.72 (0.02)	0.96
Nucleotide metabolism	5.99 (0.03)	5.95 (0.02)	0.05	6 (0.04)	6 (0.02)	0.76	5.88 (0.02)	5.86 (0.04)	0.21	5.95 (0.03)	5.93 (0.02)	0.10
Replication and repair	5.5 (0.01)	5.49 (0.02)	0.52	5.53 (0.02)	5.52 (0.03)	0.83	5.49 (0.02)	5.49 (0.03)	0.56	5.5 (0.02)	5.48 (0.02)	0.09
Second. metabolites biosynthesis	2.44 (0.05)	2.43 (0.03)	0.52	2.72 (0.08)	2.69 (0.16)	0.27	2.34 (0.02)	2.33 (0.05)	0.85	2.62 (0.06)	2.55 (0.08)	0.02
Signal transduction	5.74 (0.04)	5.71 (0.03)	0.20	5.62 (0.04)	5.62 (0.06)	0.89	5.33 (0.05)	5.34 (0.07)	0.92	5.67 (0.06)	5.66 (0.07)	0.51
Terpenoid metabolism	3.95 (0.03)	3.93 (0.02)	0.34	3.96 (0.03)	3.94 (0.04)	0.27	3.88 (0.03)	3.86 (0.04)	0.15	3.88 (0.05)	3.87 (0.06)	0.96
Transcription	1.98 (0.01)	1.99 (>0.001)	0.05	1.97 (0.01)	1.98 (0.01)	0.20	2 (>0.001)	2 (>0.001)	0.29	1.98 (0.01)	1.98 (0.02)	0.83
Translation	6.28 (0.02)	6.27 (0.02)	0.42	6.26 (0.02)	6.27 (0.02)	0.89	6.22 (0.02)	6.23 (0.03)	0.44	6.29 (0.02)	6.28 (0.02)	0.27
Xenobiotics degradation	3.48 (0.03)	3.44 (0.03)	0.08	3.23 (0.03)	3.21 (0.1)	0.63	3.4 (0.06)	3.36 (0.09)	0.25	3.61 (0.08)	3.57 (0.18)	0.69






Fonte: O Autor, 2020.

Considerando a diversidade de KO (diversidade de Shannon), quando comparada a diversidade de KO entre cada tipo de área cultivada e APPs adjacentes, pode-se observar que várias comparações apresentaram um aumento significativo na diversidade de KOs em áreas cultivadas em comparação com APPs adjacentes, como o metabolismo de Nucleotídeos, energia, transporte de membrana e dobragem, seleção e degradação de elementos genéticos (pastagens); Metabolismo do glicano (milho); Dobragem, Seleção e Degradação de elementos genéticos (café); e Biossíntese de metabólitos secundários (eucalipto), conforme Figura 11.

No entanto, quando se estruturou a composição de KO por categorias de KEGG Nível 2, os testes de PERMANOVA revelaram dissimilaridades de composição de KO entre áreas cultivadas e amostras de APPs adjacentes para várias categorias de KEGG Nível 2, exceto para agroecossistema de Eucalipto (Figura 11).

Figura 11 - Diversidade de KO e comparações de composição entre cultura e amostras de APP por agroecossistema

Metabolic Pathways	KO Diversity				KO Composition			
	Pasture	Cornfield	Coffee	Eucalyptus	Pasture	Cornfield	Coffee	Eucalyptus
Amino acid metabolism	●	●	●	●	 ≠ 	●	●	●
Carbohydrate metabolism	●	●	●	●	 ≠ 	●	●	●
Lipid metabolism	●	●	●	●	●	●	●	●
Nucleotide metabolism	 > 	●	●	●	 ≠ 	●	●	●
Cofactor and vitamin metabolism	●	●	●	●	●	●	●	●
Energy metabolism	 > 	●	●	●	●	 ≠ 	●	●
Glycan metabolism	●	 > 	●	●	 ≠ 	●	●	●
Terpenoid and polyketides metabolism	●	●	●	●	●	 ≠ 	●	●
Other secondary metabolites biosynthesis	●	●	●	 > 	 ≠ 	●	●	●
Xenobiotics degradation	●	●	●	●	 ≠ 	●	●	●
Drug resistance	●	●	●	●	●	●	●	●
Cell motility	●	●	●	●	●	●	●	●
Cell growth and death	●	●	●	●	●	●	●	●
Cell community	●	●	●	●	●	●	●	●
Membrane transport	 > 	●	●	●	 ≠ 	●	●	●
Signal transduction	●	●	●	●	●	●	●	●
Replication and repair	●	●	●	●	●	●	●	●
Folding, sorting and degradation	 > 	●	 > 	●	 ≠ 	●	●	●
Translation	●	●	●	●	●	 ≠ 	●	●
Transcription	 < 	●	●	●	●	 ≠ 	 ≠ 	●

Legend:  Pasture  Eucalyptus ● Similar > higher Shannon diversity
 Coffee  Cornfield ≠ Not similar < lower Shannon diversity
 Native forest (APP)

Fonte: O Autor, 2020.

6. DISCUSSÃO

As análises comparativas das propriedades químicas do solo das áreas cultivadas e das APPs confirmaram a hipótese através da análise PCA, a qual revelou que a conversão do solo alterou a condição química do solo para todos os agroecossistemas estudados (Figura 2). As análises das propriedades do solo, também revelaram uma diminuição no teor de MO nas áreas cultivadas e aumento do pH e do teor de P e S (para todos os agroecossistemas), bem como um aumento nos micronutrientes específicos em cada agroecossistema diferente (Tabela 1).

As diferenças encontradas para a composição química entre as amostras de solo das áreas cultivadas e das áreas de APPs adjacentes foram devido às práticas agrícolas realizadas na implantação e manutenção das culturas. O pH, MO, Ca e Mg, são os principais determinantes da composição e atividades dos microrganismos do solo.

O baixo pH do solo nas áreas de florestas pode ter sido influenciado pela decomposição da MO por bactérias, resultando na produção de íons H^+ , pois essas áreas apresentam maior deposição de serapilheira e no processo de decomposição da MO ocorre maior liberação de ácidos e liberação de CO_2 , e assim tende a acidificar os solos juntamente com os exsudados ácidos liberados pelas raízes das plantas. E essas áreas não recebem calcário para correções da acidez do solo. Comparando com os solos das culturas, os quais apresentaram maiores valores de pH, pode ser explicado devido a essas áreas serem anualmente corrigidas através da calagem realizada de acordo com a análise de solo (BARRETO et al., 2006; MATIELLO et al., 2016; THEODORO et al., 2003; ZALAMENA, 2008). Barreto et al. (2006) e Zalameña (2008) chegaram a resultados semelhantes, em que os valores de pH diferiram significativamente entre os diferentes usos do solo e das matas.

As áreas de cultivo apresentaram os maiores teores de Ca e Mg, quando comparadas com as áreas de APPs, o que pode ser devido à prática de correção do solo que ocorrem nas áreas cultivadas periodicamente, pois o calcário é fonte desses dois nutrientes.

As áreas de APPs associadas a essas culturas apresentaram teores mais baixos de Ca e Mg, o qual é esperado uma vez que neste sistema o que está disponível no solo provavelmente esteja sendo absorvido pela vegetação, e retorna para o solo novamente. Não houve aplicações de calcário e adubos minerais nas áreas de florestas (CAVALCANTE et al., 2007; FRAZÃO et al., 2008; CENTURION, CARDOSO e NATALE (2001).

As florestas apresentam um teor de MO maior devido ao acúmulo de resíduos vegetais e animais no interior das mesmas e a sua preservação, formando então a serapilheira, e assim

quando não há incorporação, tem-se maior cobertura do solo, uma menor perda pela erosão e um menor contato com os organismos decompositores. Também é necessário levar em consideração o baixo pH do solo das áreas de florestas, pois há uma menor presença de microrganismos responsáveis pela decomposição da MO.

O baixo teor de MO nas áreas de cultivo, pode ser explicado por vários processos como a falta da prática de cobertura do solo com palhada, a qual preserva a MO na superfície; as práticas de calagem e adubação mineral que são realizadas nas áreas agrícolas podem favorecer uma maior decomposição da MO, pois os microrganismos decompositores são ativados com o aumento do pH e com a aplicação de nutrientes; o preparo do solo através da aração e gradagem promove maior aeração, estimulando a atividade microbiana e assim o aumentando da taxa de decomposição da MO; o processo de erosão, que essas áreas agrícolas podem estar sofrendo, por meio da perda de solo; uma baixa produção de material vegetal, com o cultivo continuado de espécies vegetais de reduzida capacidade de incorporar resíduos orgânicos no solo via palhada (MATIELLO et al., 2006; FURTINI NETO et al., 2001).

Concordaram com o estudo Centurion, Cardoso e Natale (2001) e Dube et al. (2019) em que observaram teores de MO menores em solos cultivados e maiores em solos não cultivados. Theodoro et al. (2003) obtiveram resultados contrários, pois o teor alto de MO foi observado em todos os usos do solo.

Portanto observou-se que são adotados preferencialmente práticas convencionais de manejo do solo, que incluem a aplicação de calcário para corrigir o baixo pH do solo e alto teor de Al; o acúmulo de níveis de fósforo, potássio e outros micronutrientes específicos pela fertilização; e a diminuição do conteúdo de MO resultante do cultivo periódico do solo (LOPES, 1996; WILCKE e LILIENFEIN, 2005).

De acordo com Elsas (2019), Foley et al. (2005) e Babin et al. (2019) o manejo agrícola é um determinante importante da dinâmica do microbioma do solo, pois as condições locais do solo podem ser afetadas por práticas agrícolas, levando à diminuição da qualidade do solo, a qual é afetada pelas práticas inadequadas de manejo do solo como desmatamento, queimadas, aração em excesso, monocultivos, aplicação de fertilizantes minerais e agroquímicos em excesso e invasões por espécies vegetais exóticas. Grande parte das alterações químicas e biológicas que ocorrem no solo é devido aos impactos que a agricultura convencional causa como a degradação da qualidade da água, salinização e acidificação de áreas, desertificação, erosão, compactação, perdas de solo, acúmulo de agroquímicos e patógenos no solo, contaminação de solos, água e ar, resistência de pragas, aumento das emissões de gases de efeito estufa, perda de fertilidade, matéria orgânica e produtividade das

culturas, danos na ciclagem de nutrientes e outras funções desempenhadas pelos microrganismos, desaparecimento de espécies nativas e ambientes naturais, diminuição da biodiversidade, riqueza e abundância e perda de serviços ecossistêmicos.

Entretanto para atender à demanda da população mundial que vem crescendo rapidamente, com o mínimo de prejuízos ambientais deve-se adotar práticas alternativas de uso sustentável do solo, que segundo Mbuthia et al. (2015), Lepsch (2010) e Andreola e Fernandes (2007) são as práticas de caráter edáfico que mantêm ou melhoram a fertilidade do solo disponibilizando nutrientes para as plantas e para a microbiota. As medidas a serem adotadas são através da eliminação/controla das queimadas, no uso adequado de fertilizantes minerais sem excesso, na realização da calagem e da rotação de culturas. As práticas mecânicas, como o preparo do solo (aração e gradagem) e o plantio em curvas de nível evitando a erosão. As práticas vegetativas, como a cobertura vegetal e a cobertura com palhada protege o solo contra a erosão, cultivos de reflorestamento, a formação e manejo adequado de pastagens, os cultivos em faixas, o controle das capinas, as faixas de árvores como quebra ventos, a combinação lavoura e pecuária, que evitam a erosão acelerada. E uma das principais práticas conservacionistas é o sistema de plantio direto, uma forma de manejo do solo que envolve técnicas recomendadas para aumentar a produtividade, conservando o ambiente de cultivo, sendo essencial para manter as características físicas, químicas e biológicas, garantindo a sustentabilidade do solo. As principais técnicas são a ausência ou mínimo revolvimento possível do solo, a cobertura do solo com palhada e a rotação de culturas (LEPSCH, 2010).

Portanto, vários são os benefícios das práticas agrícolas conservacionistas, principalmente o aumento da ciclagem de nutrientes, a melhora do microclima local, a diminuição de patógenos, insetos-praga e da erosão, a eliminação de determinados contaminantes e a conservação da fertilidade e da qualidade do solo.

A α -diversidade das comunidades de microrganismos presentes nos solos com o cultivo de café, pastagem, eucalipto e em suas APPs de referência não apresentou diferença significativa nos índices estimados (Riqueza, Índice de Diversidade de Shannon, Equitabilidade e Índice de Diversidade Filogenética), mas as áreas implantadas com milho comparadas com suas APPs foram dissimilares para a diversidade de Shannon e a diversidade filogenética (Figura 4).

Porém, mesmo não encontrando diferenças na diversidade entre áreas de cultura e APPs, obteve-se diferenças na composição de espécies (β -diversidade).

A β -diversidade descreveu a composição total das comunidades entre as amostras de solo sob as áreas de milho, pastagem e café comparadas com suas APPs adjacentes, as quais apresentaram diferença significativa, ou seja, as composições de espécies entre essas áreas cultivadas e suas APPs são diferentes. E apenas as áreas de eucalipto apresentaram composição de espécies similares quando comparadas às áreas de APPs (Figura 8).

A diferença encontrada pode ser explicada com base na ecologia da comunidade do solo que são as relações dos microrganismos do solo entre si e com o meio em que vivem. Toda a alteração química e biológica causada pelos diferentes usos do solo e pelas práticas agrícolas inadequadas exerce pressão seletiva sobre a proliferação e permanência (sobrevivência) de espécies no solo, selecionando as espécies de bactérias capazes de se desenvolverem nas condições atuais de perturbação do solo e eliminando espécies sensíveis a essas condições adversas que o solo passou a apresentar, alterando assim a composição das comunidades.

De acordo com Moreira (2006) todos os microrganismos presentes no solo só permanecem no meio se tiverem aptos a sobreviver, crescer e se reproduzir, sendo função das condições ambientais dominantes e dos limites da sua genética. Toda vez que o meio muda, a pressão de seleção muda, e novos caracteres podem ser selecionados.

Diversos fatores físicos e químicos atuam simultaneamente determinando as condições ambientais, que são dinâmicas. Assim, a comunidade do solo reflete seu habitat, e o sucesso de um organismo é função da rapidez de suas respostas fisiológicas às condições ambientais predominantes. Um organismo se multiplica até que limitações bióticas ou abióticas sejam impostas contrabalanceando a taxa de crescimento. Porém, quanto maior a complexidade da comunidade biológica, maior sua estabilidade.

Para Eldor (2015) a resposta de uma espécie a condições ou recursos ambientais depende da composição genética das espécies. Algumas espécies são adaptadas a condições variadas através de altos níveis de diversidade genômica. Além disso, todos os organismos têm alguma característica que é ajustada ao ambiente.

A similaridade da α -diversidade para a maioria dos usos do solo (exceto para o milho) e suas APPs foi observada mesmo sendo realizado o manejo dos solos agrícolas para a implantação e manutenção de culturas. Entretanto o desenvolvimento dos cultivos nas áreas não alterou a riqueza e os parâmetros de diversidade das espécies das bactérias quando comparadas com suas áreas de APPs, conforme Figura 4.

Os resultados concordam com os relatos de Goss-Souza et al., 2017; Mendes et al., 2015; Lee-Cruz et al., 2013; Jesus et al. 2009, que mostraram que diferentes contextos de

conversão de floresta tropical em agricultura podem manter ou alterar a diversidade alfa das comunidades bacterianas do solo.

Resultado esse que pode ser explicado, pois existem espécies de microrganismos que podem sobreviver e se adaptar a condições extremas de limitações físicas e químicas, como de salinidade, temperatura, pressão, pH, água, aeração, porosidade, adesão, disponibilidade de nutrientes, acidez e toxicidade de elementos. Portanto microrganismos podem ser encontrados em quase todos os ecossistemas terrestres, incluindo solos alterados e não alterados (MOREIRA, 2006).

A microbiota das áreas de café, pastagem e eucalipto e suas áreas de florestas podem estar em equilíbrio biológico, o qual baseia-se em uma elevada complexidade biológica que garante relações diversas entre os microrganismos, limitando a explosão populacional. A diversidade da comunidade é definida pelo número de espécies, indivíduos e processos. Assim, uma comunidade em equilíbrio com seu ambiente sofre um menor efeito de fatores externos, como as práticas agrícolas inadequadas no solo, que foi o resultado encontrado no estudo (MOREIRA, 2006).

As áreas de milho apresentaram uma maior diversidade em relação ao índice de Shannon e filogenético devido a essas áreas provavelmente estarem desenvolvendo uma agricultura mais conservacionista, através do sistema de plantio direto e práticas como a rotação de culturas, cobertura do solo e outras.

Vários autores concordam com esse resultado como Mendes et al. (2015) que examinaram as mudanças nas comunidades bacterianas em solos de florestas nativas, áreas desmatadas, áreas de agricultura (plantio direto e rotação de culturas com milho e soja) e áreas de pastagens, constatando que a diversidade foi maior nas áreas agrícolas e menor nas áreas florestais. Discordando do estudo e desse autor, foi relatado que os sistemas agrícolas de baixo insumo promovem maior abundância de organismos (DEGRUNE et al., 2017).

Em contrapartida Van der Bom et al. (2018) avaliaram os efeitos de longo prazo de diferentes insumos de fertilização mineral e orgânica na composição e atividade das comunidades microbianas do solo, e observaram que as áreas que receberam fertilizante orgânico apresentaram uma riqueza maior do que aquelas que receberam fertilizantes minerais, e aumentou a biomassa e a diversidade. Porém os índices de diversidade (riqueza, uniformidade e índice de Shannon) para as comunidades bacterianas do solo não eram significativamente diferentes, concordando em partes com este trabalho que também não apresentou diferença significativa na maioria dos usos do solo.

Degrune et al. (2017) apud Van der Bom et al. (2018) relataram aumento da riqueza e diminuição da uniformidade de comunidades bacterianas em solos sob manejo orgânico, o que foi atribuído principalmente ao uso e qualidade dos insumos orgânicos. Já as aplicações de fertilizantes minerais resultaram em redução da riqueza e aumento da uniformidade da microbiota do solo caracterizada por organismos oligotróficos, o que pode ser comparado com as áreas de APPs deste estudo, pois apresentam material orgânico na superfície devido a sua rica serapilheira, e que em relação a riqueza, foi um índice maior nas áreas de APPs associadas às áreas de pastagem e eucalipto (mesmo não sendo significativo) e também foi maior nas áreas de milho com o sistema de plantio direto (mesmo não sendo significativo), pois após a colheita deixa a palhada na superfície, e essa prática aumenta a quantidade de material orgânico no solo.

Dube et al. (2019) objetivaram analisar o impacto da agricultura a longo prazo na diversidade bacteriana do solo, através das diferenças na estrutura da comunidade bacteriana entre solo não cultivado (florestas naturais) e solo sob agricultura intensiva, assim o índice de riqueza foi significativamente maior no solo agrícola cultivados, onde são desenvolvidas culturas de forma intensiva, ou seja, agricultura convencional, do que no solo não agrícola, que apresentou menor riqueza, em áreas de florestas naturais. O resultado concordou com este trabalho, pois a riqueza foi maior nas áreas de milho, as quais podem estar realizando uma agricultura conservacionista, do que nas suas APPs (mesmo não sendo significativo).

Em relação à diversidade concorda-se com o estudo de Dube et al. (2019) que diz sobre os vários pesquisadores que relataram perda de diversidade bacteriana devido à agricultura, principalmente através da conversão de habitats naturais em sistemas intensamente gerenciados. No entanto, todos os índices de diversidade calculados naquele estudo indicaram que as terras sob produção agrícola intensiva por mais de 50 anos tinham uma diversidade bacteriana significativamente maior em comparação com as terras não cultivadas, que é o caso do trabalho, pois as áreas agrícolas foram mais diversas do que as áreas de APPs (significativo apenas para milho).

Para Amoo e Babalola (2019) seus resultados mostraram maior riqueza e diversidade bacteriana nas florestas naturais em relação às florestas comerciais de Pinus, concordando com as áreas de APPs que apresentaram maior riqueza e diversidade quando comparadas com as áreas de eucalipto (mesmo não sendo significativo).

No estudo de Colombo et al. (2016) a composição da comunidade bacteriana foi influenciada pelos tratamentos de manejo florestal, ou seja, apresentou diferença significativa.

Para Amoo e Babalola (2019) que analisaram florestas naturais e florestas plantadas de Pinus, obteve diferença significativa na composição bacteriana entre os solos florestais naturais e comerciais, fornecendo evidências de que as práticas de uso da terra afetaram a composição das comunidades bacterianas. Esses dois resultados não concordaram com este trabalho, pois quando comparadas as áreas de eucalipto com suas APPs, a composição de espécies foi similar entre eles. Zhou et al. (2017) concordaram com o trabalho em questão, pois a composição da comunidade bacteriana do solo em seringais foi similar aos ecossistemas florestais.

Os resultados encontrados levam a crer que os cultivos de florestas plantadas retêm alguns atributos (nutrientes) comuns dos ecossistemas florestais após a floresta ser convertida. Assim, a conversão de uma floresta para um cultivo de florestas plantadas não significa necessariamente que a composição da comunidade bacteriana será reduzida ou perdida.

Além disso, as correlações de Spearman entre os índices de diversidade alfa e as propriedades químicas do solo revelaram que enquanto algumas propriedades do solo podem estar atuando favorecendo o aumento da diversidade bacteriana (fatores de correlação positiva), outras propriedades podem estar atuando de forma oposta, gerando um trade-off que mantém os níveis de diversidade alfa mesmo com alterações químicas do solo relacionadas às conversões de terras, conforme Tabela 2.

Os filos bacterianos dominantes encontrados nas amostras em todos os usos do solo foram Proteobacteria, Verrucomicrobia e Acidobacteria. E as famílias bacterianas mais abundantes foram Xiphinematobacteriaceae (Filo Verrucomicrobia), Xanthobacteraceae (Filo Proteobacteria alfa), Chthoniobacteraceae (Filo Verrucomicrobia) e Acidobacteriales (Filo Acidobacteria, conforme Figura 5 e 6.

Os filos e famílias dominantes também foram encontrados nos estudos de Mendes et al. (2015), Janssen (2006) Zhou et al. (2017), Colombo et al. (2016), Amoo e Babalola (2019) e Dube et al. (2019). Os resultados encontrados por Van der Bom (2018) foram um pouco diferentes em relação aos filos do estudo em questão, pois os filos mais abundantes foram Actinobacteria, Proteobacteria, Acidobacteria, Planctomycetes e Cloroflexi.

O filo Verrucomicrobia (família Xiphinematobacteriaceae e Chthoniobacteraceae) foi mais dominante nas áreas de APPs, pastagem, café e milho e média a baixa frequência nas áreas de eucalipto. Nas áreas de APPs a frequência dessas famílias foram maiores, concordando com alguns estudos que concluíram que esse filo é mais abundante em solos de APPs, como no trabalho de Fierer et al. (2012) que encontraram maior abundância de

Verrucomicrobia e Acidobactérias em solos de florestas, pastagens naturais e florestas plantadas.

O filo Acidobacteria (família Acidobacteriales) apresentou uma maior dominância na maioria das amostras de solo das áreas de florestas quando comparadas com as áreas de café, milho, pastagem e eucalipto que apresentaram de média a alta frequência. A média frequência desse filo pode ser devido à prática agrícola de correção do solo, através da aplicação de corretivos agrícolas, diminuindo a acidez do solo e conseqüentemente a menor abundância desse filo, porém, mesmo assim, tem-se a presença dessas bactérias nas amostras de solo, pois os solos agrícolas mudam facilmente o atributo acidez devido à aplicação de adubos químicos como a adubação nitrogenada que acidifica o solo.

Nas áreas de pastagem, a maior abundância das Acidobactérias pode ser devido a adubação excessiva dessas áreas, recebendo uma quantidade muito maior de nitrogênio do que necessita, acidificando o solo, ou essas áreas de cultivo não serem corrigidas com frequência, mantendo a acidez do solo.

Em relação aos resultados encontrados das classes de menores frequências nas áreas de milho, que acredita-se estar realizando a técnica de plantio direto, concordaram com os resultados de Souza et al. (2017) em que diz que áreas convertidas em plantio direto a longo prazo resultam em um aumento da abundância relativa dos filos Bacteroidetes, Cloroflexi, Gemmatimonadetes, Nitrospirae, Planctomycetes e com uma diminuição da abundância para as Acidobactérias.

Vários autores chegaram à mesma conclusão como Souza et al. (2017) e Mendes et al. (2015) que relatam que a comunidade presente nas áreas de pastagens e de plantio direto, e nas áreas de solos florestais respectivamente, mostraram que os solos das florestas apresentaram maior abundância de Acidobactérias quando comparado às outras áreas agrícolas.

Pereira et al. (2019) avaliaram a comunidade bacteriana do solo e da serapilheira em plantios puros de *Eucalyptus grandis* (com e sem adição de nitrogênio), de *Acacia mangium* e em um sistema consorciado de *Eucalyptus grandis* e *Acacia mangium*, e encontrou o filo, classe e família das Acidobactérias em maior abundância, o que comprova que as florestas plantadas apresentam também uma maior abundância dessas bactérias.

O estudo de Amoo e Babalola (2019) que analisaram florestas naturais e florestas plantadas de Pinus, as florestas naturais apresentaram predominantemente o filo Acidobacteria igual ao presente trabalho, enquanto as florestas comerciais não apresentaram esse filo como predominante, diferente de parte do trabalho, pois nas áreas de eucalipto

também apresentou uma maior abundância de Acidobactérias se comparadas às suas áreas de APPs adjacentes.

Além da justificativa de que solos com pH corrigidos (solos agrícolas), apresentam menor abundância de Acidobactérias quando comparados com solos não corrigidos como os solos de florestas, pode-se concluir, segundo Fierer et al. (2012) os quais realizaram dois experimentos de longo prazo de fertilização nitrogenada em pastagens e áreas agrícolas com sistema de rotação de culturas, concordaram com o estudo em questão, pois nas áreas que foram aplicadas altas quantidades de nitrogênio, como nas pastagens, obteve-se uma alta abundância relativa de Acidobactéria, não podendo ser explicado por Fierer et al. (2012) que diz que as Acidobactérias são um grupo considerado oligotrófico com taxas de crescimento mais lentas e, com capacidade de metabolizar substratos pobres em nutrientes e C recalcitrantes, podendo então ser correlacionado com as áreas de florestas e as áreas de eucalipto que não recebem frequentemente nutrientes provenientes de adubações químicas.

Mudanças na composição bacteriana após a manipulação de nitrogênio são explicadas por essa hipótese copiotrófica-oligotrófica, na qual grupos copiotróficos (por exemplo, Actinobacteria e Firmicutes) que têm taxas de crescimento rápidas têm maior probabilidade de aumentar em abundância em condições ricas em nutrientes, enquanto grupos oligotróficos (por exemplo, Acidobacteria e Chloroflexi) que têm uma taxa de crescimento mais lenta provavelmente diminuiriam em abundância.

O menor estado nutricional e ácido do solo encontrado nas áreas de florestas nativas, plantadas e de plantio direto pode explicar a maior abundância relativa de Acidobacteria, que relatou exibir um estilo de vida oligotrófico e prosperar melhor em condições de menor disponibilidade de nutrientes, o qual tem a capacidade de degradar fontes de carbono complexas.

O filo Proteobactéria apresentou uma dominância nos solos cultivados com café, milho e pastagem, quando comparadas com as áreas de APPs, porém as florestas também apresentaram uma boa dominância dessa família. Em relação às áreas de Eucalipto, a frequência dessa família foi menor se comparadas com as florestas e os outros usos do solo.

A alta frequência de Proteobactérias nos solos das APPs associadas às áreas de pastagens não concordou com os resultados de Francioli et al. (2016) que em seu estudo observaram a abundância desse filo nos solos alterados pela fertilização orgânica do que nos solos que foram aplicados adubos inorgânicos e nos solos que não foram adubados como os de florestas.

Entretanto, os resultados encontrados concordaram com o estudo de Souza et al. (2017) pois foi encontrado uma diminuição da abundância desse filo com a conversão de florestas em pastagens. Esse grupo é dominante em solos florestais, com diminuição significativa com a mudança no uso da terra e de acordo com o trabalho as Proteobactérias apresentaram maior abundância nas áreas de APPs quando comparadas com as áreas de eucalipto.

Assim, Mendes et al. (2015) explica que as Proteobacterias são importantes no ciclo global de carbono, nitrogênio e enxofre, funções abundantes em solos florestais, e classificadas como copiotróficas de rápido crescimento, encontradas em ambientes com alta disponibilidade de nutrientes e ricos em carbono que é o caso das florestas, possuindo capacidades metabólicas versáteis. O autor pode explicar a alta frequência de Xanthobacteraceae nas amostras de solo das áreas de APPs adjacentes às pastagens, devido a essas áreas apresentarem uma maior concentração de carbono.

Amoo e Babalola (2019) também relataram que as Proteobactérias são dominantes às custas de outros filios em vários ambientes, incluindo florestas naturais. A alta abundância geral de Proteobactérias em amostras agrícolas foi relatada por diversos autores também, que concluíram que, embora a fertilização a longo prazo com nitrogênio diminua a diversidade bacteriana, geralmente favorece a abundância de Proteobactérias em agroecossistemas, devido a apresentarem uma grande quantidade de carbono no solo às suas funções, o qual é responsável pela promoção do crescimento das plantas, ou seja, devido ao maior aporte de nutrientes aplicados através da fertilização dos solos (DUBE et al., 2019).

A abundância desse filo nas áreas de café e milho, concordam com o estudo de Degrune et al. (2017) que testaram as áreas de preparo convencional e preparo reduzido do solo (plantio direto) e chegaram à conclusão que as Proteobactérias aumentaram em abundância nas áreas de preparo convencional, podendo ser explicado pelo conceito oligotrófico-copiotrófico descrito por Fierer et al. (2012) devido ao maior nível de nutrientes encontrado no preparo convencional.

Portanto, esse filo foi predominante em todas as áreas estudadas, indicando que esta espécie pode não ser afetada principalmente por mudanças no uso da terra. Essa tendência pode estar relacionada ao fato de a Proteobacteria ser um amplo filo que inclui um alto nível de diversidade morfológica, fisiológica e metabólica. Além disso, devido a esta grande diversidade metabólica, os membros da Proteobacteria são cruciais na manutenção da qualidade do solo, desempenhando papéis fundamentais no ciclo do carbono, nitrogênio e enxofre (DAI et al., 2018; DELGADO-BAQUERIZO et al., 2018).

As altas correlações positivas encontradas foram as propriedades H+Al, Al e saturação por alumínio (m) e a família Beijerinckiaceae (Filo Proteobacteria), P-meh e P-rem e a família Devosiaceae (Filo Proteobacteria), K e t e a família Steroidobacteraceae (Filo Proteobacteria) e P-rem e a família Bacillaceae (Filo Firmicutes) e Chitinophagaceae (Filo Bacteroidetes), ou seja, quanto maior a concentração dos elementos químicos maior a abundância dessas famílias na amostra de solo. As altas correlações negativas encontradas foram entre as propriedades pH, Ca e Mg e a família Beijerinckiaceae, Al, H+Al e saturação por alumínio (m) e a família Steroidobacteraceae e Nitrosomonadaceae (Filo Proteobacteria), assim quanto menor a concentração dos elementos químicos maior é a abundância da família. Pereira et al. (2019) não encontraram correlação significativa entre a estrutura da comunidade e os atributos do solo.

Amoo e Babalola (2019) investigaram a relação entre as propriedades químicas do solo e as abundâncias dos filos bacterianos. O carbono total (C), pH e fósforo (P) são os fatores ambientais que melhor explicaram a variação na composição bacteriana. Estudos afirmaram que o carbono total é um fator-chave que influencia a estrutura das comunidades microbianas do solo e a biomassa bacteriana. O fósforo também afetou a estrutura das comunidades, influenciou a abundância de microrganismos do solo e as adições de fósforo são vitais no aprimoramento da produção primária e decomposição nos ecossistemas florestais. O pH foi um forte determinante na formação das comunidades microbianas. Relatou-se que a estrutura, composição e função dos microrganismos do solo são influenciadas pelo pH do solo, o qual tem grandes efeitos sobre os padrões de biodiversidade e atividades dos microrganismos, em contraste com o uso da terra (MENDES et al., 2015). Os resultados obtidos concordaram com o estudo, pois a concentração das propriedades P-meh e P-rem foi maior e assim a abundância da família Devoseaceae, Bacillaceae e Chitinophagaceae também foi maior.

No estudo de Van der Bom et al. (2018) e Zhou et al. (2017) a abundância de acidobactérias está negativamente correlacionada com o pH, mas isso nem sempre é observado e depende do grupo acidobacteriano, podendo também encontrar associação positiva de Acidobacteria com carbono do solo e nitrogênio total, que indicam uma resposta diversa dentro dos membros oligotróficos do filo de Acidobacteria. Parte dos resultados concordou com os autores, pois o pH apresentou correlação negativa com as famílias do filo Acidobacteria, Koribacteraceae e Solibacteraceae, e parte não concordou devido a essas famílias apresentaram correlação nula com o carbono orgânico.

O grupo Acidobacteria se correlacionou com várias propriedades do solo, correlação positiva com o Al, H+Al, e m, correlação negativa com o pH e os outras propriedades e correlação nula com a MO, CO e Fe. Vários estudos demonstraram o efeito do pH do solo e outras propriedades do solo na abundância de Acidobacteria em diferentes tipos de solo (Navarrete et al., 2013) o qual é abundante em solos florestais e apresenta correlação positiva com o teor de Al, que é um dos principais fatores que diferenciam a floresta de outros usos do solo.

A APP da região onde os solos foram amostrados é rica em Al e apresentou pH mais baixo. A prática de calagem inclui uma diminuição da atividade de H⁺ e uma diminuição na saturação de Al. Assim, os resultados confirmam que a mudança no uso da terra afeta as propriedades do solo, como Al e pH, que apresenta correlação com a comunidade de Acidobacteria. Uma das possíveis correlação se baseia no fato de que a maioria dos microrganismos tem pH intracelular variando em neutro e uma simples variação do pH ambiental pode expor os microrganismos ao estresse (FIERER et al., 2012).

No entanto, não foi apenas o pH que se correlacionou com a estrutura das comunidades microbianas, outras propriedades do solo estão correlacionadas com grupos bacterianos específicos e são alterados pela conversão do uso da terra (MENDES et al., 2014; NAVARRETE et al., 2013).

Alguns resultados mostram que o índice de saturação de Al (m) e o Al foram os fatores que apresentaram correlação com maior número de filos bacterianos. Há muito que se diz que a toxicidade do alumínio afeta comunidades microbianas e também plantas em solos tropicais.

Zhou et al. (2017) descobriram que todos os índices de diversidade de bactérias do solo foram negativamente correlacionados com o pH do solo em plantações de árvores que extraem borracha, quando o pH do solo está abaixo de 6,5, assim, a diminuição da diversidade bacteriana em áreas de florestas está relacionada a diminuição do valor do pH do solo. O que pode ser explicado, pois o pH impõe um consumo fisiológico às bactérias do solo, alterando os resultados competitivos ou reduzindo o crescimento de bactérias incapazes de sobreviver se o pH do solo estiver fora de uma certa faixa. Muitas bactérias têm níveis de pH intracelular próximos ao neutro e, portanto, o pH extremo pode impor um estresse significativo que certas taxas podem tolerar melhor do que outros. Outra hipótese afirma que o pH do solo pode não alterar diretamente a comunidade bacteriana, mas pode funcionar como uma variável que fornece um índice integrado das condições do solo. Há uma série de características do solo (por exemplo, disponibilidade de nutrientes, solubilidade do metal catiônico, características

orgânicas do C, regime de umidade do solo) que são diretamente ou indiretamente relacionadas ao pH do solo, e esses fatores podem impulsionar as mudanças observadas na composição da comunidade.

A composição das espécies das áreas de cultivo de eucalipto não apresentou diferenças significativas quando comparadas com a composição das espécies das áreas de APPs adjacentes, ou seja, apresentaram espécies similares nas amostras de solo, o que levanta a hipótese de que as mudanças nas características químicas do solo não resultaram em mudanças na composição das comunidades bacterianas dos solos estudados.

Uma possível explicação para os achados do eucalipto pode estar relacionada ao fato de, nos solos do Cerrado, o manejo do solo nas plantações de eucalipto ser geralmente esparsa. Com baixa intensidade quando comparada a outras culturas, cujas calagens não são tradicionalmente feitas, os procedimentos de fertilização são restritos antes do plantio, o uso de agrotóxicos no campo é geralmente baixo ou nulo (ZINN e LAL, 2013; ZINN et al., 2011).

A cultura do eucalipto apresenta uma faixa de pH ótima de 5,5, ou seja, a cultura é pouco sensível à acidez do solo (EMBRAPA FLORESTAS, 2003) isso pode ser devido, o eucalipto não receber manejo periódico, como a calagem, pois a correção do solo pode ter sido realizada somente na implantação da cultura, então o seu pH é ácido se aproximando ao da floresta.

Por isso então que as áreas de eucalipto e florestas, quando comparadas suas comunidades, foram similares na composição, pois são semelhantes em algumas propriedades químicas do solo. As propriedades similares entre essas duas áreas foram Ca, Mg, Zn, Mn, K, Fe, m, t e SB. Assim se as áreas de eucalipto fossem corrigidas poderiam apresentar diferenças significativas entre as áreas de APPs associadas, pois a calagem favorece o desenvolvimento e a produção das culturas e apresenta vários benefícios como promover a neutralização do alumínio trocável e insolubiliza o manganês; fornece cálcio e magnésio exigidos pelas culturas; melhora o aproveitamento das adubações químicas, através das elevações do pH; aumenta a atividade microbiana do solo, acelerando a decomposição da matéria orgânica, sendo liberados os nutrientes; e aumenta as cargas dependentes do pH e assim eleva a capacidade de troca de cátions (MATIELLO et al., 2016) podendo a composição dessas duas áreas serem diferentes.

No estudo de Pereira et al. (2019) também não houve diferença significativa entre tratamentos (plantios puros de *Eucaliptus grandis*, com e sem adição de N, *Acacia mangium* e um sistema consorciado de *E. grandis* e *A. mangium*) e períodos de amostragens. O cultivo de eucalipto com a aplicação de nitrogênio reduziu no período de amostragem a diversidade alfa

das amostras de solo. Ainda de acordo com os autores, as plantações de eucalipto apresentaram baixa qualidade de nutrientes (alta relação de C/N) tanto na serapilheira quanto no solo. Além disso, a aplicação de altas taxas de fertilizantes nitrogenados pode afetar as funções da comunidade do solo e da serapilheira, pois o sulfato de amônio produz acidificação instantânea no solo, assim após a hidrólise, o íon amônio pode ser convertido em nitrato por bactérias nitrificantes do solo. Esse processo libera grandes quantidades de H^+ e pode promover a acidificação no solo. O baixo pH do solo reduz a diversidade α das comunidades bacterianas (FIERER, 2012).

Para Pereira et al. (2019) a estrutura e composição da comunidade microbiana são governadas por vários fatores, incluindo o pH do solo e a concentração de nutrientes no solo e serapilheira, que podem ser influenciadas pelo clima e idade das árvores dentro da plantação. Por outro lado, encontraram um efeito substancial de tempo e tratamentos na estrutura e composição da comunidade bacteriana da serapilheira. Zhou et al. (2017) também concordaram com o trabalho em questão, pois a composição da comunidade bacteriana do solo em seringais foi similar aos ecossistemas florestais.

O pode ser explicado, pois os cultivos de florestas plantadas retêm alguns atributos (pH e nutrientes) comuns dos ecossistemas florestais após a floresta ser convertida. Assim, a conversão de uma floresta para um cultivo de florestas plantadas não significa necessariamente que a diversidade da comunidade bacteriana será reduzida ou perdida.

Portanto descobriu-se que a diversidade e a composição da comunidade bacteriana do solo estavam intimamente relacionadas com as propriedades do solo (especialmente o pH do solo) e a vegetação.

Ainda de acordo com Zhou et al. (2017) as plantações de seringueiras são um típico ecossistema florestal artificial e originalmente parte do ecossistema florestal, portanto, mantêm algumas características comuns do ecossistema original. No entanto, essas áreas serão afetadas pela recuperação de terras, aproveitamento, fertilização, capina e outras perturbações humanas ao mesmo tempo. As características de vegetação e solo da seringueira impulsionavam solos a serem mais complexas e mutáveis em comparação com florestas tropicais e florestas secundárias.

Em contrapartida, Amoo e Babalola (2019) encontraram diferença significativa na composição bacteriana entre os solos florestais naturais e comerciais. Esses dados sugerem que existem diferenças nos recursos dos conjuntos de dados individuais quando comparados entre si.

Colombo et al. (2016) também chegaram à conclusão que os mecanismos pelos quais os usos da terra mudam da floresta natural para a floresta manejada e podem afetar a comunidade microbiana do solo e seu funcionamento pode estar relacionado à mudança nas espécies arbóreas e ao distúrbio associado ao estabelecimento da plantação e práticas de manejo subsequentes. Mudanças nas espécies arbóreas podem resultar em mudanças na qualidade e quantidade de insumos da matéria orgânica.

A composição das espécies das áreas cultivadas e das APPs associadas foram diferentes quando comparadas, ou seja, apresentaram uma variedade significativa de espécies, porém não foram observadas grandes alterações nas funções metabólicas nos diferentes usos do solo, o que pode ser devido às diferentes espécies compartilharem as mesmas funções metabólicas, o que é chamado de redundância funcional.

Embora não tenha sido encontrado diferenças na composição geral de KO entre áreas cultivadas e preservadas, as análises comparativas estruturadas (por categorias KEGG Nível 2) revelaram que a conversão de terras pode influenciar a diversidade e composição das funções moleculares (KOs) em tipos metabólicos específicos, com perfis distintos para cada agroecossistema estudado (Figura 11).

Para Colombo et al. (2016) e Moreira (2006) a importância da diversidade microbiana para o funcionamento do solo é desafiada pelo conceito de redundância funcional, "como espécies diferentes que podem desempenhar a mesma função em um determinado ecossistema". Além disso, uma mesma espécie pode ter várias funções, ou seja, cada espécie participa de diferentes processos.

A redundância funcional contribui para a estabilidade dos ecossistemas, assim, solos com comunidade diversa de microrganismos são mais resilientes, ou seja, recuperam-se melhor dos estresses que sofreram porque, quando as condições ambientais se tornarem adversas para uma ou mais populações com a mesma função, outras populações adaptadas àquela nova condição ambiental poderão substituí-las na realização do mesmo processo, que assim poderá ter continuidade e não haverá perda de funções.

Segundo Eldor (2015) e Elsas (2019) em um ecossistema com grande diversidade de espécies, muitas podem exercer as mesmas funções ecológicas que outras. Portanto, se ocorrer perda de espécies relevantes para o ecossistema local, devido aos impactos causados pelo uso inadequado do solo, pode não influenciar o desempenho geral, ou seja, o ecossistema não será prejudicado, já que outras espécies continuariam a desempenhar as mesmas funções. No entanto muitos estudos vêm mostrando que a perda de espécies relevantes, mesmo funcionalmente semelhantes a outras, reduz a estabilidade dos ecossistemas, pois a presença

de espécies de bactérias diferentes não quer dizer que estas são suficientes para manter a função ecológica do ambiente.

Para Colombo et al. (2016) disseram que a redundância funcional é maior para processos executados por uma ampla variedade de microrganismos do solo, como respiração ou decomposição, do que para processos realizados por um grupo restrito de microrganismos especializados.

Entretanto, mesmo não tendo diferenças significativas na diversidade que comparou todas as vias metabólicas de uma só vez entre as culturas e APPs, tem-se algumas funções metabólicas específicas que são muito diferentes em relação a diversidade entre as culturas e as florestas, pois as bactérias estão muito mais frequentes em um determinado solo do que no outro.

Van der bom et al. (2018) não concordaram com o resultado do trabalho, pois a diversidade e a função da comunidade microbiana foram claramente afetadas de maneiras diferente pelas aplicações de fertilizantes orgânicos e mineral.

Segundo Amoo e Babalola (2019) variáveis ambientais são fatores-chave na estrutura e função das comunidades bacterianas nos solos. Os resultados confirmaram que os nutrientes afetaram a estrutura das comunidades bacterianas, ou seja, as comunidades foram moldadas pela acessibilidade de nutrientes.

Para Eldor (2015) a alta diversidade de compostos orgânicos disponíveis no solo resultou em uma ampla gama de organismos com um amplo espectro de enzimas. Foi sugerido que a comunidade microbiana é funcionalmente redundante (ou seja, muitas espécies têm sistemas enzimáticos e papéis duplicados nos processos de decomposição, de modo que alterações na composição da comunidade microbiana não alteram a função). As comunidades de microrganismos no solo e sua função resultante são essenciais para o desenvolvimento e as características de todos os ecossistemas terrestres.

As bactérias desempenham um papel essencial em todos os ciclos biogeoquímicos globais e outras funções importantes do ecossistema, incluindo a criação, manutenção e funcionamento do solo (ELDOR, 2015). Elas realizam todos os tipos básicos de metabolismo e também operam vários outros tipos de metabolismo gerador de energia. A diversidade do metabolismo é expressa por uma grande variação nos modos de geração e metabolismo de energia. É essa diversidade que sustenta a função do solo e permite que os microrganismos ocupem os mais amplos habitat do solo.

Nas diferentes áreas de cultivo foram encontradas funções metabólicas significativamente mais frequentes do que nas áreas de florestas. Porém, a função do

metabolismo está presente de forma significativa em todos os usos do solo, pois é o conjunto de reações bioquímicas interconectadas de um ser vivo, considerando a função das reações celulares, ou seja, é a estratégia de sobrevivência de uma espécie. Podem ser apontadas funções específicas como biossíntese de aminoácidos, degradação de carboidratos, entre outros e funções mais gerais, como a obtenção, armazenamento e utilização de energia. Por isso que todas as áreas cultivadas e suas APPs apresentaram alguma função relacionada ao metabolismo, o que pode ser correlacionada com a similaridade na alfa diversidade entre áreas cultivadas e APPs.

O único agroecossistema estudado que não apresentou alterações significativas na composição taxonômica (plantações de eucalipto) também não apresentou alterações funcionais para nenhuma categoria do KEGG Nível 2, o que pode ser devido a evidência adicional do impacto das mudanças taxonômicas nas comunidades bacterianas devido às conversões de terras na manutenção da equivalência funcional das funções do ecossistema do solo, uma vez que todos os agroecossistemas estudados com evidências de mudanças na estrutura taxonômica de suas comunidades bacterianas também apresentaram mudanças na composição de KOs em diferentes categorias metabólicas. As análises comparativas da abundância de KO entre os tipos de solo acessados revelaram que comunidades de solos de florestas nativas apresentaram maior abundância de KOs sobre as áreas cultivadas, incluindo categorias metabólicas básicas para serviços de regulação do solo, como degradação de xenobióticos e biossíntese de metabólitos secundários (KIBBLEWHITE et al., 2008). Além disso, em todos os agroecossistemas estudados, várias funções metabólicas (KOs) foram identificadas com abundâncias discrepantes entre áreas cultivadas e (áreas preservadas as quais estão relacionadas a diversas categorias de funções metabólicas).

A hipótese testada no estudo foi confirmada, pois os diferentes usos do solo impactam o solo de uma maneira diferente, alterando a composição química do solo e a composição da microbiota do local, mas mesmo assim não alterou a diversidade das espécies de forma significativa (exceto para milho), ou seja, a diversidade foi similar nas comparações feitas, e várias funções metabólicas realizadas pelas bactérias foram alteradas.

Para Eldor (2015) características funcionais são propriedades de um organismo que podem ser afetadas devido a um conjunto de condições afetando o desempenho do organismo.

Segundo Colombo et al. (2016) as práticas de manejo da terra podem alterar significativamente as propriedades físicas, químicas e biológicas do solo, que por sua vez podem ter efeitos profundos em muitas funções do ecossistema, como observado quando se compara áreas de cultivo e áreas de florestas.

Portanto, a influência negativa do uso do solo inadequado nas suas funções observadas neste estudo pode ser interpretada como o efeito da mudança na vegetação, que causou uma diminuição na quantidade e qualidade da matéria orgânica disponível para decomposição pela comunidade microbiana nas áreas de cultivo.

Embora a maioria das práticas agrícolas tenha sido associada à perda de diversidade microbiana do solo, descobriu que algumas práticas agrícolas, como a rotação de culturas, têm o potencial de sustentar a biodiversidade do solo e aumentar ou manter a diversidade funcional. A rotação de culturas poderia, portanto, explicar o aumento da diversidade observada nos solos agrícolas. O cultivo de diferentes culturas em sucessão facilita o fornecimento de diferentes fontes de nutrientes na forma de exsudatos radiculares e resíduos de plantas, que por sua vez podem resultar em na seleção ou introdução de diferentes tipos de microrganismos, renovando continuamente a atividade biológica no solo.

Em contrapartida com os resultados do estudo de ter encontrado poucas funções metabólicas significativas, Dube et al. (2019) encontrou uma alta abundância relativa de funções bacterianas previstas relacionadas à aptidão das plantas, promoção do crescimento e supressão de doenças (metabolismo do enxofre, biossíntese de lipopolissacarídeos e biossíntese de sideróforos) em solo agrícola em comparação com solo não agrícola. Para o autor o solo agrícola era significativamente mais rico nos grupos para processos celulares, sinalização e processos de informação ambiental, enquanto o solo não agrícola era significativamente mais rico no processamento de informações genéticas, metabolismo e processos pouco caracterizados. Ainda segundo o autor, as características presentes em ambos os habitats foram metabolismo de aminoácidos, metabolismo energético e transporte de membranas. As categorias funcionais de tradução, metabolismo lipídico, motilidade celular, metabolismo nucleotídico e metabolismo de co-fatores e enzimas foram moderadamente abundantes. As categorias funcionais associadas à promoção do crescimento e adequação das plantas, incluindo equilíbrio hormonal, comunicação molecular, nutrição das plantas, adaptação das plantas à seca e supressão de doenças foram comparadas entre os dois habitats. Não foram observadas diferenças significativas entre os dois habitats em nenhuma das funções responsáveis pelo equilíbrio hormonal das plantas. Em termos de comunicação molecular, houve diferenças significativas nos sistemas de secreção e quimiotaxia bacteriana entre os dois habitats. O solo agrícola exibiu maior abundância relativa de genes que codificam os sistemas de secreção e as funções de quimiotaxia bacteriana em comparação com amostras de solo não agrícola. Para nutrição vegetal, os genes do metabolismo do nitrogênio foram significativamente maiores no solo agrícola, enquanto a sinalização do

cálcio foi significativamente maior no solo não agrícola. Para funções associadas à adaptação das plantas à seca, a biossíntese de lipopolissacarídeos foi significativamente maior em amostras agrícolas em comparação com amostras não agrícolas. Para a supressão da doença, o metabolismo do enxofre e a biossíntese de sideróforos foram significativamente maiores em amostras agrícolas, enquanto a estreptomicina as funções de síntese (embora com uma baixa proporção média percentual) foram significativamente maiores em solos não agrícolas.

De acordo com Brasil (2012) a Área de Preservação Permanente é coberta ou não por vegetação nativa, com a função ambiental de preservar os recursos hídricos, a paisagem, a estabilidade geológica, a biodiversidade, o fluxo gênico de fauna e flora, proteger o solo e assegurar o bem-estar das populações humanas.

Em relação à preservação dos recursos hídricos ocorre através da proteção da sua cobertura vegetal, as matas ciliares.

Outra função é a de preservar a paisagem, garantindo harmonia e equilíbrio, permitindo a formação de corredores de vegetação entre remanescentes de vegetação nativa. A estabilidade geológica trata-se da preservação de encostas com declividades acentuadas e topos de morro.

A função ambiental de preservar a biodiversidade tem importância fundamental para a sobrevivência e reprodução da fauna e flora, pois a biodiversidade forma a base dos serviços ecossistêmicos, essenciais à sobrevivência e ao bem-estar da humanidade.

A manutenção da biodiversidade proporciona benefícios locais diretos, como o estoque de material genético de plantas e animais necessários para a adaptação ao manejo florestal e aos sistemas agrícolas.

Outra contribuição das APPs, principalmente para a agricultura, é a manutenção de espécies responsáveis pela polinização.

A função ambiental de preservar o fluxo gênico de fauna e flora nas margens dos cursos d'água, formando corredores ecológicos. Quando o fluxo gênico é interrompido ou diminuído drasticamente as populações naturais ficam isoladas sofrendo uma diminuição da sua variabilidade genética, tornando-as menos adaptáveis às mudanças do ambiente, podendo levar espécies à extinção.

Além disso, a erosão causada pela falta de preservação das APPs elimina as camadas mais superficiais do solo, conhecidas como as que contêm uma maior concentração de nutrientes e microrganismos, essenciais para a sobrevivência da microbiota dessas áreas (MMA/IBAMA, 2005).

Os resultados obtidos confirmaram em parte a hipótese, pois cada uso da terra quando comparadas com suas APPs adjacentes, impactaram o solo de maneiras diferentes, e assim obtiveram-se alterações significativas na composição química do solo, na composição da microbiota local e em algumas funções metabólicas das bactérias.

7. CONCLUSÃO

A conversão e o manejo do solo das áreas de Café, Milho, Eucalipto e Pastagem levaram às alterações na composição das condições químicas do solo da ZA do PNSC, o que pode ser devido às práticas agrícolas desenvolvidas nas áreas, como a correção e adubação do solo. Porém pode-se observar que é realizado um manejo racional de correção e adubação dos solos de cultivos e o que precisa ser melhorado nas áreas cultiváveis da ZA é a adoção de um manejo conservacionista do solo.

A comparação do manejo do solo dos quatro tipos de monoculturas com suas APPs de referência levou às alterações na composição de espécies das áreas de milho, café e pastagens, na diversidade taxonômica das áreas de milho e de poucas funções metabólicas das comunidades bacterianas do solo da ZA do PNSC.

As áreas cultivadas com milho apresentaram diferenças significativas para os índices de Diversidade de Shannon e Diversidade filogenética, ou seja, esses índices de α -diversidade foram maiores nas áreas cultivadas com milho do que nas APPs adjacentes, o que pode ser devido a essas áreas estarem desenvolvendo uma agricultura mais conservacionista, através do sistema de plantio direto e práticas como a rotação de culturas e cobertura do solo.

As áreas implantadas com eucalipto apresentaram composição de espécies (β -diversidade) similares às áreas de APPs. Os resultados encontrados explicam que os cultivos de eucalipto retêm alguns nutrientes comuns das áreas de APPs, após ela ser convertida. Assim, essa conversão não significa necessariamente que a composição da comunidade bacteriana será reduzida ou perdida. Outra possível explicação pode estar relacionada ao fato de que o manejo do solo nas plantações de eucalipto é esparsa, de baixa intensidade quando comparada a outras culturas, cujas calagens não são tradicionalmente feitas, as adubações são realizadas antes do plantio e o uso de agroquímicos no solo é geralmente baixo ou nulo.

E por fim não foram observadas grandes alterações nas funções metabólicas nos diferentes usos do solo, o que pode ser devido às diferentes espécies compartilharem as mesmas funções metabólicas, o que é chamado de redundância funcional.

Contudo, a hipótese testada no estudo foi confirmada parcialmente, pois diferentes usos do solo impactam o solo de diversas maneiras, alterando a composição química do solo e a composição da microbiota do local (comparando áreas de milho, café e pastagens com suas APPs adjacentes). Entretanto, apenas as áreas implantadas com eucalipto apresentaram espécies similares às áreas de florestas. A diversidade das espécies não foi alterada de forma significativa, exceto para as áreas de milho comparadas com suas APPs, ou seja, a diversidade

foi similar nas comparações feitas, e as mudanças funcionais não foram gerais, mas apenas algumas funções metabólicas específicas das bactérias foram alteradas.

Concluiu-se que a composição química, a composição taxonômica e a função da comunidade do solo são sensíveis à perturbações, como a aplicação de corretivos e fertilizantes minerais no solo, sendo assim é necessário adotar práticas agrícolas sustentáveis para manter a qualidade do solo, através do plantio direto, rotação de culturas, uso adequado de fertilizantes, cobertura vegetal, adubação orgânica e acúmulo de matéria orgânica no solo.

Portanto os resultados sugerem que preservar a microbiota do solo pode ser tão importante quanto preservar a diversidade de espécies vegetais, para garantir a sustentabilidade dos ecossistemas.

Para desenvolver um estudo mais completo seria importante realizar a análise física do solo, pois o tipo, textura e granulometria de solo pode ser mais propenso a ter um certo tipo de microrganismo do que outros, então a falta dessa análise limitou o estudo e essa é uma sugestão para trabalhos futuros.

REFERÊNCIAS

ADHIKARI, K.; HARTEMINK, A. E. **Linking soils to ecosystem services — A global review.** *Geoderma* 262, 2016, 101–111.

AMOO, A. E.; BABALOLA, O. O. **Impact of Land Use on Bacterial Diversity and Community Structure in Temperate Pine and Indigenous Forest Soils.** *Diversity* 2019, 11, 217.

ANDREOLA, F.; FERNANDES, S. A. P. **A Microbiota do Solo na Agricultura Orgânica e no Manejo das Culturas.** In: SILVEIRA, A. P. D. da; FREITAS, S. dos S. *Microbiota do solo e qualidade ambiental.* Campinas: Instituto Agronômico, 2007. 312 p.

ANDREOTE, F. D.; CARDOSO, E. J. B. N. **Introdução a Biologia do solo.** In: CARDOSO, E. J. B. N.; ANDREOTE, F. D. **Microbiologia do solo.** 2 ed. Piracicaba: ESALQ, 2016, 221 p.

ANSERSON, M. J. **Permutational multivariate analysis of variance (PERMANOVA).** **Wiley statsref: statistics reference online**, p. 1-15, 2014.

BABIN, D.; DEUBEL, A.; JACQUIOD, S.; SORENSEN, S. J.; GEISTLINGER, J.; GROSCH, R.; SMALLA, K. **Impact of long-term agricultural management practices on soil prokaryotic communities.** *Soil Biology and Biochemistry* 129, 2019, 17–28.

BARRETO, A. C.; LIMA, F. H. S.; FREIRE, M. B. G. dos S. ARAÚJO, Q. R. de.; FREIRE, F. J. **Características químicas e físicas de um solo sob floresta, sistema agroflorestal e pastagem no sul da Bahia.** *UFERSA. Revista Caatinga* , v. 19, n.4, p.415-425, 2006.

BENDER, S. F.; WAG, C.; VAN DER HEIJIDAN, M. G. A. **An Underground Revolution: Biodiversity and Soil Ecological Engineering for Agricultural Sustainability.** *Trends in Ecology & Evolution*, June 2016, Vol. 31, No. 6.

BOLYEN, E. et al. **QIIME 2: Reproducible, interactive, scalable, and extensible microbiome data science.** *PeerJ Preprints*, 2018.

BRASIL. **Lei 12651 de 25 de maio de 2012.**

CAVALCANTE, E. G. S.; ALVES, M. C.; SOUZA, Z. M. de.; PEREIRA, G. T. **Variabilidade espacial de atributos químicos do solo sob diferentes usos e manejos.** Revista Brasileira de Ciência do Solo, 31:1329-1339, 2007.

CENTURION, J. F.; CARDOSO, J. P.; NATALE, W. **Efeito de formas de manejo em algumas propriedades físicas e químicas de um Latossolo Vermelho em diferentes agroecossistemas Latossolo Vermelho em diferentes agroecossistemas.** Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental, v.5, n.2, p.254-258, 2001 Campina Grande, PB, DEAg/UFPB.

COLOMBO, F.; MACDONALD, C. A.; JEFFRIES, T. C.; POWELL, J. R.; SINGH, B. K. **Impact of forest management practices on soil bacterial diversity and consequences for soil processes.** Soil Biology & Biochemistry 94, 2016, 200-210.

CRUZ, D. D. da. **Ecologia.** João Pessoa: Editora da UFPB, 2015. 252p.: il.

DAI, Z.; SU, W.; CHEN, H.; BARBERÁN, A.; ZHAO, H.; YU, M., et al. **Long-term nitrogen fertilization decreases bacterial diversity and favors the growth of Actinobacteria and Proteobacteria in agro-ecosystems across the globe.** Glob. 2018. Change Biol. 24, 3452-3461.

DEGRUNE, F.; THEODORAKOPOULOS, N.; COLINET, G.; HIELI, M. P.; BODSON, B.; TAMINIAU, B.; DAUBE, G.; VANDENBOL1, M.; HARTMANN, M. **Temporal Dynamics of Soil Microbial Communities below the Seedbed under Two Contrasting Tillage Regimes.** Frontiers in Microbiology 1127, 2017.

DELCENSERIE, V. et al. Microbiota characterization of a Belgian protected designation of origin cheese, Herve cheese, using metagenomic analysis. **Journal of dairy science**, v. 97, n. 10, p. 6046–56, out. 2014.

DELGADO-BAQUERIZO, M.; OLIVERIO, A.M.; BREWER, T.E., BENAVENT-GONZÁLEZ, A.; ELDRIDGE, D.J.; BARDGETT, R.D., et al. **A global atlas of the dominant bacteria found in soil.** *Science* 2018, 359, 320-325.

DUBE, J. P.; VALVERDE, A.; STEYN, J. M.; COWAN, D. A.; VAN DER WAALS, J. E. **.Differences in Bacterial Diversity, Composition and Function due to Long-Term Agriculture in Soils in the Eastern Free State of South Africa.** *Diversity*, 2019, 11, 61.

ELDOR, A. P. **Soil microbiology, ecology, and biochemistry.** 2015, 1-582.

ELSAS, J. D. V.; TREVORS, J. T.; ROSADO, A. S.; NANNIPIERI, P. **Modern soil microbiology.** Taylor & Francis, 2019.

EMBRAPA FLORESTAS. **Cultivo do eucalipto.** Sistemas de produção, 2003.

FIERER, N.; LAUBER, C. L.; RAMIREZ, K. S.; ZANEVELD, J.; BRADFORD, M. A. KNIGHT, R. **Comparative metagenomic, phylogenetic and physiological analyses of soil microbial communities across nitrogen gradients.** *The ISME Journal* (2012) 6, 1007–1017.

FOLEY, J. A.; DEFRIES, R.; ASNER, G. P.; BARFORD, C.; BONAN, G.; CARPENTER, S. R.; CHAPIN, F. S.; COE, M. T.; DAILY, G. C.; GIBBS, H. K.; HELKOWSKI, J. K.; HOLLOWAY, T.; HOWARD, E. A.; KUCHARIK, C. J.; MONFREDA, C.; PATZ, J. A.; PRENTICE, C.; RAMANKUTTY, N.; SNYDER, P. K. **Global Consequences of Land Use.** *Science*, 305, 2009.

FRANCIOLI, D.; SCHULZ, E.; LENTENDU, G.; WUBET, T.; BUSCOT, F.; REITZ, T. **Mineral vs. Organic Amendments: Microbial Community Structure, Activity and Abundance of Agriculturally Relevant Microbes Are Driven by Long-Term Fertilization Strategies.** *Frontiers in Microbiology* 1446, 2016.

FRAZÃO, L. A.; PICCOLO, M. de C.; FEIJL, B. J.; CERRI, C. C.; CERRI, C. E. P. **Propriedades químicas de um Neossolo Quartzarênico sob diferentes sistemas de manejo no Cerrado mato-grossense.** *Pesquisa Agropecuária brasileira*. Brasília, v.43, n.5, p.641-648, maio 2008.

FURTINI NETO, A. E.; VALE, F. R. do.; RESENDE, A. V. de.; GUILHERME, L. R. G.; GUEDES, G. A. de A. **Fertilidade do solo**. Lavras: UFLA/FAEPE, 2001. 261p.

GILBERT, J. A.; JANSSON, J. K.; KNIGHT, R. **The Earth Microbiome project: successes and aspirations**. BMC Biol. 2014, 12, 69.

INSTITUTO FEDERAL DE MINAS GERAIS. Rede de Bibliotecas. **Manual de normalização de trabalhos acadêmicos**. Belo Horizonte: IFMG, 2020. Disponível em: <https://www2.ifmg.edu.br/portal/ensino/bibliotecas/manual-de-normalizacao-do-ifmg>. Acesso em: 15 jul. 2020.

JANSSEN, P. H. **Identifying the Dominant Soil Bacterial Taxa in Libraries of 16S rRNA and 16S rRNA Genes**. Applied and Environmental Microbiology, 2006, 1719–1728.

JESUS, E. C.; MARSH, T. L.; TIEDJE, J. M.; MOREIRA, F. M. S. **Changes in land use alter the structure of bacterial communities in Western Amazon soils**. 2009, ISME J. 3, 1004-1011.

LEE-CRUZ, L.; EDWARDS, D.P.; TRIPATHI, B.M.; ADAMS, J.M. **Impact of logging and forest conversion to oil palm plantations on soil bacterial communities in Borneo**. Appl. Environ. Microbiol. 2013, 79, 7290-7297.

LEPSCH, I. F. **Formação e conservação dos solos**. 2. ed. São Paulo: Oficina de Textos, 2010. 216 p.

LOPES, A. S. **Soils under Cerrado: a success story in soil management**. Better Crops International. 1996. 10, 10.

LOZUPONE, C.; KNIGHT, R. UniFrac: a New Phylogenetic Method for Comparing Microbial Communities. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 71, n. 12, p. 8228–8235, 3 dez. 2005.

MAGURRAN, A. E.; MCGILL, B. J. **Biological diversity: Frontiers in measurement and assessment.** Oxford University Press, Oxford.

MATIELO, J. B.; SANTINATO, R.; ALMEIDA, S. R. de; GARCIA, A. W. R. **Cultura de café no Brasil: Manual de Recomendações.** Ed. 2015. 1. Ed. São Paulo: Futurama Editora, 2016.

MBUTHIA, L.W.; MARTÍNEZ, V. A.; DEBRUYN, J.; SCHAEFFER, S.; TYLER, D.; ODOI, E.; MPHESHEA, M.; WALKER, F.; EASH, N. **Long term tillage, cover crop, and fertilization effects on microbial community structure, activity: Implications for soil quality.** *Soil Biology & Biochemistry* 89, 2015, 24-34.

MEA - Millennium Ecosystem Assessment. **Ecosystems and human well-being: synthesis.** Washington: Island Press, 2005. 155p.

Ministério do Meio Ambiente. Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais IBAMA. **Plano de Manejo do Parque Nacional da Serra da Canastra.** 2005.

MENDES, L. W.; BROSSI, M. J. L.; KURAMAE, E. E.; TSAI, S. M. **Land-use system shapes soil bacterial communities in Southeastern Amazon region.** *Applied Soil Ecology* 95, 2015, 151–160.

MOREIRA, F. M. S. **Microbiologia e Bioquímica do Solo.** Lavras: Editora UFLA, 2006. 729 p.

NAVARRETE, A. A.; BARRETO, C. C.; ARNALDO, M.; TSAI, S. M. **Molecular detection on culture médium of Acidobacteria from Amazon soils.** *Microbiology Discovery*, 2013.

PEREIRA, A. P. A.; ADEMIR DURRER, A.; GUMIERE, T.; GONÇALVES, J. L. M.; ROBIN, R.; BOUILLET, J. P.; WANG, J.; VERMA, J. P.; SINGH, B. K.; CARDOSO, E. J. B. N. **Mixed Eucalyptus plantations induce changes in microbial communities and increase biological functions in the soil and litter layers.** *Forest Ecology and Management* 433, 2019, 332–342.

QUAST, C.; PRUESSE, E.; YILMAZ, P.; GERKEN, J.; SCHWEER, T.; YARZA, P.; PEPLIES, J.; GLOCKNER, F.O. **The SILVA ribosomal RNA gene database project: improved data processing and web-based tools.** *Nucleic Acids Res.* 2013, 41, D590–D596.

RIBEIRO, A.C.; GUIMARÃES, P.T.G. & ALVAREZ V., V.H. **Recomendação para o uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais.** Viçosa, MG, CFSEMG/UFV, 1999. 359p

SOUZA, D. G.; MENDES, L. W.; BORGES, C. D.; BARETTA, D.; TSAI, S. M.; RODRIGUES, J. L. M. **Soil microbial community dynamics and assembly under long-term land use change.** *FEMS Microbiology Ecology*, 93, 2017.

STACKEBRANDT, E.; GOEBEL, B. M. Taxonomic note: a place for DNA-DNA reassociation and 16S rRNA sequence analysis in the present species definition in bacteriology. **International journal of systematic and evolutionary microbiology**, v. 44, n. 4, p. 846-849, 1994.

TEIXEIRA, P. C.; DONAGEMMA, G. K.; FONTANA, A.; WENCESLAU, G. T. **Manual de métodos de análise de solo.** 3. ed. rev. e ampl. – Brasília, DF : Embrapa, 2017. 574 p.

THEODORO, V. C. A.; ALVARENGA, M. I. N.; GUIMARÃES, R. J.; SOUZA, C. A. S. **Alterações químicas em solo submetido a diferentes formas de manejo do cafeeiro.** *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 27:1039-1047, 2003.

VAN DER BOM, F.; NUNES, I.; RAYMOND, N. S.; HANSEN, V.; BONNICHSEN, L.; MAGID, J.; NYBROE, O.; JENSEN, L. S. **Long-term fertilisation form, level and duration affect the diversity, structure and functioning of soil microbial communities in the field.** *Soil Biology and Biochemistry* 122, 2018, 91–103.

VEZZANI, F. M. **Solos e os serviços ecossistêmicos.** 2015.

WILCKE, W.; LILIENFEIN, J. **Nutrient leaching in Oxisols under native and managed vegetation in Brazil.** *Soil Sci. Soc. Am.* 2005, J. 69, 1152-1161.

ZALAMENA, J. **Impacto do uso da terra nos atributos químicos e físicos de solos do rebordo do Planalto - RS.** Dissertação Mestrado, Universidade Federal de Santa Maria. Santa Maria, RS, 2008.

Zhou, Z.; Wang, C.; Zheng, M.; Jiang, L.; Luo, Y. **Patterns and mechanisms of responses by soil microbial communities to nitrogen addition.** *Soil Biology & Biochemistry* 115, 2017, 433-441.

ZINN, Y.L.; LAL, R. **Principles of Soil Management in Neotropical Savannas The Brazilian Cerrado.** In *Principles of Sustainable Soil Management in Agroecosystems*. R. Lal and B. A. Stewart. CRC Press, Boca Raton. USA, 2013.

ZINN, Y.L.; LAL, R.; RESCK, D.V. **Eucalypt plantation effects on organic carbon and aggregation of three different-textured soils in Brazil.** *Soil Res.* 2011, 49, 614-624.

ANEXO - Artigo Científico

Revista: Applied Soil Ecology.

Título: Land conversion of the Brazilian Cerrado areas into different small-scale agroecosystems impact both taxonomic and functional soil bacterial communities.

Autor Correspondente: Dr. Gustavo Augusto Lacorte.

Co-Autores: Nátila Carvalho Pereira, Bacharel em Agronomia e Engenharia Ambiental; Ricardo Sousa Cavalcanti, Ph.D.; Ricardo Alexandre da Silva, Ph.D.

APÊNDICE - Cartilha Informativa