

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO

CYBELLE SOUZA DE OLIVEIRA

**INDICADORES MICROBIOLÓGICOS EM SISTEMA SILVIPASTORIL
COM LEGUMINOSAS EM AMBIENTE TROPICAL SUBÚMIDO**

**Recife
2021**

Cybele Souza de Oliveira
Bióloga

Indicadores microbiológicos em sistema silvipastoril com leguminosas em ambiente tropical subúmido

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciência do Solo, da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutora em Ciência do Solo.

Orientador: Prof. Dr. Mario de Andrade Lira Junior

Coorientadora: Profa. Dra. Giselle Gomes Monteiro Fracetto

Coorientadora: Profa. Dra. Erika Valente de Medeiros

Recife

2021

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal Rural de Pernambuco
Sistema Integrado de Bibliotecas
Gerada automaticamente, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

- O48i Oliveira, Cybelle Souza
INDICADORES MICROBIOLÓGICOS EM SISTEMA SILVIPASTORIL COM LEGUMINOSAS EM AMBIENTE TROPICAL SUBÚMIDO / Cybelle Souza Oliveira. - 2021.
98 f. : il.
- Orientador: Mario de Andrade Lira Junior.
Coorientador: Giselle Gomes Monteiro Fracetto.
Inclui referências.
- Tese (Doutorado) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo, Recife, 2021.
1. Consórcio gramínea-leguminosas. 2. Atividade enzimática. 3. Ciclagem de nutrientes. 4. Fixação microbiana de CO₂. 5. Qualidade do solo. I. Junior, Mario de Andrade Lira, orient. II. Fracetto, Giselle Gomes Monteiro, coorient. III. Título

CDD 631.4

CYBELLE SOUZA DE OLIVEIRA

Indicadores microbiológicos em sistema silvipastoril com leguminosas em ambiente tropical subúmido

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciência do Solo da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Doutora em Ciência do Solo.

Aprovada em 29 de janeiro de 2021

Prof. Dr. Mario de Andrade Lira Junior
Orientador
Universidade Federal Rural de Pernambuco

BANCA EXAMINADORA

Dra. Ana Dolores Santiago de Freitas
Universidade Federal Rural de Pernambuco

Prof. Dr. Arthur Prudêncio de Araújo Pereira
Universidade Federal do Ceará

Profa. Dra. Giselle Gomes Monteiro Fracetto
Universidade Federal Rural de Pernambuco

Prof. Dra. Valéria Xavier de Oliveira Apolinário
Universidade Estadual do Maranhão

*“O período de maior ganho em conhecimento e experiência
é o período mais difícil da vida de alguém”*

(Dalai Lama)

Ao meu filho *Vicente*.
Você que é meu coração fora do
peito, minha luz e força diária.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

A Deus por todas as bênçãos na minha vida, por Ser a luz que ilumina e guia meus caminhos principalmente nos momentos mais difíceis e por me manter firme na busca dos meus sonhos.

Ao meu filho amado Vicente, por entender que mamãe nem sempre estava disponível e vinha ao meu encontro apenas para me dar um beijo ou abraço. A você que é minha força, meu estímulo, meu amor mais puro e sincero e por ter me transformado em uma pessoa melhor. Sem você nada mais faz sentido. Obrigada por ter me escolhido como MÃE!!!

Ao meu esposo, companheiro e amigo Jean, por todo apoio físico e principalmente emocional durante todo esse período. Você é meu maior exemplo de crescimento profissional sem ter que pisar em ninguém, o verdadeiro significado da palavra Mérito.

Aos meus pais Erivaldo e Rejane, por TUDO! Não tenho palavras para expressar minha eterna gratidão a vocês dois. Mesmo assim, resumidamente, obrigada por toda dedicação na minha educação, por me oferecer mais do que podiam, por toda dificuldade enfrentada de peito aberto que nos fortaleceu e unificou ainda mais, por dar sem querer nada em troca, por este amor incondicional.

A minha irmã e eterna amiga Bruna, por todo amor, amizade, cumplicidade, carinho e cuidado. É muito bom ter alguém como você ao lado, aquela que topa tudo, que incentiva, que acredita... Aquela que, sob o olhar e benção de Deus, confiei meu filho para cuidar na minha ausência. E que assim seja!

Ao meu sobrinho Bento e cunhado Thyago, que juntamente com minha irmã, formam uma família iluminada e que é a extensão da minha felicidade.

A minha avó Olívia, por toda simplicidade, amor, dedicação, zelo e espiritualidade. Que sua bondade seja transposta para todos nós e seja um exemplo a ser seguido.

Aos amigos Antonio Azevedo, Lucas Sartor e Rodrigo Macedo, amizade que Jean e eu construímos na ESALQ e levaremos para toda vida. Vocês foram nossa família em Piracicaba

e me mostraram que ciência se faz em todo lugar. Obrigada por acreditarem em mim mesmo quando “o mundo” conspirava contra, obrigada por estarem ao nosso lado nos momentos bons e principalmente nos ruins, obrigada por não me deixarem desistir da ciência. Só nós sabemos o quanto doce e amarga a pós-graduação pode ser.

A Universidade Federal Rural de Pernambuco e ao Programa de Pós-Graduação em Ciências do Solo, por toda minha formação acadêmica.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de estudo, auxílio-maternidade e prorrogação extra durante o período da pandemia. E a Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco (FACEPE) e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo apoio financeiro da pesquisa.

Ao meu orientador Mario de Andrade Lira Junior, por todo apoio, orientação, amizade e disponibilidade em todos os momentos, mesmo naqueles momentos em que deveria estar cuidando exclusivamente de si.

As minhas co-orientadoras Giselle Fracetto e Erika Medeiros, por toda ajuda, orientação, disponibilidade e contribuição inestimável. Em especial a prof^a Erika que foi maravilhosa, sempre esteve prontamente disponível e, mesmo sem me conhecer pessoalmente, passava tanto afeto e carinho em cada mensagem trocada. Gratidão por tamanha sensibilidade demonstrada, principalmente no momento mais delicado que todos nós vivemos durante o ano de 2020.

A todos professores da PPGCS, pelo conhecimento que me proporcionaram, especialmente aos mestres Ana Dolores, Brivaldo Almeida, Caroline Biondi, Clístenes Nascimento, Edivan Souza, Jean Santos, Maria Betânia Freire e Mario Lira Junior.

Aos professores Brivaldo Almeida, Caroline Biondi e Maria Betânia Freire, pela avaliação no meu exame de qualificação e valiosas contribuições e ensinamentos que levarei por toda minha vida.

A todos funcionários da PPGCS, em especial a Socorro (Socorrinho, Help...) nossa mãe, amiga, conselheira. Obrigada por deixar as coisas mais leves para nós, principalmente a burocrática (risos).

Aos amigos do grupo de pesquisa Adeneide Galdino, Alane Pereira, Jacilene Santana, Johny Mendonça, Mariana Silva e Michelle Justino por ter deixado meus dias mais leves e pelos inesquecíveis momentos vividos. Saudade de vocês.

A todos os colegas da pós e dos laboratórios pelos momentos compartilhados e experiências enriquecedoras, em especial Adriana Bezerra, Danilo Rodrigues, Lucía Nunez, Nara Nubia, Stella e meus estagiários Felipe Rodrigues e Danilo José.

Enfim, a todos aqueles que de alguma forma participaram da minha vida neste período e contribuíram para que eu conseguisse vencer este desafio.

Ao encerrar meus agradecimentos, gostaria de me desculpar pelos momentos que não pude compartilhar com aqueles que tanto amo, devido minha dedicação a este trabalho, e reforçar que mesmo quando fiquei distante, jamais deixei de amá-los.

Meu muito Obrigada!!!

Indicadores microbiológicos em sistema silvipastoril com leguminosas em ambiente tropical subúmido

RESUMO

A pecuária no Brasil é baseada principalmente no uso extensivo dos pastos e frequentemente leva a degradação destes. Os sistemas silvipastoris são uma alternativa de manejo sustentável, utilizados para diminuir os impactos ambientais relacionados com a introdução da pecuária, ao mesmo tempo aumentando sua produtividade. A presença de árvores neste sistema, além de promover heterogeneidade na qualidade e oferta de forragem, melhora a qualidade microbiológica do solo e a ciclagem de nutrientes. Diante disto, o objetivo deste trabalho foi compreender como a introdução de leguminosas arbóreas em sistemas de pastagens influencia indicadores de qualidade microbiológica do solo em ambiente trópico sub-úmido. Os dados foram coletados em um experimento com três tratamentos: i) braquiária (*Brachiaria decumbens* Stapf.) em monocultivo, ii) braquiária consorciada com gliricídia (*Gliricidia sepium* Jacq. Steud) e iii) braquiária consorciada com sabiá (*Mimosa caesalpinifolia* Benth). Foram coletadas amostras de solo nas estações seca e chuvosa, na camada 0-20 cm de profundidade aos 0, 4 e 8,0 m de distância da faixa das leguminosas, e amostra aleatória na braquiária em monocultivo. Foram determinados os teores de fósforo da biomassa microbiana, a concentração de glomalina facilmente extraível e total, a atividade enzimática das fosfatases ácida e alcalina, urease e da arilsulfatase, além da quantificação por PCR em tempo real dos genes para fixação microbiana de carbono atmosférico, fungos totais e micorrízicos, e relacionado à mineralização de fósforo. A estação chuvosa promoveu uma maior atividade microbiana nos sistemas silvipastoris, aumentando os teores de fósforo da biomassa microbiana, a atividade das fosfatases ácida e alcalina e da arilsulfatase, enquanto que a atividade da urease foi maior na braquiária solteira nas duas estações. Também foram encontradas maiores abundâncias do número de cópias dos genes de fixadores de CO₂, fungos totais e micorrízicos e mineralizadores de fósforo no período chuvoso no sistema silvipastoril, exceto nas linhas de ambas leguminosas. Não foi encontrado nenhum efeito do sistema silvipastoril para as concentrações de glomalinas. O sistema silvipastoril com leguminosas melhorou a qualidade biológica do solo, além de potencial como dreno de CO₂ atmosférico por meio da fixação microbiana de carbono. A gliricídia estabeleceu melhores condições para a manutenção da braquiária consorciada. A chuva afetou a atividade enzimática e abundância de comunidades microbianas, sendo um importante parâmetro para a avaliação da qualidade do sistema silvipastoril.

Palavras-chave: Consórcio gramínea-leguminosas. Atividade enzimática. Ciclagem de nutrientes. Fixação microbiana de CO₂. Qualidade do solo.

Microbiological indicators in silvopastoral system with legumes in sub-humid tropical environment

ABSTRACT

Cattle raising in Brazil is mostly based on extensive pasture usage, and frequently lead to their degradation. Silvopastoral systems are a sustainable management alternative, used to reduce environmental impacts related to cattle raising introduction, while at the same time increasing its productivity. Tree presence in this system, besides promoting heterogeneity in forage quality and offer, increases soil microbiological quality and nutrient cycling. Due to this, this work aims to understand how the introduction of legume trees in pasture systems affects soil microbiological quality indicators in a sub-humid tropical environment. Data was collected from an experiment with three treatments: i) pure signal grass (*Brachiaria decumbens* Stapf.), ii) signal grass with gliricidia (*Gliricidia sepium* Jacq. Steud) and iii) signal grass with sabiá (*Mimosa caesalpinifolia* Benth). Soil samples were collected at the dry and rainy seasons, at the 0-20 cm depth layer at 0, 4 and 8 m from the legume rows, and as a random sample in the single signal grass and used to determine microbial biomass P content, easily extractable and total glomalina contents, enzymatic activity of acid and alkaline phosphatases, urease and arylsulfatase, as well as real time PCR quantification of genes for microbial atmospheric carbon fixation, total and mycorrhizal fungi, and linked to phosphorus mineralization. The rainy season presented higher microbial activity in the silvopastoral systems, increasing microbial biomass P content, acid and alkaline phosphatases and arylsulfatase activities, while urease activity was higher for single signal grass in both seasons. Higher copy number abundance was also found for CO₂ fixers, total and mycorrhizal fungi and phosphorus mineralizers in the rainy season for the silvopastoral system, except at both legume rows. No effect of the silvopastoral system was found for glomalin concentrations. Legume silvopastoral systems increased soil biological quality, and potential atmospheric CO₂ drain through carbon microbial fixation. Gliricidia established the best conditions for maintaining signal grass. Rain affected enzymatic activity and microbial community abundance, being an important parameter for the evaluation of silvopastoral system quality.

Keywords: Legume-grass consortium. Enzymatic activity. Nutrient cycling. CO₂ microbial fixation. Soil quality.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Localização da área de estudo e imagem da parcela experimental do sistema pastagem com leguminosas 41
- Figura 2.** Representação da parcela experimental e pontos de coleta de solo em sistema silvipastoril na Zona da Mata de Pernambuco 42
- Figura 3.** Teores de P da biomassa microbiana do solo (mg kg^{-1}) do sistema silvipastoril estabelecido com braquiária (B), consórcios de braquiária com gliricídia (G) e sabiá (S), sob variação sazonal. 0, 4 e 8m representa a distância das linhas de leguminosas. Colunas com letras escuras diferentes diferem entre si na comparação das combinações entre tratamento e época do ano ao nível de 10% pelo teste de Tukey. Colunas com letras brancas minúsculas e maiúsculas idênticas não diferem entre si na comparação entre tratamentos para as estações seca e chuvosa, respectivamente, ao nível de 10% pelo teste de Tukey 49
- Figura 4. Correlação linear de Pearson entre carbono orgânico do solo (COS), fósforo da biomassa microbiana (P-mic), glomalina facilmente extraível (GFE), glomalina total (GT) e carbono da glomalina (C-glomalina) do solo do SSP. Círculos dentro de caixas indicam efeito significativo ($p < 0,05$) 53
- Figura 5.** Atividade enzimática absoluta (a) e específica (b) por unidade de COS ($\mu\text{g g}^{-1} \text{COS}$) da fosfatase ácida no solo do sistema silvipastoril estabelecido com braquiária (B), consórcios de braquiária com gliricídia (G) e sabiá (S), sob variação sazonal. 0, 4 e 8m representa a distância das linhas de leguminosas. Colunas com letras escuras diferentes diferem entre si na comparação das combinações entre tratamento e época do ano ao nível de 10% pelo teste de Tukey. Colunas com letras brancas minúsculas e maiúsculas idênticas não diferem entre si na comparação entre tratamentos para as estações seca e chuvosa, respectivamente, ao nível de 10% pelo teste de Tukey..... 55
- Figura 6.** Correlação linear de Pearson entre as atividades enzimáticas absoluta e específica da fosfatase ácida (FAC e FAC/COS) e atributos do solo do SSP. Círculos dentre de caixas indicam efeito significativo ($p < 0,05$). COS = carbono orgânico do solo e P-mic = fósforo da biomassa microbiana no solo 56
- Figura 7.** Atividade enzimática absoluta (a) e específica (b) por unidade de COS ($\mu\text{g g}^{-1} \text{COS}$) da fosfatase alcalina no solo do sistema silvipastoril estabelecido com braquiária (B), consórcios de braquiária com gliricídia (G) e sabiá (S), sob variação sazonal. 0, 4 e 8m

representa a distância das linhas de leguminosas. Colunas com letras escuras idênticas não diferem entre si na comparação das combinações entre tratamento e época do ano ao nível de 10% pelo teste de Tukey. Colunas com letras brancas minúsculas e maiúsculas idênticas não diferem entre si na comparação entre tratamentos para as estações seca e chuvosa, respectivamente, ao nível de 10% pelo teste de Tukey 58

Figura 8. Correlação linear de Pearson entre as atividades enzimáticas absoluta e específica da fosfatase alcalina (FAL e FAL espec.) e atributos do solo do SSP. Círculos dentro de caixas indicam efeito significativo ($p < 0,05$). COS = carbono orgânico do solo e P-mic = fósforo da biomassa microbiana no solo..... 59

Figura 9. Atividade enzimática absoluta (a) e específica (b) por unidade de COS ($\mu\text{g g}^{-1}$ COS) da urease no solo do sistema silvipastoril estabelecido com braquiária (B), consórcios de braquiária com gliricídia (G) e sabiá (S), sob variação sazonal. 0, 4 e 8m representa a distância das linhas de leguminosas. Colunas com letras escuras diferentes diferem entre si na comparação das combinações entre tratamento e época do ano ao nível de 10% pelo teste de Tukey. Colunas com letras brancas minúsculas e maiúsculas diferentes diferem entre si na comparação entre tratamentos para as estações seca e chuvosa, respectivamente, ao nível de 10% pelo teste de Tukey..... 60

Figura 10. Correlação linear de Pearson entre as atividades enzimáticas absoluta e específica da urease e atributos do solo do SSP. Círculos dentro de caixas indicam efeito significativo ($p < 0,05$). COS = carbono orgânico do solo e P-mic = fósforo da biomassa microbiana no solo 62

Figura 11. Atividade enzimática absoluta (a) e específica (b) por unidade de COS ($\mu\text{g g}^{-1}$ COS) da arilsulfatase no solo do sistema silvipastoril estabelecido com braquiária (B), consórcios de braquiária com gliricídia (G) e sabiá (S), sob variação sazonal. 0, 4 e 8m representa a distância das linhas de leguminosas. Colunas com letras escuras diferentes diferem entre si na comparação das combinações entre tratamento e época do ano ao nível de 10% pelo teste de Tukey. Colunas com letras brancas minúsculas e maiúsculas idênticas não diferem entre si na comparação entre tratamentos para as estações seca e chuvosa, respectivamente, ao nível de 10% pelo teste de Tukey..... 63

Figura 12. Correlação linear de Pearson entre as atividades enzimáticas absoluta e específica da arilsulfatase e atributos do solo do SSP. Círculos dentro de caixas indicam efeito significativo

($p < 0,05$). COS = carbono orgânico do solo e P-mic = fósforo da biomassa microbiana no solo 64

Figura 13. Abundância do gene *cbbl* (fixação de CO₂) em solos sob sistema silvipastoril estabelecido com braquiária (B), consórcios de braquiária com gliricídia (G) e sabiá (S), sob variação sazonal. 0, 4 e 8m representa a distância das linhas de leguminosas. Colunas com letras escuras diferentes diferem entre si na comparação das combinações entre tratamento e época do ano ao nível de 10% pelo teste de Tukey. Colunas com letras brancas minúsculas e maiúsculas diferentes diferem entre si na comparação entre tratamentos para as estações seca e chuvosa, respectivamente, ao nível de 10% pelo teste de Tukey 65

Figura 14. Abundância do gene 18S rRNA (fungo total) em solos sob sistema silvipastoril estabelecido com braquiária (B), consórcios de braquiária com gliricídia (G) e sabiá (S), sob variação sazonal. 0, 4 e 8m representa a distância das linhas de leguminosas. Colunas com letras escuras idênticas não diferem entre si na comparação das combinações entre tratamento e época do ano ao nível de 10% pelo teste de Tukey. Colunas com letras brancas minúsculas e maiúsculas idênticas não diferem entre si na comparação entre tratamentos para as estações seca e chuvosa, respectivamente, ao nível de 10% pelo teste de Tukey 67

Figura 15. Abundância do gene 18S rRNA (micorriza) em solos sob sistema silvipastoril estabelecido com braquiária (B), consórcios de braquiária com gliricídia (G) e sabiá (S), sob variação sazonal. 0, 4 e 8m representa a distância das linhas de leguminosas. Colunas com letras escuras diferentes diferem entre si na comparação das combinações entre tratamento e época do ano ao nível de 10% pelo teste de Tukey. Colunas com letras brancas minúsculas e maiúsculas diferentes diferem entre si na comparação entre tratamentos para as estações seca e chuvosa, respectivamente, ao nível de 10% pelo teste de Tukey 68

Figura 16. Abundância do gene *phoD* (mineralização de P) em solos sob sistema silvipastoril estabelecido com braquiária (B), consórcios de braquiária com gliricídia (G) e sabiá (S), sob variação sazonal. 0, 4 e 8m representa a distância das linhas de leguminosas. Colunas com letras escuras diferentes diferem entre si na comparação das combinações entre tratamento e época do ano ao nível de 10% pelo teste de Tukey. Colunas com letras brancas minúsculas e maiúsculas diferentes diferem entre si na comparação entre tratamentos para as estações seca e chuvosa, respectivamente, ao nível de 10% pelo teste de Tukey 70

Figura 17. Correlação linear de Pearson entre os atributos do solo, atividades enzimáticas e abundâncias dos genes 18S rRNA (fungo total e micorriza), *phoD* e *cbbl* no SSP. Círculos

dentre de caixas indicam efeito significativo ($p < 0,05$). COS = carbono orgânico do solo, P-mic = fósforo da biomassa microbiana, FAC = fosfatase ácida, FAL = fosfatase alcalina, URE = urease, ARIL = arilsulfatase..... 71

Figura 18. Análise de componentes principais dos atributos microbiológicos em resposta ao uso da terra no SSP. Tratamentos na estação seca estão simbolizados por ponto (●) e na estação chuvosa por losango (◊). B=braquiárias solteira; G=gliricídia consorciada com braquiária nas distâncias 0 m (G0), 4 m (G4) e 8 m (G8); S=sabiá consorciada com braquiária nas distâncias 0 m (S0), 4 m (S4) e 8 m (S8). 73

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Atributos químicos dos solos na camada 0-20 cm sob sistema silvipastoril na estação seca e chuvosa (BARROS, 2018).....	43
Tabela 2. <i>Primers</i> e condições de ciclagem utilizados para amplificar os genes alvo qPCR..	48
Tabela 3. Quantificação de glomalina facilmente extraível do solo, glomalina total e carbono da glomalina (mg g^{-1}) do sistema silvipastoril estabelecido com braquiária (B), consórcios de braquiária com glirícidia (G) e sabiá (S), sob variação sazonal	51

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	25
1.1 Hipóteses	26
1.2 Objetivos.....	27
1.2.1 Objetivo geral	27
1.2.2 Objetivos específicos.....	27
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	27
2.1 Pastagens no Brasil.....	27
2.2 Sistema silvipastoril com leguminosas.....	28
2.3 Dinâmica do fosforo no solo	30
2.4 Comunidade microbiana do solo	32
2.5 Atividade enzimática do solo	34
2.6 Efeitos da cobertura vegetal e sazonalidade climática na diversidade e tamanho de comunidade microbiana.....	37
2.7 qPCR no estudo das comunidades microbianas do solo	39
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	40
3.1 Área de estudo	40
3.2 Amostragem e caracterização do solo	41
3.3 Fósforo da biomassa microbiana	44
3.4 Quantificação de glomalina	45
3.5 Atividades enzimáticas do solo	45
3.5.1 Quantificação da fosfatase ácida e alcalina	46
3.5.2 Quantificação da urease.....	46
3.5.3 Quantificação da arilsulfatase.....	46
3.6 Extração de DNA do solo.....	47
3.7 Quantificação dos genes <i>cbbI</i> , 18S rRNA (fungos totais e micorrízicos) e <i>phoD</i> por PCR em tempo real (qPCR)	47
3.8 Análise estatística	48
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	49
4.1 Fósforo da biomassa microbiana	49
4.2 Quantificação de glomalina	50
4.3 Atividades enzimáticas absoluta e específica do solo	53
4.3.1 Fosfatases ácida e alcalina.....	53

4.3.2 Quantificação da urease.....	60
4.3.3 Quantificação da arilsulfatase.....	62
4.4 Quantificação dos genes <i>cbbI</i> , 18S rRNA (fungos totais e micorrízicos) e <i>phoD</i>	65
5 CONCLUSÕES	74
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	75

1 INTRODUÇÃO

A pecuária tem grande destaque na economia do Brasil, que é o maior produtor e exportador de carne bovina. As pastagens são as principais fontes de alimento para a pecuária, destacando-se as gramíneas do gênero *Brachiaria* como as espécies de maior utilização. A exploração extensiva das pastagens tem promovido um aumento crescente de áreas com algum nível de degradação, o que acarreta em diminuição de produtividade, aumento na emissão de gases de efeito estufa, degradação do solo e problemas ambientais e socioeconômicos. Neste aspecto, uma das formas de diminuir os impactos ambientais associados a pecuária é fortalecer o desenvolvimento de técnicas sustentáveis que favoreçam a intensificação da produção, a conservação do solo e que diminuam as emissões de carbono, como a introdução de espécies arbóreas ou arbustivas integradas numa mesma área de pastagem e animais.

A associação de árvores e arbustos nos sistemas pastoris garante a estabilidade do ecossistema por meio da diversificação da dieta animal, aumento no aporte de serapilheira e nutrientes no solo, sequestro de carbono, conservação do solo e dos recursos hídricos, melhoria na fertilidade do solo, recuperação e redução das áreas de pastagens degradadas. Ao mesmo tempo, essa associação promove mudanças no microclima e estabelece um ambiente mais agradável para os animais, de modo que o animal menos estressado tende a produzir carne e leite com melhor qualidade e quantidade.

Quando o componente arbóreo escolhido é uma leguminosa, há um efeito mais pronunciado sobre a fertilidade do solo e conservação ambiental devido a fixação biológica de nitrogênio (FBN) e redução do uso de adubos nitrogenados, estabelecendo também um incremento na produtividade primária. As leguminosas arbóreas também são importantes na recuperação de áreas degradadas pois promovem cobertura do solo, e elevam os teores de nutrientes no solo e a qualidade das pastagens. Duas espécies com potencial de utilização em locais com clima tropical sub-úmido são a gliricídia e o sabiá. A gliricídia (*Gliricidia sepium* Jacq. Steud) é uma leguminosa adaptada a solos pobres e ácidos que apresenta boa palatabilidade para o gado e alta produção de biomassa de bom valor nutricional, enquanto o sabiá (*Mimosa caesalpinifolia* Benth) apresenta baixa exigência em fertilidade e umidade, possui estacas de excelente qualidade, madeira comercializável e recomendação para recomposição de áreas degradadas. Além disso, ambas possuem excelente rebrota e rápido crescimento.

O sistema silvipastoril com leguminosas, além de criar uma heterogeneidade na oferta de alimentos e redistribuição dos animais e excretas, promove um aumento na ciclagem e

estoque de nutrientes. Os estudos com sistemas silvipastoris focam principalmente na dinâmica do carbono e nitrogênio, pelo impacto direto da adição de resíduos vegetais nos estoques de C e N e mitigação do efeito estufa, sendo muito incipientes os estudos sobre sua influência no ciclo do fósforo e nas enzimas que possam conduzir a disponibilidade do fósforo no solo.

Apesar dos conhecidos benefícios dos sistemas silvipastoris, muito ainda precisa ser conhecido sobre como a comunidade microbiana do solo responde as mudanças do uso da pastagem em monocultivo para o consórcio leguminosas-gramínea forrageira.

Os micro-organismos são sensíveis a mudanças ambientais, por isso são indicadores de um manejo ambientalmente sustentável. A qualidade e quantidade de serapilheira, exsudatos radiculares e umidade do solo determinam a estrutura da comunidade microbiana do solo, assim como as atividades enzimáticas. Portanto, para avaliar diferenças entre usos da terra, é necessário compreender como a diversidade vegetal e estações seca e chuvosa afetam a microbiota e alguns indicadores microbiológicos que determinam a vida microbiana e a qualidade do solo.

Diante disto, é fundamental o conhecimento de como o sistema silvipastoril e a estação climática influenciam indicadores microbiológicos, de modo que o manejo desse ecossistema possa ser considerado sustentável.

1.1 Hipóteses

A inserção de leguminosas arbóreas em pastagens contribui para melhoria nos indicadores microbiológicos de qualidade do solo.

A introdução das leguminosas gliricídia e sabiá em pastagens estabelece um ambiente favorável para o aumento das populações de bactérias autotróficas fixadoras de CO₂ e contribui com o dreno de CO₂ atmosférico através da fixação microbiana de carbono.

A inserção das leguminosas gliricídia e sabiá em pastagem contribui para melhorias no ciclo do fósforo através do aumento da atividade das enzimas fosfatases ácida e alcalina, e abundâncias de fungos totais, micorrizas e mineralizadores de P.

Esses eventos são influenciados pela variação sazonal e distanciamento das linhas das leguminosas.

1.2 Objetivos

1.2.1 Objetivo geral

Compreender como a introdução de leguminosas arbóreas em sistemas de pastagens influencia os indicadores de qualidade microbiológica do solo.

1.2.2 Objetivos específicos

Quantificar o fósforo na biomassa microbiana no solo do sistema silvipastoril em função do distanciamento das linhas das leguminosas no período seco e chuvoso;

Avaliar o efeito da introdução de leguminosas sobre a concentração de glomalina facilmente extraível, glomalina total e carbono da glomalina do solo em relação ao distanciamento das linhas das leguminosas e estação climática;

Verificar a atividade enzimática da fosfatase ácida e alcalina, urease e arilsulfatase do solo no sistema silvipastoril em função do distanciamento das linhas das leguminosas e período seco e chuvoso;

Avaliar a abundância dos genes *cbbl*, 18S rRNA (fungos totais e micorrizas) e *phoD* no sistema silvipastoril em relação ao distanciamento das linhas das leguminosas e estação climática;

Correlacionar os atributos microbiológicos com atributos químicos do solo.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Pastagens no Brasil

O Brasil é atualmente o maior produtor e exportador de carne bovina do mundo, com uma produção aproximada de 11 milhões de toneladas de carne e uma área total de 163 milhões de hectares de pastagens (ABIEC, 2020). As pastagens são as principais fontes de alimento para a pecuária, pelo menor custo, e geralmente têm práticas extrativistas de pastagens nativas formadas por gramíneas forrageiras em monocultivo (ARAÚJO et al., 2017).

A demanda por carne e leite aumenta muito rapidamente em função do crescimento populacional e econômico, promovendo um grande impacto no ambiente e na biodiversidade,

em escala global (FAO, 2016). Coincidentemente, algumas das ecorregiões ambientalmente mais ameaçadas ou vulneráveis encontram-se em áreas com alta densidade bovina (FAO, 2016). Com isso, a pecuária pode promover uma rápida deterioração de recursos naturais diante do uso mais intensivo dos pastos do que sua capacidade produtiva, que é conhecida como degradação. Tal fato coloca em risco não somente o meio ambiente, mas também a produção de alimentos para as gerações futuras (ALONSO, 2011).

Limitações nutricionais de nitrogênio (N) e fósforo (P) são algumas das principais causas para o baixo crescimento das forragens (DUBEUX JUNIOR et al., 2014a). Além da parte nutricional, a superlotação, elevação no percentual de plantas daninhas e solo desnudo desencadeiam o processo de degradação das pastagens (DIAS-FILHO, 2017). Este processo torna o sistema insustentável e motiva a formação de novas pastagens provocando desmatamento, fragmentação de paisagens, emissão de gases de efeito estufa, perda de biodiversidade, aparecimento de pragas, compactação e erosão do solo e, conseqüentemente, inúmeros outros problemas ambientais associados (ALONSO, 2011; MILERA, 2013; TEILLARD, et al., 2016; SÁNCHEZ-SANTANA et al., 2018).

Uma das maneiras de diminuir os impactos ambientais relacionados à pecuária é a implantação de um sistema de manejo sustentável e que favoreça a intensificação da produção, com maior eficiência na produção do gado e lucro por hectare (CABRAL et al., 2017). Uma possibilidade é o uso do sistema silvipastoril (SSP) que consiste na incorporação de árvores, pastagens e animais na mesma área e período, promovendo diversificação da dieta e sombra para os animais, flores para polinizadores, sequestro de carbono (C) e conservação da biodiversidade (DUBEUX JUNIOR et al., 2015). O SSP otimiza os recursos naturais do ponto de vista econômico e ambiental, sendo assim uma interessante solução à produção animal, associada a sustentabilidade da atividade pecuária (ARAÚJO et al., 2017; CABRAL et al., 2017; SÁNCHEZ-SANTANA et al., 2018). Além disto, o SSP é recomendado pela FAO como manejo sustentável para regiões tropical e tropical subúmida (JOSE; WALTER; KUMAR, 2019; LÓPEZ-SANTIAGO et al., 2019).

2.2 Sistema silvipastoril com leguminosas

Os SSPs constituem uma variação dos sistemas agroflorestais, usados para produção animal por meio de associações entre árvores e pastagens, em interação com o solo. É uma das modalidades de agrofloresta implementadas em todo o mundo, muito importante sob o ponto de vista produtivo, ambiental e socioeconômico, e seus benefícios incluem sequestro de C,

conservação do solo e água, segurança alimentar e qualidade ambiental (FEY; MALAVASI; MALAVASI, 2015; HANISCH et al., 2019).

O SSP foi primeiramente implementado na Nova Zelândia para reduzir as perdas de solo por erosão nas pastagens. Por trazer tantos outros benefícios, passou a fazer parte de programas governamentais (BENAVIDES; DOUGLAS; OSORO, 2009; MOSQUERA-LOSADA et al., 2009; FEY; MALAVASI; MALAVASI, 2015) e vem sendo recomendado como um sistema de manejo bastante promissor para solos tropicais subúmidos (LIRA JUNIOR et al., 2020a).

Neste tipo de sistema é observado o favorecimento na reciclagem de nutrientes, a manutenção da fauna e flora do solo, controle de pragas, melhoria na drenagem do solo, controle de erosão, purificação do ar, aumento da biodiversidade, estoque de C e redução de custos na recuperação e renovação de pastagens degradadas, além de poder promover aumento na produção total de biomassa quando comparado com o sistema em monocultivo (ALONSO, 2011; CARVALHO et al., 2017).

Além das melhorias para a qualidade do solo e da forragem, o fornecimento de sombra promove alteração no microclima com redução de 2 a 5 °C sob a abrangência da copa das árvores, influenciando na umidade do solo e do ar e estabelecendo um ambiente mais confortável para os animais (MURGUEITIO et al., 2011; CABRAL et al., 2017). Assim, este sistema também tem demonstrado progresso na produção e qualidade de carne e leite por estabelecer um melhor bem-estar animal (MILERA; LÓPEZ; ALONSO, 2014; SÁNCHEZ-SANTANA et al., 2018).

O componente arbóreo no SSP é uma escolha do produtor, podendo ser frutífera (ARAKAKI et al., 2009), visando exploração de madeira (APOLINÁRIO et al., 2015), borracha (PEREIRA, 2007), óleo ou folhas (FEY; MALAVASI; MALAVASI, 2015). Quando a escolha é pela introdução de leguminosas, há contribuição para a fertilidade através da FBN (APOLINÁRIO et al., 2016). Em caso de leguminosa forrageira, a implantação é ainda mais promissora por ser fonte de nutrição animal, com altos níveis de proteínas e minerais, além de uma maior digestibilidade efetiva das fibras alimentares em relação às gramíneas tropicais (DUBEUX JUNIOR et al., 2017; JOSE; DOLLINGER, 2019). Assim, o sistema passa a ter maior sustentabilidade, pois além do aumento na produtividade primária, reduz a necessidade de fertilização nitrogenada e intensifica o sequestro de carbono (TEDESCHI et al., 2015; DUBEUX JUNIOR et al., 2017).

As leguminosas forrageiras gliricídia (*Gliricidia sepium* Jacq. Steud) e sabiá (*Mimosa caesalpiniaefolia* Benth) apresentam boa palatabilidade para o gado (DE SÁ et al., 2017) e

fornecimento de madeira comercializável (APOLINÁRIO et al., 2015), respectivamente. Além disto, elas são capazes de promover aumento no estoque de C e N do solo nas camadas superficiais e subsuperficiais em um tempo menor do que o exigido por outros agrossistemas, demonstrando seus elevados potenciais no armazenamento destes elementos e contribuindo para a mitigação do efeito estufa (LIRA JUNIOR et al., 2020a).

As leguminosas em consórcio no SSP também promovem melhorias nas qualidades microbiológicas do solo, como estoque de carbono na biomassa microbiana, aumento da atividade enzimática do solo e nas populações de bactérias, actinobacterias, fungos e microorganismos celulolíticos em 2 anos após a implantação do sistema (SOUSA et al., 2020).

A implantação de leguminosas em pastagens ainda cria uma heterogeneidade na oferta de alimentos e proporciona uma redistribuição dos animais e deposição das excretas, impactando no remanejamento e reciclagem de nutrientes do solo nas pastagens (DUBEUX JUNIOR et al., 2017). Além disso, a adição de N ao solo induz uma maior demanda por fósforo e impulsiona a ativação dos mecanismos para aquisição de P, como liberação de ácidos orgânicos e enzimas fosfatases para mineralização do P orgânico do solo (MAISTRY et al., 2015; ZHAO et al., 2019).

2.3 Dinâmica do fósforo no solo

O fósforo no solo é oriundo do intemperismo geoquímico de rochas, tal como a apatita, que é um recurso não renovável e a principal fonte mineral de fertilizantes fosfatados (STEFFEN et al., 2015; LUN et al., 2018).

O ciclo deste elemento no solo é regulado por processos biológicos e geoquímicos, de modo que o fósforo ocorre em várias formas químicas, incluindo formas orgânicas (Po) e inorgânicas (Pi). O Po é oriundo da biomassa microbiana, fauna, vegetal e dos produtos de sua decomposição, constituindo de 10 a 80% do P total do solo, abrange os íons fosfatos ligados aos compostos orgânicos e sua disponibilidade é variável e dependente da decomposição da matéria orgânica no solo (NASH et al., 2014; CONDRON; TIESSEN, 2015). Já o Pi pode ocupar de 20 a 90% do P total do solo e compreende os íons fosfatos nas formas minerais (adsorvidos, precipitados ou na solução do solo) (GATIBONI et al., 2013; FENG et al., 2016).

As espécies de Pi derivadas do ácido ortofosfórico (H_3PO_4), tais como HPO_4^{2-} e $H_2PO_4^-$, são as formas aniônicas de fosfato que as plantas absorvem preferencialmente (FINK et al., 2016). No entanto, o P é o menos móvel e menos disponível dos nutrientes no solo (SONG et al., 2017), principalmente em solos tropicais altamente intemperizados, devido sua alta

capacidade de adsorção específica nas superfícies de minerais de argila, bem como óxido de ferro e alumínio que apresentam balanço de cargas positivas em pH abaixo de 7. Assim, deficiência severa de P é comumente observada (FINK et al., 2016; LOPES; GUILHERME, 2016; XIONG et al., 2018).

A principal forma de suprir a necessidade de P em agroecossistemas é pela aplicação de fertilizante mineral solúvel. Contudo, o fosfato aplicado também passa pelo processo de adsorção e sua disponibilidade pode ser rapidamente reduzida, diminuindo sua mobilidade no solo (ROWE et al., 2016; ZHU; LI; WHELAN, 2018; BINDRABAN; DIMKPA; PANDEY, 2020). Desse modo, a fixação de P no solo, além de promover impactos nutricionais no vegetal, também pode causar grande impacto ambiental através do uso intensivo e indiscriminado de fertilizantes em áreas cultivadas, de modo que o P residual fica retido por Al^{3+} e Fe^{2+} ou Ca^{2+} , filossilicatos 1:1 e compostos orgânicos (BINDRABAN; DIMKPA; PANDEY, 2020), ou perdido por erosão e transportado juntamente com sedimentos, ocasionando eutrofização, hipóxia, e conseqüentemente, degradação dos recursos hídricos (YU et al., 2014; CONIJN et al., 2018; LUN et al., 2018).

Outra possível fonte de P é o uso de esterco, visto que aproximadamente 70% do teor de P no esterco é lábil (SHEN et al., 2011; ZHANG et al., 2017). Le Noë, Billen e Garnier (2017) relatam que o aumento no estoque de P no solo e acúmulo de P nas pastagens também se deve à alta densidade de animais e redistribuição da deposição de excretas no SSP, diminuindo a necessidade de fertilização. Desta forma, o Po é de crucial relevância para a fertilidade de solos altamente intemperizados, por ser menos susceptível à forte adsorção pelos minerais de argila quando comparado com as formas inorgânicas, favorecendo a nutrição vegetal diante da mineralização dos produtos da decomposição orgânica, além de promover competição pelos sítios de adsorção de P (HINSINGER et al., 2011; BÜNEMANN, 2015; MEENA et al., 2018).

A introdução de espécies vegetais é outra estratégia que promove o aumento no teor de P diante da adição de resíduos orgânicos, estimulando a captação de P residual do solo, e eficiência de seu uso e sua reciclagem, maximizando assim a redução da erosão do solo e descarga de P em corpos d'água (LEITE et al., 2016; CHOWDHURY et al., 2017; BINDRABAN; DIMKPA; PANDEY, 2020). Em SSP são observados maiores teores de P na serapilheira sob as linhas de leguminosas e na camada 0-10 cm por ser diretamente influenciada pelos incrementos dos resíduos orgânicos (SILVA et al., 2013).

As plantas possuem mecanismos específicos para mobilizar diferentes formas de P do solo para utilização e regulação da sua absorção, como associação micorrízica, exsudatos

radiculares de baixo peso molecular como ácidos orgânicos, fosfatases, prótons e outros metabólitos que aumentam a quantidade de P lábeis de fontes insolúveis ou pouco solúveis, como fosfatos de Fe e Al e rochas fosfáticas (FAN et al., 2018), sendo estes mecanismos altamente influenciados pela umidade do solo, temperatura, propriedades físico-químicas, disponibilidade de nutrientes e pH do solo (SHEN et al., 2011).

Em adição, diversos micro-organismos do solo também são responsáveis pela disponibilização de P para as plantas pela solubilização e mineralização de P, por meio da produção de enzimas e ácidos orgânicos (KOBAE, 2019).

2.4 Comunidade microbiana do solo

A comunidade microbiana do solo tem um importante papel na formação da estrutura do solo, decomposição da matéria orgânica, ciclos biogeoquímicos e degradação de compostos tóxicos (LUDWIG et al., 2015), sendo amplamente reconhecida a importância da diversidade e composição microbiana na condução de funções ecológicas (WAGG et al., 2014; 2019; TARDY et al., 2015; XUE et al., 2018; LIU et al., 2019a; MATEI; MATEI; MOCANU, 2020).

A diversidade da comunidade microbiana é afetada pela cobertura vegetal, de modo que o componente arbóreo tem uma relevante função na estruturação desta comunidade (WINAGRASKI et al., 2019). Por exemplo, a heterogeneidade do SSP promove aumento no tamanho e na diversidade das comunidades microbianas e sua fertilidade biológica (MARTINS et al., 2016). Barros et al. (2018) encontraram diferenças nas estruturas e diversidade de bactérias totais, diazotróficas e oxidantes de amônia entre amostras de braquiária em monocultivo e em integração com leguminosas, de modo que introdução de leguminosa do SSP promoveu um ambiente mais favorável para o crescimento microbiano e melhoria na qualidade biológica do solo. Cubillos et al. (2016) relataram que o SSP favorece a formação de ilhas de comunidades microbianas que podem favorecer a restauração de processos ecossistêmicos e remediar solos que estavam sob manejo tradicional de pastagem.

Uma maior diversidade microbiana também facilita o estabelecimento de associação mutualística com as raízes, como por exemplo, a micorrização. Os fungos micorrízicos são uma das comunidades microbianas predominantes no solo e podem estabelecer simbiose com até 80% das plantas terrestres (KEYMER; GUTJAHR, 2018). O sucesso da micorrização é favorecido pela presença de múltiplos micossimbiontes capazes de garantir uma elevada estabilidade na simbiose (BEVER, 2015), de maneira que esta baixa especificidade simbiótica possibilita uma única planta hospedeira ser colonizada por vários fungos micorrízicos

simultaneamente, e cada um desses micossimbiontes pode potencialmente interagir com vários macrossimbiontes, formando uma ampla rede micorrízica de comunicação entre plantas (WYATT et al., 2014; GEOFFROY et al., 2017).

As redes de hifas micorrízicas podem ter metros de comprimento, destacando-se por aumentar a extensão radicular e área superficial para transporte e absorção de água, liberação e despolimerização de enzimas, tolerância das plantas a estresses abióticos e estruturação do solo (CHI; WU, 2017; KUZYAKOV; RAZAVI, 2019; WHITESIDE et al., 2019). Estas redes podem moldar as comunidades vegetais por meio do fluxo de nutrientes, onde as plantas fornecem C e recebem P e N em troca (HESTRIN et al., 2019; TEDERSOO; BAHRAM; ZOBEL, 2020). Assim, quando ocorre uma variação espacial de nutrientes no solo, principalmente fósforo, os fungos micorrízicos são capazes de restaurar o equilíbrio, compensando a troca de P em diferentes locais da rede de hifas. Isto favorece a redistribuição do elemento dentro das hifas antes de serem disponibilizados para as plantas (FELLBAUM et al., 2014). E quando os fungos estão expostos a ambientes com distribuição uniforme de fósforo, eles acumulam o nutriente nas suas hifas para posterior redistribuição (WHITESIDE et al., 2019).

Os fungos micorrízicos ainda podem liberar fosfatase pelas paredes das hifas e promover a mineralização de P orgânico ou hidrolisar fitatos e aumentar disponibilidade de P (BURNS et al., 2013). Além disso, estimulam o crescimento de bactérias produtoras de fitase pela excreção de açúcares e carboxilatos, o que pode aumentar a absorção de fósforo pelas plantas (WANG et al., 2017), tornando maiores as concentrações e estoque de P em SSP quando comparados com floresta e pastagem em monocultivo (GROPPO et al., 2015).

Os fungos micorrízicos arbusculares (FMA) liberam um tipo especial de glicoproteína no solo chamada de glomalina, através de seu micélio extrarradicular e esporos (HE et al., 2020). Esta glicoproteína é um agente aglutinante de partículas do solo, hidrofóbico e resistente ao calor. Tem uma importante função na estruturação do solo, através da cimentação e estabilidade dos agregados do solo (CHI; WU, 2017; JI; TAN; CHEN, 2019) e no estoque de carbono por armazenar C altamente recalcitrante (ZOU; SRIVASTAVA; WU, 2016).

A glomalina é dividida em glomalina facilmente extraível (GFE), que é a recentemente produzida e relativamente mais lábil, e glomalina total (GT), que corresponde a soma da glomalina facilmente extraível e dificilmente extraível, e assim, leva em consideração a parte mais recalcitrante e difícil de extrair (WU et al., 2014). Geralmente contém 36 a 59% de C, 3 a 5% de N, 2 a 5% de Fe e 0,03 a 0,1% de P, representa em torno de 3% do carbono do solo e contribui no estoque de C neste ambiente (HE et al., 2020; VLČEK; POHANKA, 2020).

O estoque de C no solo é altamente influenciado pela atuação das comunidades microbianas através da decomposição e humificação da matéria orgânica (BÜNEMANN et al., 2018). Por isso, a incorporação de matéria orgânica e estoque de C é um assunto bastante estudado em SSP (AMÉZQUITA et al., 2004; ANDRADE; BROOK; IBRAHIM, 2008; MOSQUERA et al., 2012; McGRODDY et al., 2015; GROppo et al., 2015; LE NOË; BILLEN; GARNIER, 2017; SCHETTINI et al., 2018; CÁRDENAS et al., 2019; LÓPEZ-SANTIAGO et al., 2019; LIRA JUNIOR et al., 2020a; SARTO et al., 2020). No entanto, o estudo de como o estoque de C pode ser influenciado por bactérias autotróficas fixadoras de dióxido de carbono (CO₂) em SSP é aparentemente inexistente na literatura.

As bactérias autotróficas são capazes de converter CO₂ em biomassa, sendo o ciclo de Calvin a via predominante de fixação de CO₂ (LIU et al., 2016). Esta fixação tem um papel extremamente relevante no ciclo de C e pode contrabalançar a concentração de CO₂ atmosférico e mitigar o efeito estufa global (LU et al., 2019), por meio do dreno líquido de até 5 Pg ano⁻¹ de C em solos agrícolas (YUAN et al., 2012).

As bactérias autotróficas são amplamente distribuídas em solos agrícolas e mudanças nos atributos físico, químico ou biológico do solo afetam sua atividade e taxa de sequestro de C (GE et al., 2016). Yuan et al. (2012) constataram que manejos mais sustentáveis estimulam o crescimento de bactérias autotróficas e aumentam a concentração de C no solo. Ge et al. (2016) observaram que o aumento na comunidade de bactérias fixadoras de CO₂ em áreas de plantio direto é decorrente da melhoria na manutenção da matéria orgânica do solo em relação ao plantio convencional. Lynn et al. (2017) relatam que a abundância de bactérias autotróficas tem forte correlação com o ¹⁴C da biomassa microbiana e ¹⁴C-COS, tendo um papel fundamental no sequestro de C em solos de floresta, pastagem e terras úmidas naturais.

Diante disto, alterações nas comunidades microbianas do solo podem impactar os processos bioquímicos e, conseqüentemente, interferir a fertilidade do solo e o crescimento das plantas. Com isso, conhecer os fatores que influenciam os micro-organismos do solo, tais como atividade enzimática, perfil fisiológico e molecular, é fundamental para entender a funcionalidade do solo em resposta ao sistema de uso da terra (PÉREZ-BRANDÁN et al., 2014) e manejar o ecossistema de forma sustentável (YANG; YANG; YU, 2018).

2.5 Atividade enzimática do solo

Todos os solos possuem enzimas que podem ser intracelulares e extracelulares, e são sintetizadas por micro-organismos, plantas e animais, para degradar moléculas orgânicas

complexas em moléculas simples absorvíveis (ALMEIDA et al., 2015; GIANFREDA, 2015; ADETUNJI et al., 2017).

A ligação das enzimas com o substrato alvo é do tipo chave-fechadura, ou seja, um substrato específico somente é degradado por uma enzima específica. Por isso, uma determinada enzima sozinha não pode refletir o estado nutricional total do solo (NANNIPIERI et al., 2012).

A atividade enzimática do solo é considerada uma das melhores ferramentas para se verificar a estabilidade ecológica, pois sua sensibilidade de resposta perante mudanças no sistema solo-planta é imediata, acontecendo muito antes que outras alterações nos indicadores de qualidade do solo sejam detectadas (LV et al., 2014; CAVALCANTE et al., 2020). Assim as atividades enzimáticas são imprescindíveis para determinar o potencial metabólico, a fertilidade e a qualidade do solo, além de serem úteis nas avaliações da comunidade microbiana do solo (BŁOŃSKA; LASOTA; ZWYDAK, 2017; VEERARAGAVAN; DURAISAMY; MANI, 2018).

A atividade enzimática tem uma variação espaço-temporal com o tipo de solo e vegetação, sendo essas alterações mais expressas com a mudança no manejo, mineralogia do solo e presença de plantas invasoras (MEDEIROS et al., 2015; MERINO; GODOY; MATUS, 2016; VEERARAGAVAN; DURAISAMY; MANI, 2018; DE BARROS, et al., 2019; SILVA et al., 2019). Fatores como umidade, temperatura, potencial redox, pH e estação do ano também influenciam na atividade das enzimas no solo (BŁOŃSKA; LASOTA; GRUBA, 2016). Além disso, compostos liberados pelas plantas, como polissacarídeos, compostos aromáticos e ésteres, em associação com restos vegetais e exsudatos radiculares, servem como fontes de substratos para a degradação enzimática, assim como no fornecimento de energia e elementos necessários para a síntese de novas enzimas (HERNÁNDEZ; HOBBIE, 2010).

Para uma ampla compreensão dos ciclos biogeoquímicos do solo, diversas enzimas devem ser avaliadas. Algumas delas apenas auxiliam a decomposição da matéria orgânica, como a hidrolase e β -glicosidase (KARACA et al., 2010), enquanto outras estão envolvidas na mineralização de nutrientes, como fosfatases, urease e arilsulfatase (MEDEIROS et al., 2017).

As fosfatases são enzimas que catalisam a quebra de ésteres e anidridos de ácido fosfórico, disponibilizando fosfato. Plantas e micro-organismos são as principais fontes das fosfatases no solo e sua secreção é intensificada quando os solos apresentam alguma limitação de P (VAN AARLE; PLASSARD, 2010; BURNS et al., 2013; BALOTA et al., 2014). Do mesmo modo, quando o nível de P aumenta na solução do solo, a atividade das fosfatases

diminui (YADA et al., 2015). Desta forma, as fosfatases têm um papel essencial na mineralização de P orgânico (ADAMCZYK et al., 2014; DENG et al., 2019).

A fosfatase alcalina é produzida exclusivamente por micro-organismos, enquanto a fosfatase ácida é produzida por plantas e micro-organismos (CARDOSO et al., 2013). As atividades de ambas fosfatases são classificadas por sua faixa ótima de pH, ou seja, em solos ácidos é encontrada principalmente fosfatase ácida, e em solos alcalinos, a fosfatase alcalina (ADETUNJI et al., 2017).

Alguns autores relatam que as leguminosas liberam mais fosfatase do que outros tipos de plantas, pela FBN requerer muito fósforo para ser realizada (LIU et al., 2004; MAKOI; NDAKIDEMI, 2008; MAKOI; CHIMPHANGO; DAKORA, 2010; MASEKO; DAKORA, 2013). Além disso, o aumento na atividade de fosfatases ácida e alcalina nas áreas de SSP com leguminosas é decorrente da melhoria nas comunidades microbianas (SOUSA et al., 2020).

Sarto et al. (2020) relatam que a introdução de árvores no SSP aumenta a atividade da fosfatase ácida e promove condições mais satisfatórias para o crescimento microbiano e aumento na demanda de P. Enquanto que Chen et al. (2019b) observaram que a deposição de excretas animais pode contribuir na diminuição da atividade da fosfatase alcalina por aumentar a concentração de P total no solo e disponibilidade de P para as plantas.

As atividades das fosfatases ácida e alcalina têm sido correlacionadas significativamente com o potencial redox do solo (GU et al., 2019), e são dependentes do manejo do solo, tipo e quantidade de serapilheira na superfície do solo (TIAN et al., 2016; WYSZKOWSKA et al., 2019). O aumento no teor de N no solo promovido pelo SSP também favorece o aumento na atividade da fosfatase ácida quando comparado com pastagem sob cultivo convencional (ZANDONA; COLOZZI FILHO; PONTES, 2019).

Já a urease é uma enzima que catalisa a hidrólise de ureia em amônia e dióxido de carbono (ALIZADEH et al., 2017). É uma enzima intra e extracelular sintetizada por micro-organismos e algumas espécies vegetais (GAO et al., 2019), amplamente distribuída no solo e com papel crucial no ciclo do N (CORDERO; SNELL; BARDGETT, 2019). A urease é liberada para o solo em condições de limitação de nitrogênio ou após lise celular, podendo ser adsorvida e estabilizada por coloides do solo, permanecendo funcionalmente ativa (KAPPAUN et al., 2018) ou ser inativada por ácidos húmicos (LIU et al., 2019b).

A atividade da urease no solo pode ser afetada por matéria orgânica, pH, temperatura, umidade e fertilização química (FISHER; YARWOOD; JAMES, 2017; CUCCURULLO et al., 2020). Em condições de acidez elevada, alguns gêneros de bactérias são capazes de ativar a produção da urease para criar um ambiente com pH compatível com sua sobrevivência

(KAPPAUN et al., 2018). A introdução de leguminosas em sistemas de cultivo (QIAN et al.; 2015; SEKARAN et al., 2020), permanência de resíduos vegetais no solo (CANTARELLA et al., 2018; MALOBANE et al., 2020) e altas temperaturas também podem aumentar a atividade da urease. Por outro lado, embora a umidade do solo abaixo de 20% reduza a atividade da urease (ADETUNJI et al., 2017), teores de água acima de 20% praticamente não influenciam a hidrólise da ureia (CANTARELLA et al., 2018).

A arilsulfatase é uma enzima extracelular de origem microbiana ou vegetal, responsável pela mineralização do enxofre (S) no solo através da hidrólise de ésteres de sulfato em íons sulfato (ACOSTA-MARTÍNEZ; PÉREZ-GUZMÁN; JOHNSON, 2019). É uma enzima amplamente distribuída nos solos, com elevada estabilidade ao processo de secagem do solo, além de sofrer pouca influência pela fertilização química, e por isso é recomendada como uma das enzimas que melhor indica a qualidade do solo (LOPES et al., 2015; MENDES et al., 2019). No entanto, Mori et al. (2020) relatam que a adição de nitrogênio ao solo suprime mais a atividade da arilsulfatase do que de enzimas ligadas ao ciclo do C e N, mesmas observações feitas por Wang et al. (2019) sobre a adição de fósforo ao solo.

A heterogeneidade e maior aporte de resíduos vegetais em SSPs de climas tropical úmido, tropical médio e subtropical têm promovido aumento na atividade da arilsulfatase em relação ao cultivo convencional de pastagem (DAMIAN et al., 2021). Apesar disto, dentre as enzimas envolvidas nos ciclos biogeoquímicos do C, N, P e S, a atividade da arilsulfatase é a menos estudada (CHEN et al., 2019a), indicando uma necessidade de compreender melhor a atuação e importância desta enzima no SSP, assim como, a influência deste sistema sobre as comunidades microbianas do solo.

2.6 Efeitos da cobertura vegetal e sazonalidade climática na diversidade e tamanho de comunidade microbiana

Conhecer a influência da cobertura vegetal sobre a diversidade da comunidade microbiana do solo é um assunto que vem sendo estudado nos últimos anos, pois o papel da diversidade microbiana ainda é uma questão crítica e debatível, embora seja amplamente reconhecida a importância dos micro-organismos na fertilidade e qualidade do solo (MARON et al., 2018).

Mudanças na cobertura vegetal e alterações na qualidade e quantidade de serapilheira e exsudatos radiculares contribuem para mudanças na composição da comunidade microbiana do solo (BARDGETT; MOMMER; DE VRIES, 2014). Barros et al. (2018) relatam que a

introdução de leguminosas em áreas de pastagens altera a estrutura da comunidade de bactérias totais e oxidantes de amônia, pelo aumento de suas abundâncias. Resultados semelhantes foram encontrados por Gao et al. (2019), ao observarem que a abundância e diversidade bacteriana foram maiores em sistemas agroflorestais do que em áreas com monocultivo.

Barros et al. (2021) estudando as comunidades de bactérias diazotróficas e amônio-oxidantes em um SSP com leguminosas, constataram que a abundância destes grupos microbianos foi maior no SSP em relação a braquiária em monocultivo. Portilho et al. (2018) verificaram que sistemas de cultivo agrícola integrado com pastagem aumentaram as abundâncias de genes ligados ao ciclo do N em relação a pastagem sob cultivo convencional. Zhang et al. (2021) relatam que a presença de cobertura vegetal no solo, em comparação com o solo desnudo, pode ter efeito positivo, nulo ou negativo sobre a abundância de genes ligados a ciclagem de nutrientes do solo, pois a vegetação também pode promover efeito deletério sobre algumas comunidades microbianas.

As comunidades microbianas do solo não são definidas apenas pela cobertura vegetal. A heterogeneidade natural do solo, tais como mudanças no pH, umidade, condutividade elétrica e disponibilidade de nutrientes (QU et al., 2016; DING et al., 2020) também promove alterações nas comunidades microbianas, mesmo em microescala (FIERER, 2017). Barros et al. (2018) e (2021) relatam que a variação do pH e umidade do solo, respectivamente, influenciaram na abundância de bactérias oxidantes de amônia entre solos sob SSP com leguminosas e braquiária solteira. Kuramae et al. (2012) relatam que características físico-químicas do solo, como pH, P e relação C/N influenciam mais na abundância e diversidade microbiana do solo do que os seis mais importantes tipos de usos da terra na Holanda. Kaiser et al. (2016) avaliando 300 amostras de solos de diferentes usos da terra (floresta e pastagem), concluíram que o pH é o melhor preditor da abundância, diversidade, estrutura e funcionalidade da comunidade bacteriana do solo.

Por outro lado, as comunidades microbianas também são determinadas pela sazonalidade climática. Ciclos de umedecimento e secagem do solo modificam o fluxo de nutrientes e os processos microbiológicos do solo, alterando a composição e estrutura da comunidade microbiana (ZHOU et al., 2016). Hammer et al. (2019) encontraram que a abundância de arqueias oxidantes de amônia permaneceu constante e sua diversidade aumentou após o ciclo de secagem e umedecimento, enquanto que a abundância do gene *nirS* (desnitrificadores) foi reduzida irreversivelmente após a seca. Enquanto que Pereira et al. (2018) relatam que a estação seca favorece o aumento da abundância e colonização de fungos

micorrízicos arbusculares devido ao aumento na atividade metabólica das plantas em floresta atlântica.

Em adição, o efeito da chuva, a composição vegetal e clima local também podem definir a comunidade microbiana do solo. Zhou et al. (2016) encontraram diminuição na abundância de arqueias, bactérias totais e oxidantes de amônia nos ciclos de secagem, com retorno das abundâncias para os níveis originais após os ciclos de umedecimento nas amostras de florestas de clima mais seco, e nenhuma alteração significativa para floresta mais úmida. Bononi et al. (2018) ao observarem o aumento na diversidade bacteriana de solo de floresta atlântica e diminuição no bioma caatinga após três ciclos de umedecimento e secagem, concluíram que a maior diversidade filogenética da floresta contribuiu para menor perda funcional de comunidades bacterianas.

2.7 qPCR no estudo das comunidades microbianas do solo

O surgimento da reação de cadeia polimerase em tempo real (qPCR) mudou drasticamente o campo de medição dos níveis de expressão gênica, pois esta técnica combina a amplificação, detecção e coleta dos dados em uma única etapa e é medida sincronicamente com o decorrer da PCR (BOULTER et al. 2016). Este método vem sendo extensivamente usado para quantificar o número de genes alvo ou funcional por grama de amostra produzido em cada ciclo de PCR (VOŘÍŠKOVÁ et al., 2017). Por ser uma técnica rápida, sensível e de fácil reprodutibilidade, fornece resultados com alta especificidade, precisão e confiabilidade na detecção e quantificação de sequências genéticas (FUENTES et al., 2016), permitindo avaliar a abundância de uma população microbiana (BRESSAN et al., 2015).

O gene alvo em estudos da abundância de fungos é o 18S rRNA, pois este é um dos mais conservados e abundantes genes em todas as células eucarióticas e codifica o RNA ribossomal (PÁNEK et al., 2013), que juntamente com as subunidades ribossomais 28S e 5.8S RNA, constituem cerca de 85-90% do RNA total das células (REBOUÇAS et al., 2013). Beule et al. (2019) avaliando a comunidade fúngica em SSP constataram que o componente arbóreo promove aumento da abundância do gene 18S rRNA nas linhas das árvores devido a presença de substâncias mais recalcitrantes na serapilheira das árvores. E Kuramae et al. (2012) estudando solos sob coberturas vegetais distintas na Holanda, relataram maior abundância de fungos em solos sob floresta decídua quando comparado aos solos sob pastagem.

Por outro lado, o gene *phoD* é usado para avaliar a abundância do número de cópias para fosfatase alcalina, logo a verificação da contribuição da comunidade microbiana para a

disponibilidade de P (FRASER et al., 2017). Por exemplo, Liu et al. (2018) identificaram que uma maior abundância de *phoD* em diferentes usos da terra promoveu maior atividade da fosfatase alcalina e mineralização P quando comparada com as atividades da fosfatase ácida e fitase. Chen et al. (2019b) perceberam que o aumento da acidez do solo provocada pela adição de N mineral diminuiu significativamente a abundância de gene *phoD*, mas esta abundância foi melhorada com a aplicação de esterco. E o manejo orgânico com aplicação de esterco em pastagem duplicou a abundância de *phoD* em relação ao manejo convencional (FRASER et al., 2015).

Já o gene *cbbI* é utilizado por ser um marcador funcional de bactérias autotróficas e codifica grandes subunidades de RuBisCO I (ribulose-1,5-bisfosfato carboxilase oxigenase), que é uma enzima que catalisa a primeira etapa do ciclo de Calvin e promove a fixação do CO₂ na matéria orgânica (LU et al., 2019). Lynn et al. (2017) relatam que a maior abundância do gene *cbbI* em solos de pastagem está relacionada com a maior presença de C da biomassa, C orgânico total do solo e argila do que em solos de floresta.

Sendo assim, a avaliação de atributos microbiológicos, atividade enzimática e abundância de comunidades microbianas em solos de SSP com leguminosas e a correlação destes dados com os atributos químicos do solo permitirá uma melhor compreensão do efeito deste sistema sobre o ciclo do fósforo, a microbiota e qualidade do solo.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Área de estudo

A área de estudo fica na Estação Experimental do Instituto Agronômico de Pernambuco (IPA), no município de Itambé, microrregião da Zona da Mata Norte de Pernambuco (07° 25' S, 35° 06' W, 190 m de altitude). Tem clima tropical úmido do tipo AS' segundo classificação de Köppen, temperatura média anual de 24 °C e precipitação média anual de 1200 mm ano⁻¹ com distribuição irregular de chuvas, com maior abrangência nos meses de abril a julho (CPRH, 2003).

O solo predominante na área é o Argissolo Vermelho-Amarelo distrófico úmbrico, com horizonte A proeminente, textura média/argilosa, relevo suave ondulado (JACOMINE et al., 1973; EMBRAPA, 2006).

O sistema silvipastoril foi implantado em 2011 em uma área experimental de 9 ha, divididos em parcelas de 1 ha com braquiária (*Brachiaria decumbens* Stapf.) já existentes no local, consórcio da braquiária com gliricídia (*Gliricidia sepium* (Jacq.) Steud.) e consórcio com sabiá (*Mimosa caesalpinifolia* Benth) (Figura 1), com três repetições.

O plantio das leguminosas foi realizado em 14 fileiras duplas, no espaçamento de 15 x 1 x 0,5 m, com braquiária nas faixas entre as fileiras duplas de leguminosas. Aproximadamente 100 dias pós plantio das leguminosas, foi efetuada uma adubação fosfatada com 500 kg ha⁻¹ de P₂O₅.

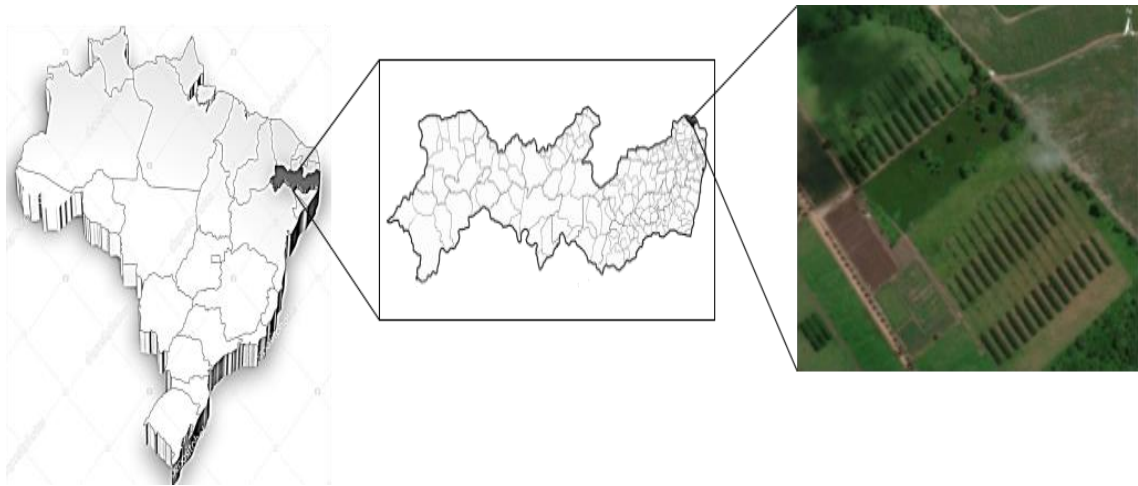


Figura 1. Localização da área de estudo e imagem da parcela experimental do sistema pastagem com leguminosas

Cada parcela possui bebedouro e cocho para fornecimento de sal mineral e durante o período de avaliação, a área foi pastoreada por bovinos mestiços (Holstein-Friesland-Zebu), com densidade de pastejo variável de acordo com os objetivos dos experimentos com animais realizados na área (DOS SANTOS et al., 2020).

3.2 Amostragem e caracterização do solo

A coleta de solo foi realizada por Barros (2018) na estação seca (novembro de 2015) e na chuvosa (junho de 2016), onde o acumulado de chuvas em cada mês foi 3,5 mm e 52,5 mm, respectivamente (BARROS et al., 2021). As parcelas com leguminosas foram divididas em três transectos no sentido do maior comprimento, ao longo do qual foram marcados pontos dentro

das fileiras duplas (0 m), a quatro metros de distância da fila dupla (4 m) e no centro da braquiária entre as filas duplas (8 m) (Figura 2) para obtenção de amostras compostas na camada 0 - 20 cm. Na parcela com monocultivo de braquiária foram coletadas três amostras simples aleatoriamente para formação das amostras compostas na mesma profundidade de 0 – 20 cm.

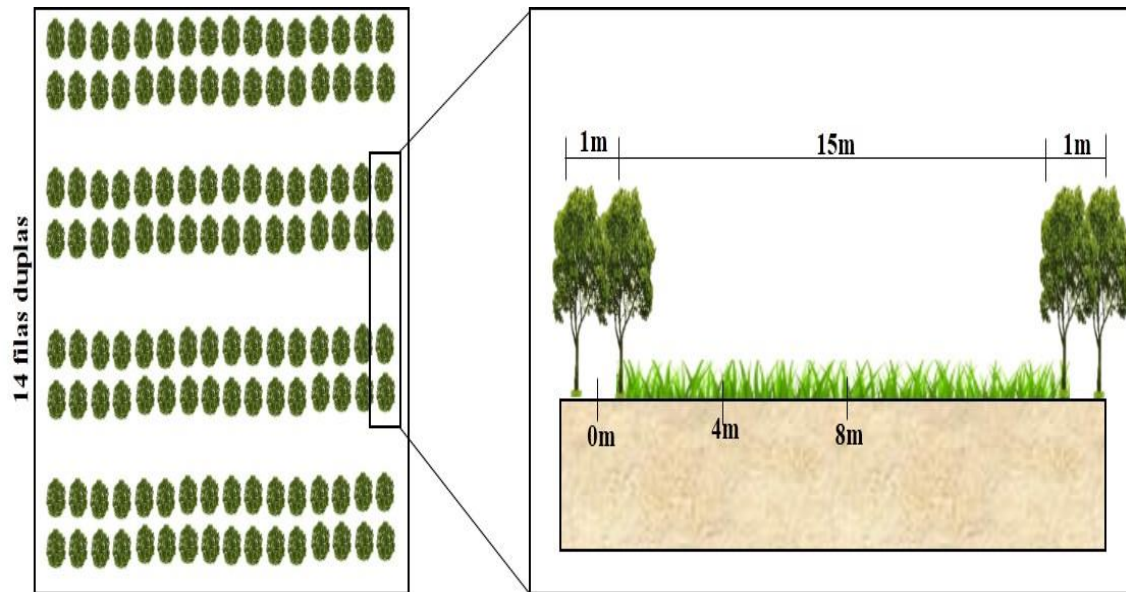


Figura 2. Representação da parcela experimental e pontos de coleta de solo em sistema silvipastoril na Zona da Mata de Pernambuco

As ferramentas usadas na coleta foram lavadas entre cada ponto. As amostras foram identificadas e acondicionadas em sacos plásticos estéreis, sendo uma parte das amostras mantidas sob refrigeração, e posteriormente congeladas a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$.

As amostras não refrigeradas foram secas ao ar, homogeneizadas e tamisadas em peneira de malha de 2 mm para caracterização química realizada por Barros (2018) (Tabela 1).

Tabela 1. Atributos químicos dos solos na camada 0-20 cm sob sistema silvipastoril na estação seca e chuvosa (BARROS, 2018)

Tratamentos/ distâncias	pH	CO	P	N-NH ₄ ⁺	N-NO ₃ ⁻	Ca ⁺²	Mg ⁺²	K ⁺	Na ⁺	Al ⁺³	H+Al	SB	T	t	V	m
	H ₂ O	g kg ⁻¹		mg kg ⁻¹					cmol _c kg ⁻¹						%	
Estação seca																
B	5,41	39,90	14,76	5,45	37,35	3,58	0,71	0,28	0,05	0,22	4,98	4,61	9,60	4,83	47,93	4,75
G+B 0 m	5,23	43,52	14,18	14,01	20,23	5,33	0,82	0,35	0,06	0,27	5,70	6,57	12,27	6,83	52,99	3,99
G+B 4 m	4,83	42,90	11,49	22,57	23,35	3,49	0,69	0,22	0,06	0,37	6,22	4,45	10,67	4,82	41,62	8,18
G+B 8 m	5,49	43,83	18,57	10,89	26,46	4,25	1,00	0,43	0,06	0,30	5,13	5,73	10,87	6,03	51,54	6,27
S+B 0 m	4,98	44,87	10,67	22,50	32,68	3,87	0,88	0,35	0,06	0,27	5,32	5,14	10,46	5,41	49,40	5,44
S+B 4 m	4,89	49,74	12,49	8,56	17,12	3,52	0,66	0,22	0,06	0,43	7,03	4,46	11,49	4,89	38,69	9,07
S+B 8 m	5,08	40,21	16,18	7,00	18,68	4,23	0,55	0,19	0,04	0,27	5,85	5,01	10,86	5,28	46,15	5,14
Estação chuvosa																
B	5,74	29,91	13,35	5,84	38,91	2,84	0,55	0,32	0,04	0,20	5,58	3,75	9,34	3,95	40,06	5,18
G+B 0 m	5,42	30,01	10,23	5,84	23,35	3,43	0,50	0,23	0,06	0,47	6,48	4,22	10,70	4,69	39,64	10,13
G+B 4 m	5,66	31,15	15,15	3,50	24,90	4,11	0,57	0,30	0,07	0,20	5,75	5,05	10,80	5,25	46,57	3,99
G+B 8 m	5,56	30,94	12,91	3,50	23,35	3,23	0,63	0,29	0,05	0,22	5,50	4,20	9,70	4,42	43,26	5,17
S+B 0 m	5,26	31,57	12,84	5,84	24,90	2,90	0,68	0,13	0,04	0,50	6,87	3,75	10,62	4,25	35,40	11,89
S+B 4 m	5,29	31,36	12,57	5,06	26,46	3,05	0,50	0,06	0,03	0,58	6,82	3,63	10,45	4,21	34,98	13,86
S+B 8 m	5,43	29,70	10,08	1,95	23,35	3,10	0,57	0,09	0,04	0,53	6,77	3,80	10,57	4,33	36,01	12,30

Médias n = 3. Distâncias 0, 4 e 8 metros em Gliricídia+Braquiária e Sabiá+Braquiária. CO: Carbono orgânico; SB: Soma de bases; T: CTC potencial; t: CTC efetiva; V: Saturação por bases; m: Saturação por alumínio

3.3 Fósforo da biomassa microbiana

A estimativa do P na biomassa microbiana (P-mic) foi obtida pelo método da irradiação-extração conforme descrito por Mendonça e Matos (2017), adaptado de Islam e Weil (1998). Foram pesadas amostras de solo (previamente tamisadas em peneira de malha de 2 mm e refrigeradas) parte para irradiar e para não irradiar. Após irradiação, transferiu-se as amostras para tubos Falcon e adicionou-se a solução extratora de bicarbonato de sódio (NaHCO_3) a $0,5 \text{ mol L}^{-1}$, mantendo-se sob agitação horizontal por 1 hora. Em seguida foram centrifugados por 10 minutos a 3000 rpm e o sobrenadante foi filtrado em papel filtro quantitativo lento. Foram pipetados 5 mL do extrato filtrado, de ambas as amostras, corrigindo-se o pH do extrato com solução de HCl $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ para 8,5. Adicionou-se 5,5 mL de H_2O deionizada e 2 mL de reagente de trabalho, e após 40 minutos procedeu-se a leitura da absorbância em espectrofotômetro à 882 nm de comprimento de onda. Foi utilizada a curva padrão de P para determinação da concentração de P nas amostras.

Em paralelo foi realizado o ensaio do P-recuperado (P-Spike) necessário aos cálculos de P-BMS, onde foi adicionado 1 mL de solução padrão de fósforo 25 mg L^{-1} e 30 mL da solução de NaHCO_3 $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ a 5 g de solo, e submetidas a agitação horizontal por 60 minutos, seguida de centrifugação a 3000 rpm por 10 minutos. Procedeu-se a correção do pH e a leitura de 5 mL de extrato como descrito acima. A determinação da umidade das amostras foi feita a partir de 10 g de solo pesado em placas de Petri e seco em estufa à $105 \text{ }^\circ\text{C}$ por 24 horas.

Os teores de P presente na biomassa microbiana foram calculados a partir das equações abaixo:

$$P_{liq} = P_I - P_{NI}$$

Onde:

P_{liq} = P líquido

P_I = teor de P na amostra irradiada

P_{NI} = teor de P na amostra não irradiada

$$P_{mic} (\text{mg kg}^{-1}) = \frac{P_{liq}}{Kp} \times \frac{100}{\%Prec}$$

Onde:

$Kp = 0,40$ (fator de correção referente a fração de P extraído pelo NaHCO_3)

%Prec = percentual de P recuperado após agitação do solo com 1 mL de solução 25 mg L⁻¹ de P.

3.4 Quantificação de glomalina

A extração e quantificação da glomalina presente na terra fina seca ao ar (TFSA) foi obtida de acordo com método descrito por Wrigth e Upadhyaya (1996) e Wrigth e Upadhyaya (1998), utilizando o método de Bradford. A GFE foi obtida a partir de 1 g de TFSA em 8 mL de tampão citrato de sódio [20 mM (pH 7,0)], com digestão única em autoclave à 121 °C por 30 min. A solução foi centrifugada a 4000 rpm por 15 minutos e o sobrenadante armazenado para quantificação da proteína. A determinação foi realizada por colorimetria usando como padrão o soro albumina bovina (BSA), e foram obtidos os teores em µg glomalina g⁻¹ solo. Já a fração GT foi obtida por meio de 10 digestões consecutivas, utilizando o tampão citrato de sódio [50 mM (pH 8,0)], com a primeira digestão em autoclave à 121 °C por 90 minutos e as demais por 60 minutos, seguidas de centrifugação como descrito acima, após cada autoclavagem. A determinação também foi realizada por ensaio colorimétrico de Bradford (BRADFORD, 1976) com BSA. As concentrações de ambas as glomalinas foram corrigidas considerando o volume total do sobrenadante.

O carbono da glomalina (C-glomalina) foi calculado baseado na premissa que a glomalina possui 32% de carbono orgânico (LOVELOCK et al., 2004).

3.5 Atividades enzimáticas do solo

As atividades enzimáticas absolutas foram realizadas no Laboratório de Enzimologia e Microbiologia Ambiental (LEMA) da Universidade Federal do Agreste de Pernambuco – UFAPE.

As atividades enzimáticas específicas do solo foram calculadas através da divisão da atividade enzimática absoluta de cada enzimas pelo COS (ACOSTA-MARTÍNEZ et al., 2003; TRASAR-CEPEDA; LEIRÓS; GIL-SOTRES, 2008).

3.5.1 Quantificação da fosfatase ácida e alcalina

A atividade das fosfatases ácidas (FAC) e alcalinas (FAL) (EC 3.1.3) foi efetuada segundo método preconizado por Eivazi e Tabatabai (1977). As amostras de solo (tamisado em peneira de malha de 2 mm e refrigerados) foram pesadas e incubados com tolueno, tampão universal modificado (MUB) (pH 6,5 para FAC e pH 11 para FAL) e solução de ρ -nitrofenil fosfato de sódio (0,025 M), a 37° C por 1 h. Em seguida, adicionou-se CaCl_2 (0,5 M) e NaOH (0,5 M). Por fim, as amostras foram filtradas, e leitura realizada em espectrofotômetro (Libra S22, Biochrom, Cambridge, England) a 400 nm para quantificação do ρ -nitrofenol, que é resultante da hidrólise enzimática de ρ -nitrofenil fosfato. Foi utilizada a curva padrão de ρ -nitrofenol para determinação da concentração enzimática nas amostras. Os valores de atividade foram expressos em μg de ρ -nitrofenol g^{-1} de solo h^{-1} .

3.5.2 Quantificação da urease

A atividade da urease (EC 3.5.1.5) foi determinada segundo método descrito por Kandeler e Gerber (1988). Foram pesadas amostras de solo (tamisado em peneira de malha de 2 mm e refrigerado), adicionou-se solução 75 mmol L^{-1} de tampão borato (pH 10) e solução 80 mmol L^{-1} de ureia e incubou-se por 2 horas em banho-maria à 37°C. Em seguida, foi adicionada solução de cloreto de potássio 1 mol L^{-1} e agitou-se por mais 30 minutos. Centrifugou-se por 10 minutos a 3500 rpm e ao sobrenadante, adicionou-se água destilada, solução de salicilato de sódio e solução 0,1% de ácido dicloroisocianúrico. A leitura foi feita em espectrofotômetro (Libra S22, Biochrom, Cambridge, England) a 690 nm. Foi utilizada a curva padrão de N-NH_4^+ para determinação da concentração enzimática nas amostras. Os valores de atividade foram expressos em μg de N-NH_4^+ g^{-1} de solo h^{-1} .

3.5.3 Quantificação da arilsulfatase

A atividade da arilsulfatase (EC 3.1.6.1) foi determinada pelo método descrito por Tabatabai e Bremner (1972). Adicionou-se tolueno e tampão acetato 0,5 mol L^{-1} nas amostras de solo (tamisado em peneira de malha de 2 mm e refrigerados) e incubou-se com ρ -nitrofenil sulfato 0,05 M a 37 °C por 1h. A leitura foi feita em espectrofotômetro (Libra S22, Biochrom, Cambridge, England) a 410 nm. Foi utilizada a curva padrão de ρ -nitrofenol para determinação

da concentração enzimática nas amostras. Os valores de atividade foram expressos em μg de p-nitrofenol g^{-1} de solo h^{-1} .

3.6 Extração de DNA do solo

A extração do DNA metagenômico das amostras de solo foi realizada a partir de 0,4 g, utilizando o Kit DNeasy PowerSoil (QIAGEN Laboratories, Carlsbad, CA, USA), conforme as instruções do fabricante. A integridade e pureza do DNA foi verificada em eletroforese em gel de agarose 1% em tampão TBE 0,5x (Tris, Borato, EDTA) adicionado ao corante Sybr® Gold (Invitrogen, Breda, The Netherlands). O gel foi submetido a um campo eletroforético de 100 V por 30 minutos. A extração de DNA de todas as amostras de solo foi realizada por Barros (2018).

A quantificação do DNA metagenômico foi realizada para padronizar as concentrações dos produtos da extração a $0,5 \mu\text{g DNA mL}^{-1}$. A quantificação foi feita por fluorimetria utilizando-se um fluorímetro Qubit (Thermo Fisher Scientific).

3.7 Quantificação dos genes *cbbl*, 18S rRNA (fungos totais e micorrízicos) e *phoD* por PCR em tempo real (qPCR)

A abundância dos genes de fixação de carbono, fungos totais, fungos micorrízicos e fosfatase alcalina foi quantificada por qPCR, utilizando como genes alvo o *cbbl*, 18S rRNA (fungo total e micorriza) e *phoD*, respectivamente. Os *primers* e as condições das reações estão descritos na Tabela 2. Um controle negativo foi adicionado em todas as quantificações visando o monitoramento de contaminações

As amplificações foram realizadas em duplicatas, visto já haver três repetições biológicas por tratamento. O volume final de reação foi $10 \mu\text{L}$, contendo $5 \mu\text{L}$ do kit GoTaq® qPCR Master Mix (Promega, USA), $1 \mu\text{L}$ de cada *primers* a 10 mM , $2 \mu\text{L}$ de H_2O livre de nucleases e $1 \mu\text{L}$ de DNA, usando o Rotor-Genne 3000 thermocycler (Corbett Life Science, Australia).

As curvas padrões foram obtidas utilizando diluições seriadas (10^0 a 10^{-4}) de amostras de DNA metagenômico com concentração conhecida. Todas as reações de amplificação apresentaram valores de eficiência entre 98 e 100%, e os valores de R^2 das curvas padrão foram sempre maiores que 0,99.

Tabela 2. *Primers* e condições de ciclagem utilizados para amplificar os genes alvo qPCR

Gene alvo/ <i>Primer</i>	Sequência (5' – 3')	Condições para ciclagem	Referência
<i>cbbI</i> K2f V2r	ACCAYCAAGCCSAAGCTSGG GCCTTCSAGCTTGCCSACCRC	95 °C por 30s, 1 ciclo; 95 °C por 10s, 62 °C por 40s, 72 °C por 30s, 40 ciclos	Yuan et al. (2013)
Fungos totais (18S rRNA) ITS1f 5.8S	CTTGGTCATTTAGAGGAAGTAA CGCTGCGTTCTTCATCG	95 °C por 5 min, 1 ciclo; 95 °C por 10s, 60 °C por 10s, 72 °C por 30s, 40 ciclos	Fierer et al. (2005)
Micorriza (18S rRNA) AMV4.5NF AMDGR	AAGCTCGTAGTTGAATTTTCG CCCAACTATCCCTATTAATCAT	95 °C por 20s, 1 ciclo; 95 °C por 10s, 62 °C por 15s, 72 °C por 15s, 30 ciclos	Sato et al. (2005)
<i>phoD</i> ALPS-F7305 ALPS- R11015	CAGTGGGACGACCACGAGGT GAGGCCGATCGGCATGTTCG	94 °C por 4 min, 1 ciclo; 94 °C por 45s, 57 °C por 30s, 72 °C por 1 min, 40 ciclos	Sakurai et al. (2008)

3.8 Análise estatística

Os resultados obtidos foram analisados através da ANOVA e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 10% de probabilidade por meio do programa estatístico SISVAR 5.6 (FERREIRA, 2014).

O coeficiente de correlação de Pearson foi usado para verificar a relação entre atributos do solo e características microbiológicas. A análise de componentes principais (ACP) foi aplicada para verificar a formação do agrupamento dos tratamentos e sua associação com os atributos do solo e análises microbiológicas, e nestes casos, foi utilizado o programa estatístico PAST (HAMMER; HARPER; RYAN, 2001). As variáveis com carga maior do que 0.5 foram consideradas importantes contribuintes para definir cada componente principal.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Fósforo da biomassa microbiana

A estimativa média de P-mic no SSP com leguminosas variou de 1,56 a 5,73 mg kg⁻¹ na estação seca e de 4,63 a 8,10 mg kg⁻¹ na estação chuvosa (Figura 3). Os maiores teores de P-mic foram observados com sabiá, principalmente na linha da leguminosa (0 m). A sombra promovida pela copa do sabiá foi provavelmente responsável pelo aumento no P-mic, pois altera o microclima e estabelece um ambiente mais agradável para a permanência dos animais, promovendo um maior depósito de excretas ao solo. Le Noë, Billen e Garnier (2017) relatam que o aumento do pastejo abaixo das árvores promove um acúmulo de P em áreas agroflorestais maior do que em pastagem devido à exportação direta de P por meio de esterco, implicando em uma transferência de P para o agrossistema. Além disso, o sombreamento permite a manutenção da umidade do solo por mais tempo (LIMA et al., 2020), estimulando a atividade microbiana no solo (CABRAL et al., 2017; BARROS et al., 2018; LIRA JUNIOR et al., 2020b).

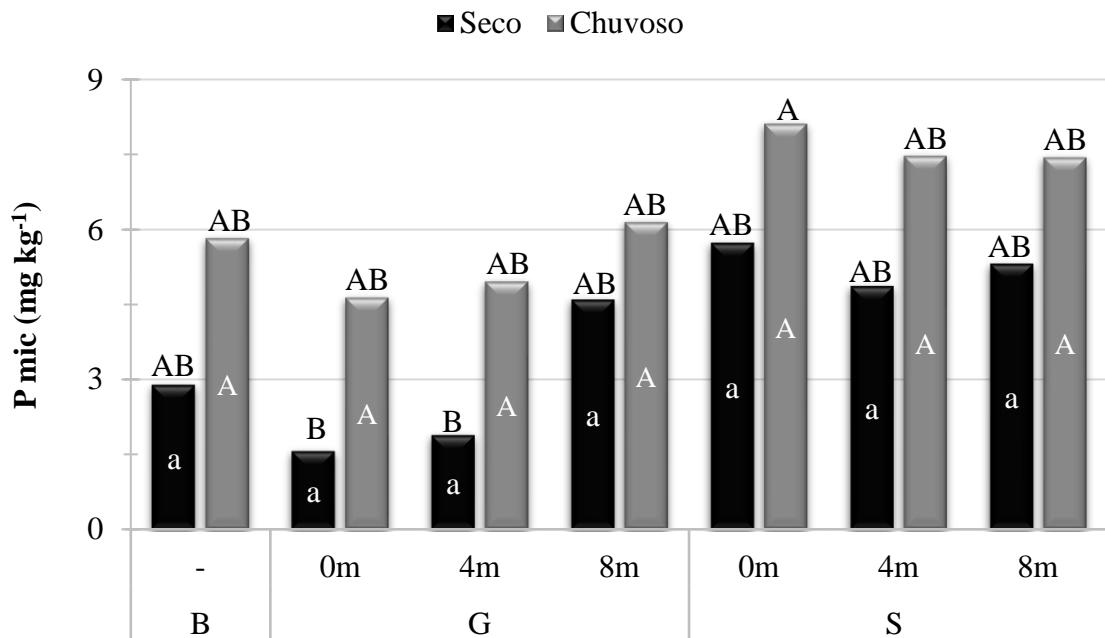


Figura 3. Teores de P da biomassa microbiana do solo (mg kg⁻¹) do sistema silvipastoril estabelecido com braquiária (B), consórcios de braquiária com gliricídia (G) e sabiá (S), sob variação sazonal. 0, 4 e 8m representa a distância das linhas de leguminosas. Colunas com letras escuras diferentes diferem entre si na comparação das combinações entre tratamento e época do ano ao nível de 10% pelo teste de Tukey. Colunas com letras brancas minúsculas e maiúsculas idênticas não diferem entre si na comparação entre tratamentos para as estações seca e chuvosa, respectivamente, ao nível de 10% pelo teste de Tukey

Os menores teores de P-mic com glicírdia, principalmente nas faixas 0 e 4 m, podem ser decorrentes da maior palatabilidade da forragem e rapidez na decomposição dos resíduos vegetais por ter uma composição mais lábil (APOLINÁRIO et al., 2016; DE SÁ et al., 2017) e mineralização mais rápida dos nutrientes em relação ao sabiá (SILVA et al., 2013), que apresenta uma taxa de decomposição mais lenta devido a maior presença de compostos fenólicos na sua serapilheira (LIMA et al., 2020).

Apesar de não avaliado neste trabalho, o efeito direto de exsudação radicular, qualidade e quantidade da serapilheira também pode ter influenciado os teores de P-mic. Um maior acúmulo de serapilheira do sabiá em relação a glicírdia e a braquiária em monocultivo foi relatado por Silva et al. (2013), o que também explica os maiores teores do P-mic nas áreas de consórcio com sabiá, do mesmo modo que o aumento nos níveis de compostos orgânicos no solo aumenta a biomassa microbiana do solo (SERAKAN et al., 2020).

Na estação chuvosa, o valor médio de P-mic foi 172% maior do que na estação seca, com diferença mais expressiva nos tratamentos com glicírdia de 0 e 4 m, que aumentaram 297 e 263% da estação seca para a chuvosa de respectivamente (Figura 3). Este aumento pode ser explicado pelo maior conteúdo de água no solo que favorece a atividade microbiana. Geralmente, o metabolismo microbiano no solo encontra-se mais ativo sob condições de maior presença de água no solo. Assim, a umidade do solo é um fator que pode interferir fortemente em mudanças na atividade e composição da comunidade microbiana (YAO et al., 2017), visto que os processos metabólicos realizados pelos micro-organismos são dependentes da umidade do solo (HALECKI; GASIOREK, 2015).

4.2 Quantificação de glomalina

Houve uma variação de 1,00 a 1,08 mg g⁻¹ na estação seca e de 0,97 a 1,19 mg g⁻¹ na estação chuvosa nos teores de GFE, não havendo diferença significativa entre os tratamentos ($p > 0,10$) (Tabela 3), enquanto GT variou de 1,86 a 2,14 mg g⁻¹ na estação seca e de 2,03 a 2,33 mg g⁻¹ na estação chuvosa também sem diferença significativa (Tabela 3).

Tabela 3. Quantificação de glomalina facilmente extraível do solo, glomalina total e carbono da glomalina (mg g^{-1}) do sistema silvipastoril estabelecido com braquiária (B), consórcios de braquiária com gliricídia (G) e sabiá (S), sob variação sazonal

Tratamentos/ distância	Glomalina facilmente extraível	Glomalina total	Carbono da glomalina
	mg g^{-1}		
Estação seca			
B	1,034Aa	1,943Aa	0,622Aa
G+B 0 m	1,040Aa	2,038Aa	0,652Aa
G+B 4 m	1,069Aa	1,862Aa	0,596Aa
G+B 8 m	1,021Aa	1,883Aa	0,602Aa
S+B 0 m	0,997Aa	2,038Aa	0,652Aa
S+B 4 m	1,078Aa	2,061Aa	0,660Aa
S+B 8 m	0,999Aa	2,142Aa	0,686Aa
Estação chuvosa			
B	0,980Aa	2,250Aa	0,720Aa
G+B 0 m	1,106Aa	2,331Aa	0,746Aa
G+B 4 m	1,086Aa	2,031Aa	0,650Aa
G+B 8 m	0,967Aa	2,237Aa	0,716Aa
S+B 0 m	1,101Aa	2,233Aa	0,715Aa
S+B 4 m	1,186Aa	2,237Aa	0,716Aa
S+B 8 m	1,071Aa	2,196Aa	0,703Aa

Distâncias 0, 4 e 8 metros em Gliricídia+Braquiária e Sabiá+Braquiária. Letra maiúscula idêntica não diferem entre si na comparação das combinações entre tratamento e época do ano ao nível de 10% pelo teste de Tukey. Letra minúscula idêntica não diferem entre si na comparação entre tratamentos para as estações seca e chuvosa ao nível de 10% pelo teste de Tukey.

A presença de vegetação em todos os tratamentos avaliados favoreceu a produção de glomalina, independentemente da composição da pastagem.

As concentrações de GFE e GT estão próximas daquelas encontradas por Santos et al. (2020), ao estudarem a influência de pastagens e leguminosas como coberturas vegetais do solo. O incremento no depósito de serapilheira pelas leguminosas cria um microambiente propício para o crescimento microbiano, resultando no aumento de metabólitos de origem microbiana e vegetal, dentre eles estão as glomalinas (SANTOS et al., 2020), indicando uma tendência de enriquecimento do solo com compostos orgânicos (GISPERT et al., 2018).

A presença de esterco também favorece o acúmulo de glomalina no solo (BALOTA et al., 2016), o que explicaria o sutil aumento das concentrações de glomalina nas parcelas com leguminosas devido a melhoria no microclima promovido pelas copas das árvores (LIMA et al., 2020), e conseqüentemente maior tempo de permanência dos animais e presença de esterco.

O aumento na concentração de glomalina total na estação chuvosa é decorrente da influência da maior umidade na atividade fúngica, e conseqüentemente, a produção de glomalina que está diretamente ligada a presença de hifas de fungos micorrízicos (CHI; WU, 2017; GISPERT et al., 2018). Isto será refletido na qualidade do solo por meio da estabilidade de agregados, prevenção de perda de solo e conseqüentemente de nutrientes e enzimas, melhorando a estrutura do solo, retenção de água e saúde do ecossistema (SHARIFI et al., 2018; ŠARAPATKA; ALVARADO-SOLANO; ČIŽMÁR, 2019).

É interessante observar que $0,67 \text{ mg g}^{-1}$ de C no solo, em média, é oriundo da glomalina (Tabela 3). Em geral, a glomalina é responsável pelo suprimento de cerca de 3% do teor de C no solo (LOVELOCK et al., 2004; SEGUEL et al., 2008) enquanto os resultados do presente trabalho demonstram que no período chuvoso, a glomalina contribuiu com $0,71 \text{ mg g}^{-1}$ de C, que corresponde a aproximadamente 2% do teor de C total do solo do SSP estudado (BARROS, 2018), indicando que a glomalina pode contribuir no processo de estocagem de C no solo deste agrossistema (SANTOS et al., 2020; STAUNTON et al., 2020).

O coeficiente de correlação linear de Pearson demonstrou uma correlação fortemente negativa (-0,73) entre o COS e a concentração de GT e C-glomalina e uma correlação fortemente positiva entre P-mic e GT (0,66) (Figura 4). A correlação negativa com o COS deve-se à concentração de glomalina no solo diminuir mais lentamente do que a MOS (STAUNTON et al., 2020), pois a glomalina é composta por uma grande diversidade de substâncias orgânicas e inorgânicas que confere uma maior estabilidade no processo de degradação (WANG et al., 2015). Além disso, o C da glomalina faz parte de uma fração distinta da matéria orgânica do solo (STAUNTON et al., 2020), pois apesar da origem primariamente fúngica, também pode ser originário de processos ligados a decomposição e mineralização da MOS e/ou ser sintetizada pela atividade de outros micro-organismos do solo (CISSÉ et al., 2020), por isso sua origem e natureza química devem ser melhor exploradas (STAUNTON et al., 2020).

Já a alta correlação positiva do P-mic com a glomalina total pode ser explicada pelo fato dos fungos micorrízicos serem capazes de manter o equilíbrio de P nas suas redes de hifas antes de disponibilizar o nutriente para as plantas (FELLBAUM et al., 2014), demonstrando que o P-mic poderia ser usado como indicador da presença de glomalina no solo.

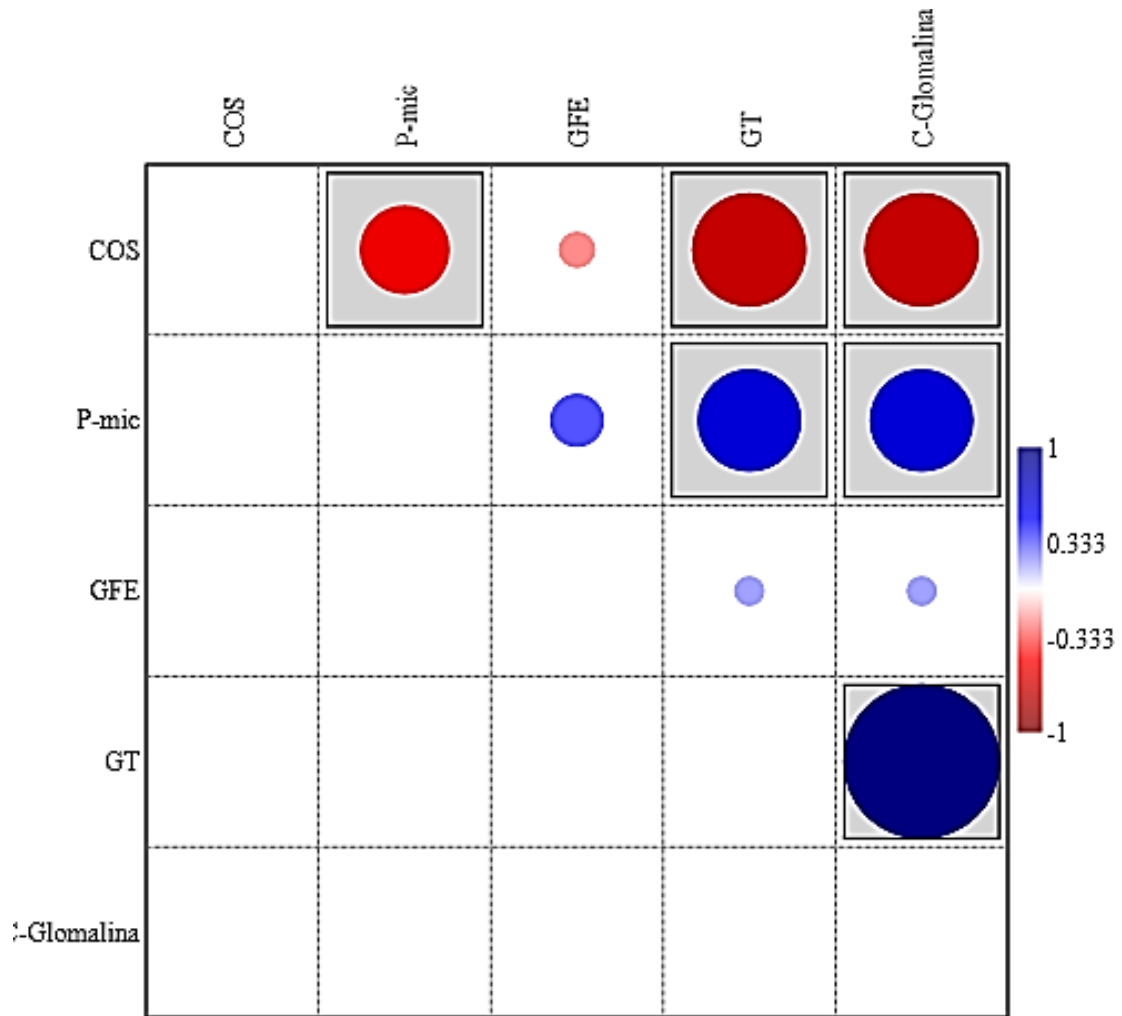


Figura 4. Correlação linear de Pearson entre carbono orgânico do solo (COS), fósforo da biomassa microbiana (P-mic), glomalina facilmente extraível (GFE), glomalina total (GT) e carbono da glomalina (C-glomalina) do solo do SSP. Círculos dentro de caixas indicam efeito significativo ($p < 0,05$)

4.3 Atividades enzimáticas absoluta e específica do solo

4.3.1 Fosfatases ácida e alcalina

A atividade absoluta da FAC variou de 32 a 84 $\mu\text{g PNP g}^{-1}$ solo h^{-1} na estação seca e de 27 a 58 $\mu\text{g PNP g}^{-1}$ solo h^{-1} na estação chuvosa (Figura 5a). Os maiores valores foram observados na estação seca, exceto para ambas leguminosas na faixa 0 m, destacando-se a atividade na braquiária pura com aumento de 109% em relação à média dos demais tratamentos ($p < 0,10$). Já na estação chuvosa, as maiores atividades absolutas da FAC foram encontradas nas linhas das leguminosas.

A atividade específica da FAC por unidade de COS variou entre 0,73 e 2,1 $\mu\text{g g}^{-1}$ COS na estação seca e entre 0,90 e 1,93 $\mu\text{g g}^{-1}$ COS na estação chuvosa. Foi encontrada uma tendência de maiores atividades específicas na estação chuvosa, exceto para braquiária em monocultivo e sabiá a uma distância de 8 m (Figura 5b). Na estação seca a atividade específica da FAC na braquiária em monocultivo correspondeu a 230% da atividade média dos demais tratamentos ($p < 0,10$), enquanto no período chuvoso, a atividade específica na gliricídia 0 m equivaliu a 152% das médias dos demais tratamentos ($p < 0,10$).

As maiores atividades absoluta e específica da FAC na área de braquiária solteira na estação seca podem ser decorrentes da melhor distribuição de raízes finas da gramínea nas camadas superficiais do solo e incorporação de carbono (SARTO et al., 2020). Já no período chuvoso, o aumento de ambas as atividades da FAC nas linhas das leguminosas pode ser decorrente do aumento da biomassa e atividade microbiana no solo, como relatado por Lira Junior et al. (2020b) em trabalho na mesma área e época do presente estudo, assim como pelo maior requerimento de P para fixação de N, havendo uma maior liberação da FAC (MASEKO; DAKORA, 2013).

O período de chuvas promove aumento no crescimento das plantas, o que resulta em maior biomassa acima do solo e pode acelerar os processos de decomposição e mineralização da matéria orgânica do solo, favorecendo o aumento na excreção de enzimas hidrolíticas (CUI et al., 2020). O maior aporte de serapilheira sob a copa das leguminosas também aumenta a disponibilidade de nutrientes no solo, promovendo a presença de “ilhas de fertilidade” (VALLEJO et al., 2012), aumentando a atividade enzimática diante das alterações na quantidade e qualidade da serapilheira e no microclima (MUNGAI et al., 2005).

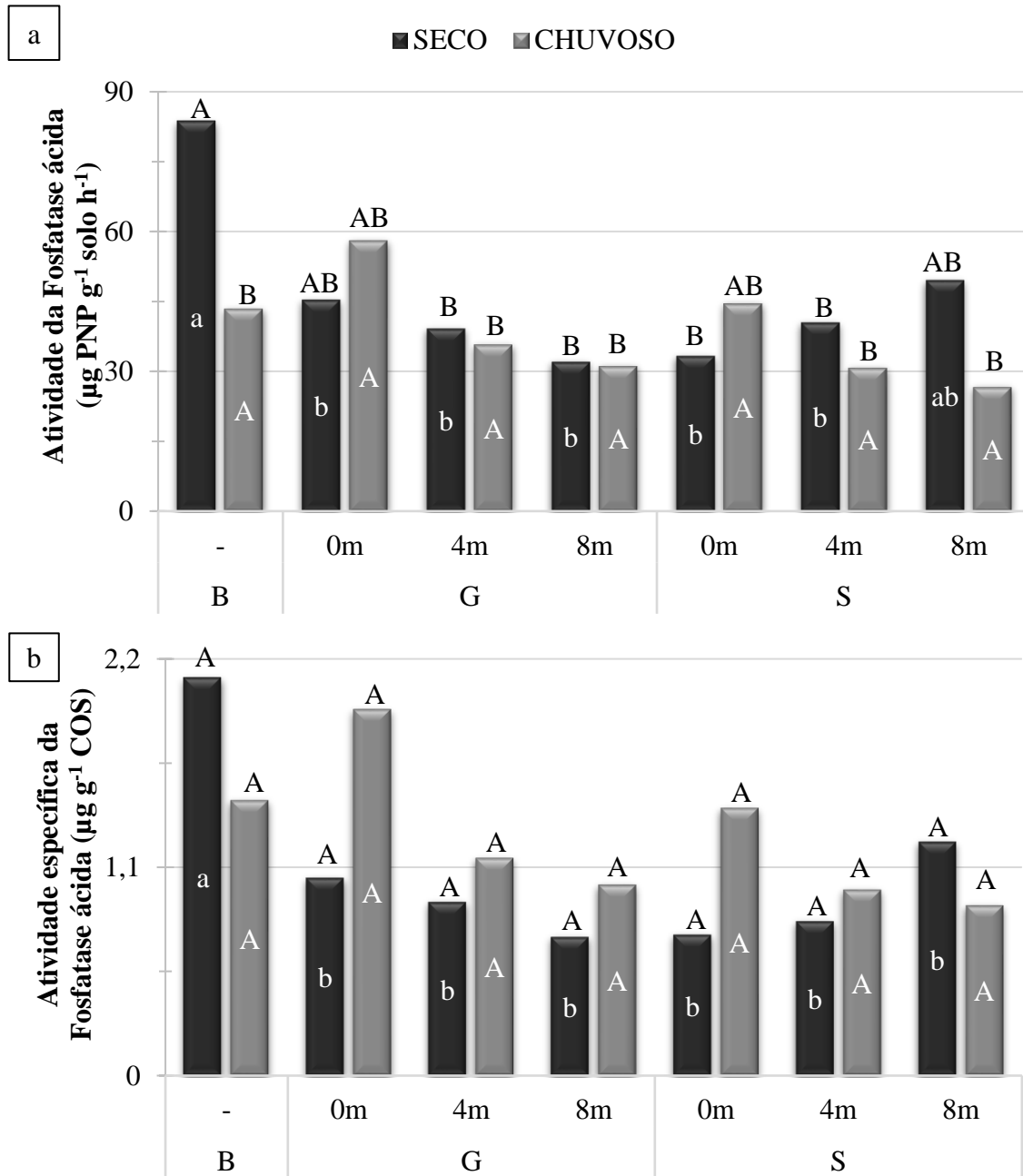


Figura 5. Atividade enzimática absoluta (a) e específica (b) por unidade de COS ($\mu\text{g g}^{-1} \text{ COS}$) da fosfatase ácida no solo do sistema silvipastoril estabelecido com braquiária (B), consórcios de braquiária com glicíndia (G) e sabiá (S), sob variação sazonal. 0, 4 e 8m representa a distância das linhas de leguminosas. Colunas com letras escuras diferentes diferem entre si na comparação das combinações entre tratamento e época do ano ao nível de 10% pelo teste de Tukey. Colunas com letras brancas minúsculas e maiúsculas idênticas não diferem entre si na comparação entre tratamentos para as estações seca e chuvosa, respectivamente, ao nível de 10% pelo teste de Tukey

Houve uma diminuição das atividades absoluta e específica da FAC com o aumento da distância em relação às leguminosas, exceto para sabiá na estação seca (Figura 5 a e b). Isto provavelmente ocorre devido à menor taxa de infiltração de água com o distanciamento das linhas das leguminosas (LIMA et al., 2018), visto que a associação umidade do solo e

sombreamento nas linhas das leguminosas favorece a atividade da fosfatase ácida (MENEZES et al., 2019). Além disso, a concentração e estoque de N no solo deste SSP diminui com o distanciamento das linhas das leguminosas (LIRA JUNIOR et al., 2020a), explicando a redução da atividade da FAC, visto que as fosfatases são ricas em N e sensíveis a mudanças nos teores de N e P do solo (MARKLEIN; HOULTON, 2012).

A atividade absoluta da FAC correlacionou positivamente com COS (0,10), N-NH₄⁺ (0,33) e P disponível (0,14), já a atividade específica da FAC por unidade de COS apresentou maior correlação com pH do solo (0,35) e N-NH₄⁺ (0,40) (Figura 6).

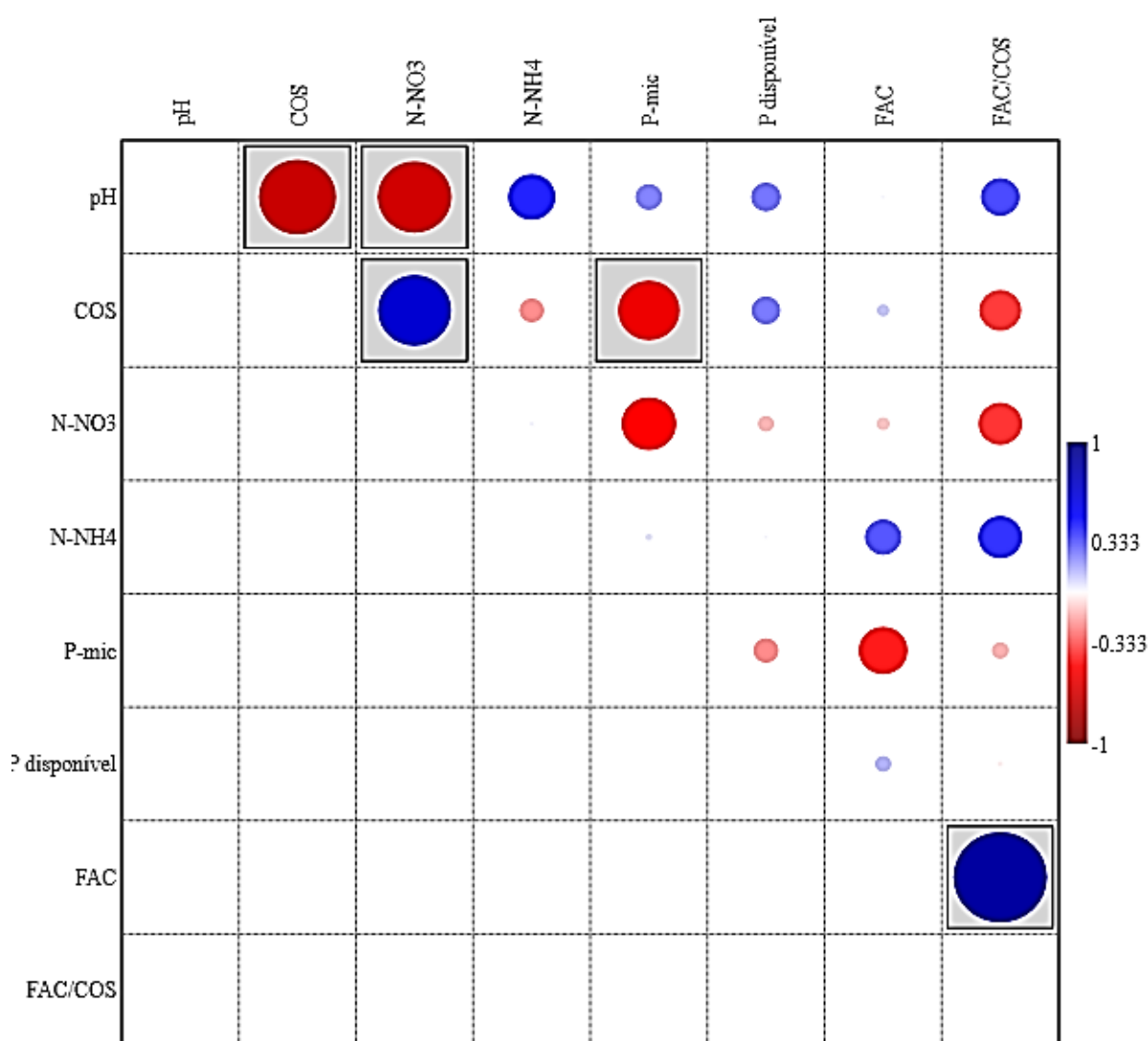


Figura 6. Correlação linear de Pearson entre as atividades enzimáticas absoluta e específica da fosfatase ácida (FAC e FAC/COS) e atributos do solo do SSP. Círculos dentro de caixas indicam efeito significativo ($p < 0,05$). COS = carbono orgânico do solo e P-mic = fósforo da biomassa microbiana no solo

A baixa correlação da FAC com o P disponível não deixa clara a relação da atividade desta enzima com os níveis de P presentes no solo, como enfatizado por Silva et al. (2019). Ao passo que, a correlação de ambas FAC com o N-NH_4^+ pode ser explicada pelo fato das comunidades microbianas utilizam o C e N para aumentarem a produção das enzimas associadas ao metabolismo do P, em situação de deficiência de P, e conseqüentemente, disponibilizar mais P no solo (MARKLEIN; HOULTON, 2012). E a correlação positiva com o pH do solo deve-se ao fato deste estar entre ácido a levemente ácido em todas as parcelas do SSP e a atividade desta enzima aumenta com o aumento da acidez do solo (SILVA et al., 2019).

Para FAL, foi observado uma variação média na sua atividade absoluta de 9,3 a 18,5 $\mu\text{g PNP g}^{-1}$ solo h^{-1} na estação seca e de 9,3 a 16,6 $\mu\text{g PNP g}^{-1}$ solo h^{-1} na estação chuvosa (Figura 7a). Na estação seca, todas as distâncias com sabiá e a parcela de gliricídia 4 m apresentam atividades absoluta e específica da FAL maiores que a braquiária em monocultivo. Já na estação chuvosa, todas as parcelas com leguminosas apresentaram maiores atividades absolutas (Figura 7a) e relativas (Figura 7b) da FAL em relação a braquiária pura ($p > 0,10$).

A atividade específica da FAL por unidade de COS variou entre 0,22 e 0,42 $\mu\text{g g}^{-1}$ COS na estação seca e entre 0,32 e 0,59 $\mu\text{g g}^{-1}$ COS na estação chuvosa, com maiores atividades específicas nos sabiá (0, 4 e 8 m) e gliricídia 4 m no período seco, e nas parcelas de ambas leguminosas em todas as distâncias no período chuvoso (Figura 7b).

O aumento na biomassa e atividade microbiana no solo nas parcelas com leguminosas na estação chuvosa (LIRA JUNIOR et al., 2020b) explica o aumento nas atividades absolutas e específicas da FAL no SSP, visto que a origem da FAL é exclusivamente microbiana.

A introdução de leguminosas no SSP influenciou na atividade da FAL no solo, como observado por Acosta-Martinez, Cano e Johnson (2018) ao relatarem que a atividade específica da FAL por unidade de COS apresenta alta sensibilidade em distinguir mudanças no uso da terra. O aumento na disponibilidade e estoque de C e N promovido pelas leguminosas (LIRA JUNIOR et al., 2020a) também reflete na atividade da FAL, visto que esta enzima é altamente responsiva a mudanças na disponibilidade de C, N e P no solo, como estratégia dos micro-organismos a mudanças nos ciclos biogeoquímicos no solo (CHEN et al., 2019b).

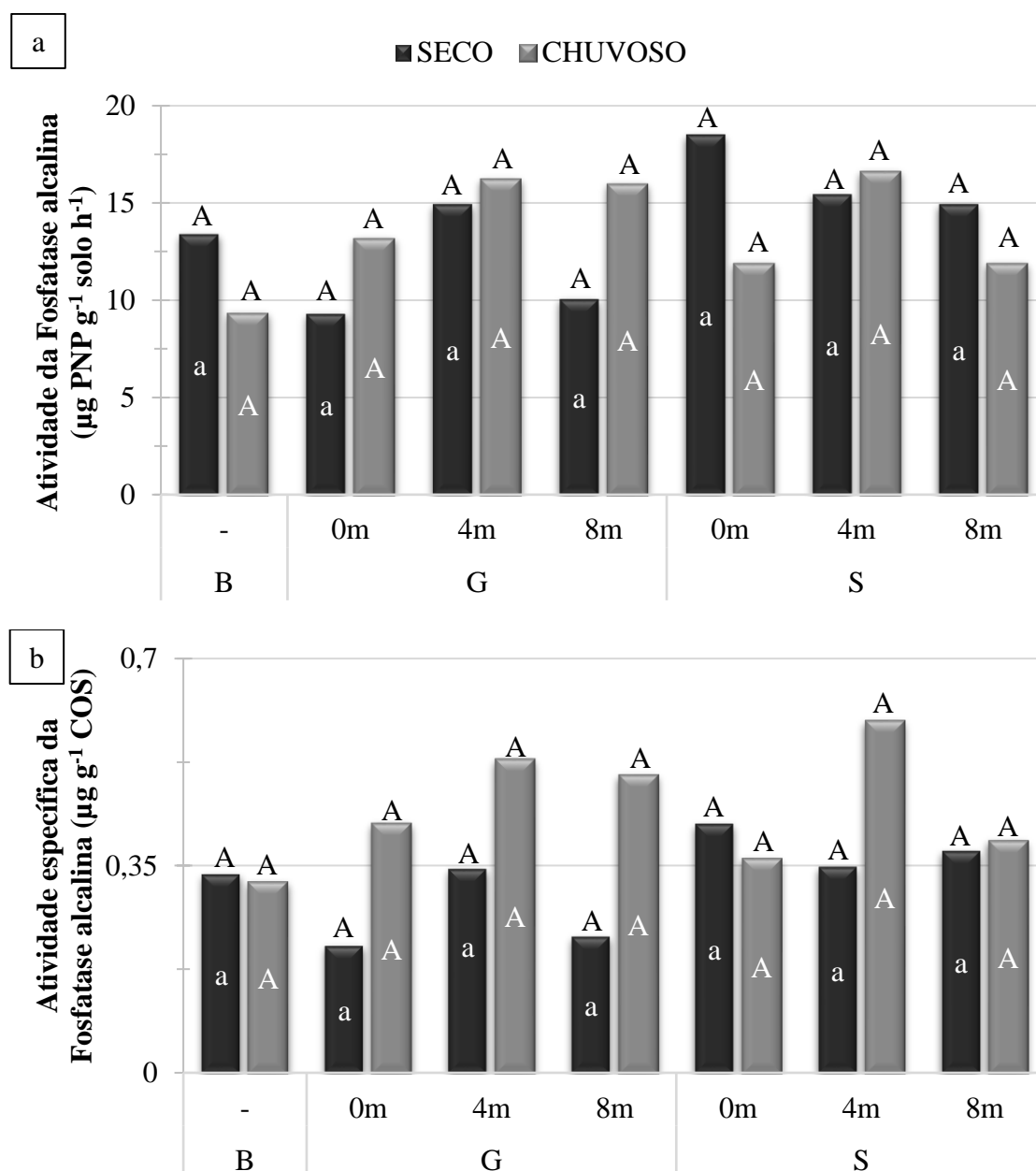


Figura 7. Atividade enzimática absoluta (a) e específica (b) por unidade de COS ($\mu\text{g g}^{-1} \text{ COS}$) da fosfatase alcalina no solo do sistema silvipastoril estabelecido com braquiária (B), consórcios de braquiária com gliricídia (G) e sabiá (S), sob variação sazonal. 0, 4 e 8m representa a distância das linhas de leguminosas. Colunas com letras escuras idênticas não diferem entre si na comparação das combinações entre tratamento e época do ano ao nível de 10% pelo teste de Tukey. Colunas com letras brancas minúsculas e maiúsculas idênticas não diferem entre si na comparação entre tratamentos para as estações seca e chuvosa, respectivamente, ao nível de 10% pelo teste de Tukey

O coeficiente de correlação linear entre as atividades enzimáticas da FAL e os atributos do solo, demonstrou uma correlação positiva da atividade específica da FAL com o P-mic (0,57), e correlação negativa entre FAL específica e P disponível (-0,37) (Figura 8). Isto deve-se à produção de fosfatase alcalina estar ligada exclusivamente à atividade microbiana e ser induzida pela limitação de P no solo (FRASER et al., 2015), ao passo que a correlação negativa

entre FAC e P-mic (-0,45) (Figura 6) deve-se à FAC poder ter origens vegetal ou microbiana, e por isso a FAC se correlacionou melhor com o P disponível, já que o P-mic é produto exclusivo de origem microbiana.

Em solos muito intemperizados, o P presente na biomassa microbiana pode ser a principal fonte de P disponível para as plantas (ULLAH et al., 2013), explicando a correlação positiva entre FAL específica e P-mic. Além disso, o aumento de P-mic e FAL em áreas com presença de leguminosas deve-se a maior interação de micro-organismos solubilizadores de fosfatos com as leguminosas em comparação com gramíneas (ULLAH et al., 2012;2013).

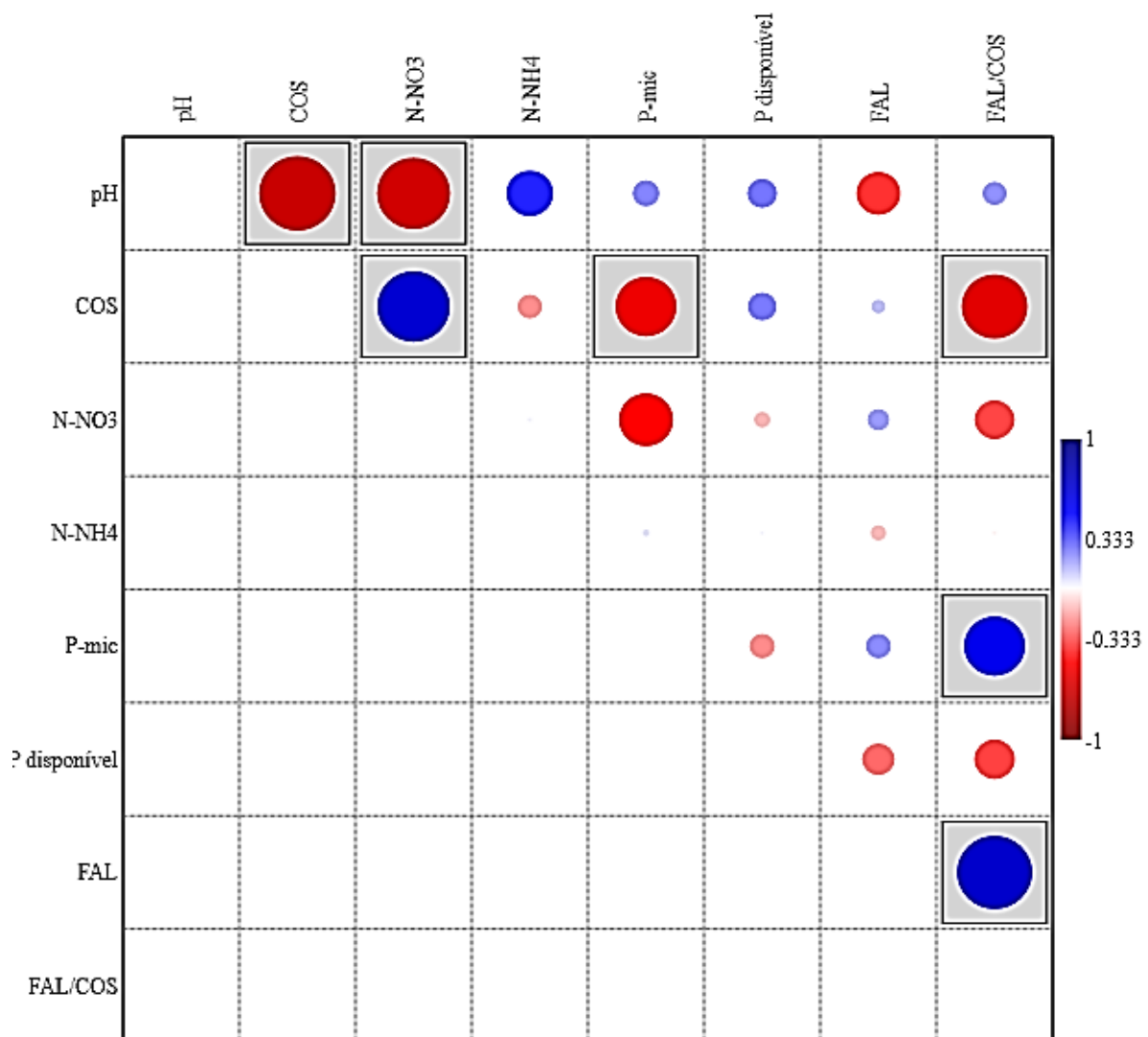


Figura 8. Correlação linear de Pearson entre as atividades enzimáticas absoluta e específica da fosfatase alcalina (FAL e FAL espec.) e atributos do solo do SSP. Círculos dentro de caixas indicam efeito significativo ($p < 0,05$). COS = carbono orgânico do solo e P-mic = fósforo da biomassa microbiana no solo

4.3.2 Quantificação da urease

A atividade da urease variou de 10,7 a 21,8 $\mu\text{g N-NH}_4^+ \text{g}^{-1} \text{ solo h}^{-1}$ na estação seca e de 7,1 a 21,2 $\mu\text{g N-NH}_4^+ \text{g}^{-1} \text{ solo h}^{-1}$ na estação chuvosa (Figura 9a). Os maiores valores foram observados na estação seca, exceto para sabiá na faixa 0 m. E as maiores atividades foram encontradas na braquiária em monocultivo em ambas estações climáticas ($p < 0,10$).

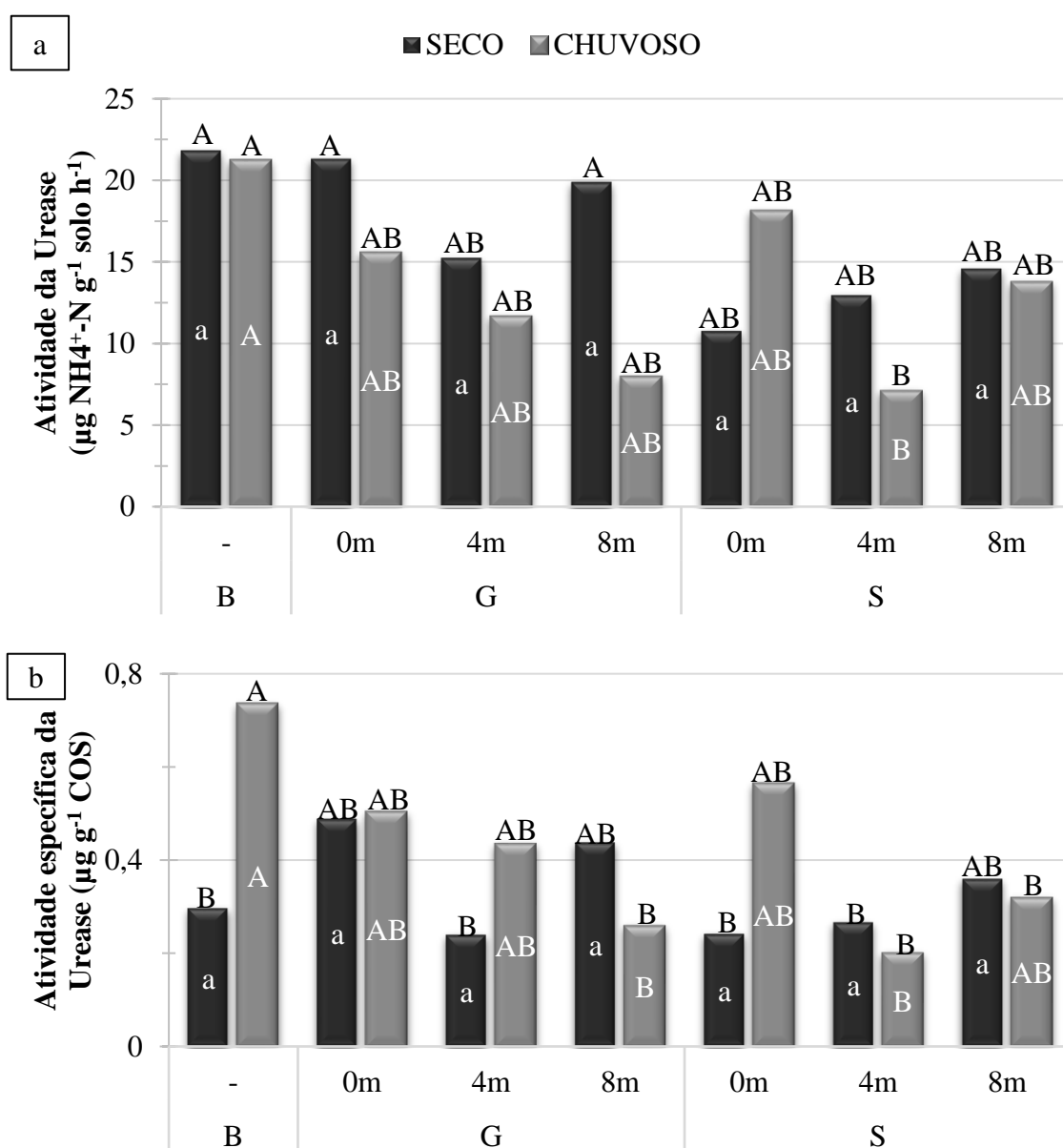


Figura 9. Atividade enzimática absoluta (a) e específica (b) por unidade de COS ($\mu\text{g g}^{-1} \text{ COS}$) da urease no solo do sistema silvipastoril estabelecido com braquiária (B), consórcios de braquiária com glirícidia (G) e sabiá (S), sob variação sazonal. 0, 4 e 8m representa a distância das linhas de leguminosas. Colunas com letras escuras diferentes diferem entre si na comparação das combinações entre tratamento e época do ano ao nível de 10% pelo teste de Tukey. Colunas com letras brancas minúsculas e maiúsculas diferentes diferem entre si na comparação entre tratamentos para as estações seca e chuvosa, respectivamente, ao nível de 10% pelo teste de Tukey

Com relação à atividade específica da urease por unidade de COS, foi observado uma variação média de 0,24 a 0,49 $\mu\text{g g}^{-1}$ COS na estação seca e de 0,20 a 0,73 $\mu\text{g g}^{-1}$ COS na estação chuvosa, com maior atividade na braquiária na estação chuvosa ($p < 0,10$) (Figura 9b).

A introdução das leguminosas no SSP promoveu redução da atividade da urease em relação à braquiária solteira, possivelmente pela menor disponibilidade de N neste último sistema, e consequente estímulo da síntese da urease para aumentar a disponibilização do nutriente. Barros et al. (2021), estudando a presença de bactérias amônio-oxidantes neste mesmo SSP, observaram maior abundância na braquiária solteira em relação a média das parcelas com leguminosas, o que poderia explicar a maior atividade da urease na braquiária, visto que muitas bactérias amônio-oxidantes são produtoras de urease (KOPER et al., 2004) e que uma maior presença de amônia induz um maior crescimento de bactérias quimiolitotróficas, tais como as bactérias amônio-oxidantes (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006).

O sombreamento promovido pela copa das leguminosas juntamente com a temperatura mais amena na estação chuvosa também podem ter influenciado na redução da atividade da urease, já que Menezes et al. (2019), ao estudar o efeito do sombreamento promovido por árvores no SSP sobre as propriedades biológicas do solo, observaram que a atividade da urease foi maior sob condições de plena radiação solar.

Outra possibilidade é que a decomposição mais rápida da serapilheira da gliricídia em relação ao sabiá (APOLINÁRIO et al., 2015), e consequentemente disponibilização mais rápida de N, pode estar relacionado com os menores valores da atividade da urease no período chuvoso, visto que o aumento na disponibilidade de água no solo melhora a decomposição da serapilheira e a liberação de nutrientes ao solo (CUI et al., 2020).

A inversão de comportamento das atividades absoluta e específica da urease na braquiária solteira entre as estações seca e chuvosa deve-se ao fato do COS ser reduzido a uma taxa maior do que a atividade enzimática no período chuvoso, consequência principalmente da perda da forma mais lábil da COS (SILVA et al., 2019).

A correlação de Pearson mostra uma correlação positiva entre a atividade da urease, N-NH₄⁺ (0,33), P disponível (0,37) e COS (0,20), já a atividade específica urease/COS se correlaciona positivamente com o pH (0,50) e N-NH₄⁺ (0,45) (Figura 10). A correlação positiva da urease com o N-NH₄⁺, demonstra a importância desta enzima no ciclo do N, uma vez que o aumento na atividade da urease resulta na maior mineralização do N e consequentemente aumento na disponibilidade do nutriente (BOWLES et al., 2014). A correlação positiva entre atividade da urease e COS é esperada, uma vez que a atividade desta enzima está intimamente relacionada a decomposição da matéria orgânica do solo (VINHAL-FREITAS et al., 2017). E

como já relatado anteriormente, a disponibilidade de P está correlacionada com a disponibilidade de N, visto que as comunidades microbianas utilizam o N para aumentarem a produção das enzimas associadas ao metabolismo do P, e conseqüentemente, disponibilizar mais P no solo (MARKLEIN; HOULTON, 2012).

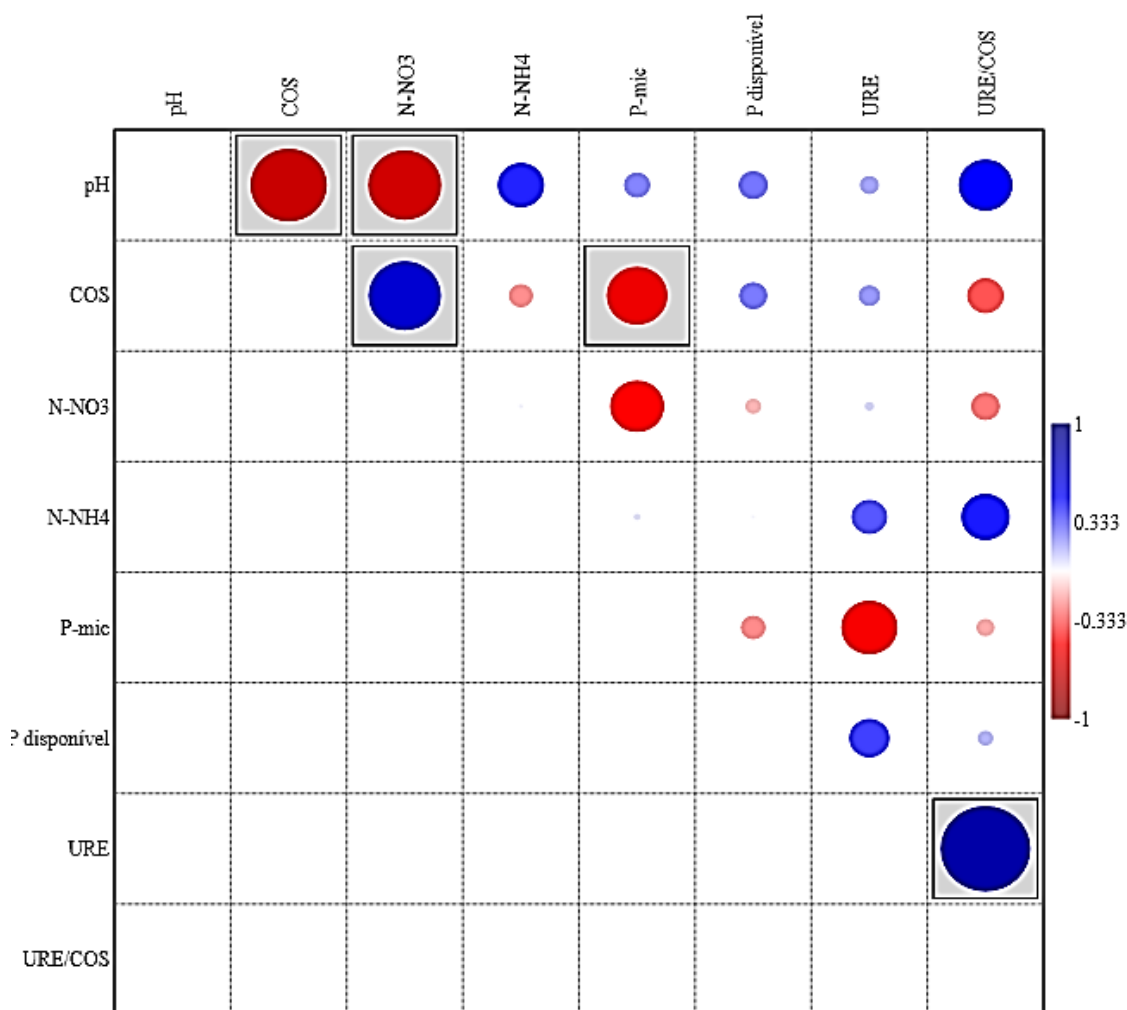


Figura 10. Correlação linear de Pearson entre as atividades enzimáticas absoluta e específica da urease e atributos do solo do SSP. Círculos dentro de caixas indicam efeito significativo ($p < 0,05$). COS = carbono orgânico do solo e P-mic = fósforo da biomassa microbiana no solo

4.3.3 Quantificação da arilsulfatase

A atividade da arilsulfatase variou de 5,8 a 9,5 $\mu\text{g PNP g}^{-1}$ solo h^{-1} na estação seca e de 1,5 a 6,4 $\mu\text{g PNP g}^{-1}$ solo h^{-1} na estação chuvosa (Figura 11a). Os maiores valores foram observados na estação seca, com destaque para ambas leguminosas a 8 m de distância e para a braquiária solteira que apresentaram as maiores atividades. Na estação chuvosa, as maiores atividades foram no sabiá a 4 m e gliricídia 4 e 8 m. Com relação ao distanciamento da linha

das leguminosas, a atividade da arilsulfatase aumentou com a distância em ambas estações, exceto para sabiá 8 m no período chuvoso ($p < 0,10$).

Com relação a atividade específica da arilsulfatase por unidade de COS, foi observado uma variação média de 0,13 a 0,22 $\mu\text{g g}^{-1}$ COS na estação seca e de 0,05 a 0,21 $\mu\text{g g}^{-1}$ COS na estação chuvosa (Figura 11b).

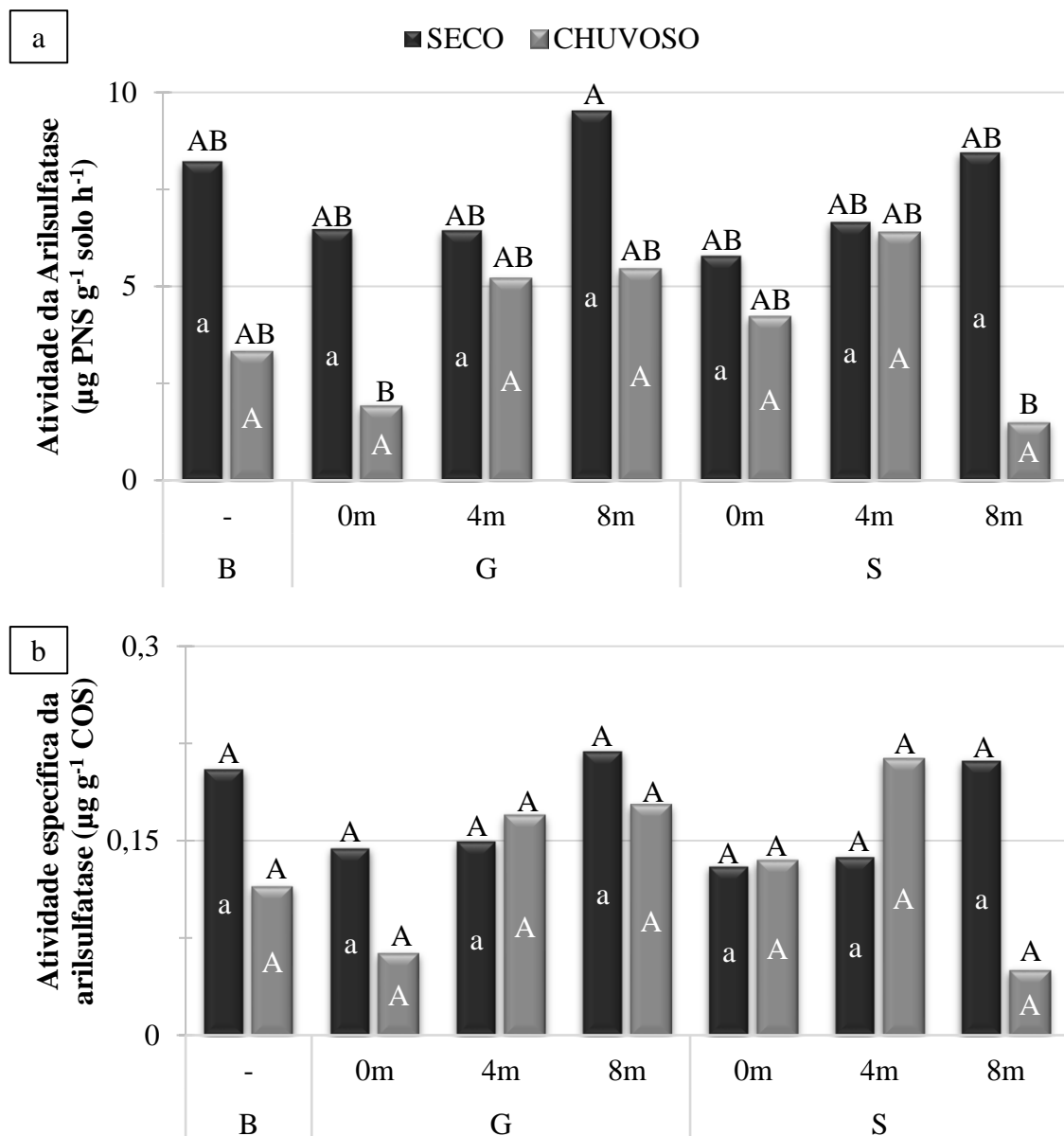


Figura 11. Atividade enzimática absoluta (a) e específica (b) por unidade de COS ($\mu\text{g g}^{-1}$ COS) da arilsulfatase no solo do sistema silvipastoril estabelecido com braquiária (B), consórcios de braquiária com glicírdia (G) e sabiá (S), sob variação sazonal. 0, 4 e 8m representa a distância das linhas de leguminosas. Colunas com letras escuras diferentes diferem entre si na comparação das combinações entre tratamento e época do ano ao nível de 10% pelo teste de Tukey. Colunas com letras brancas minúsculas e maiúsculas idênticas não diferem entre si na comparação entre tratamentos para as estações seca e chuvosa, respectivamente, ao nível de 10% pelo teste de Tukey

O SSP beneficiou a atividade da arilsulfatase, como observado por Damian et al. (2021) ao estudarem SSPs de climas tropical úmido, tropical médio e subtropical. O aumento da atividade da arilsulfatase com o aumento do distanciamento das linhas das leguminosas está de acordo com Laroca et al. (2018), que enfatizam que a gramínea consorciada com leguminosa promove melhoria nas comunidades microbianas quando comparada com a gramínea em monocultivo, e isto contribui para o aumento da atividade da arilsulfatase.

As menores atividades da arilsulfatase na estação chuvosa podem ser decorrentes da maior disponibilidade de nutrientes por meio do aumento na decomposição da matéria orgânica (YAO et al., 2017).

Houve uma correlação positiva da atividade da arilsulfatase com o COS (0,68), N-NO₃⁻ (0,31) e P disponível (0,75) (Figura 12).

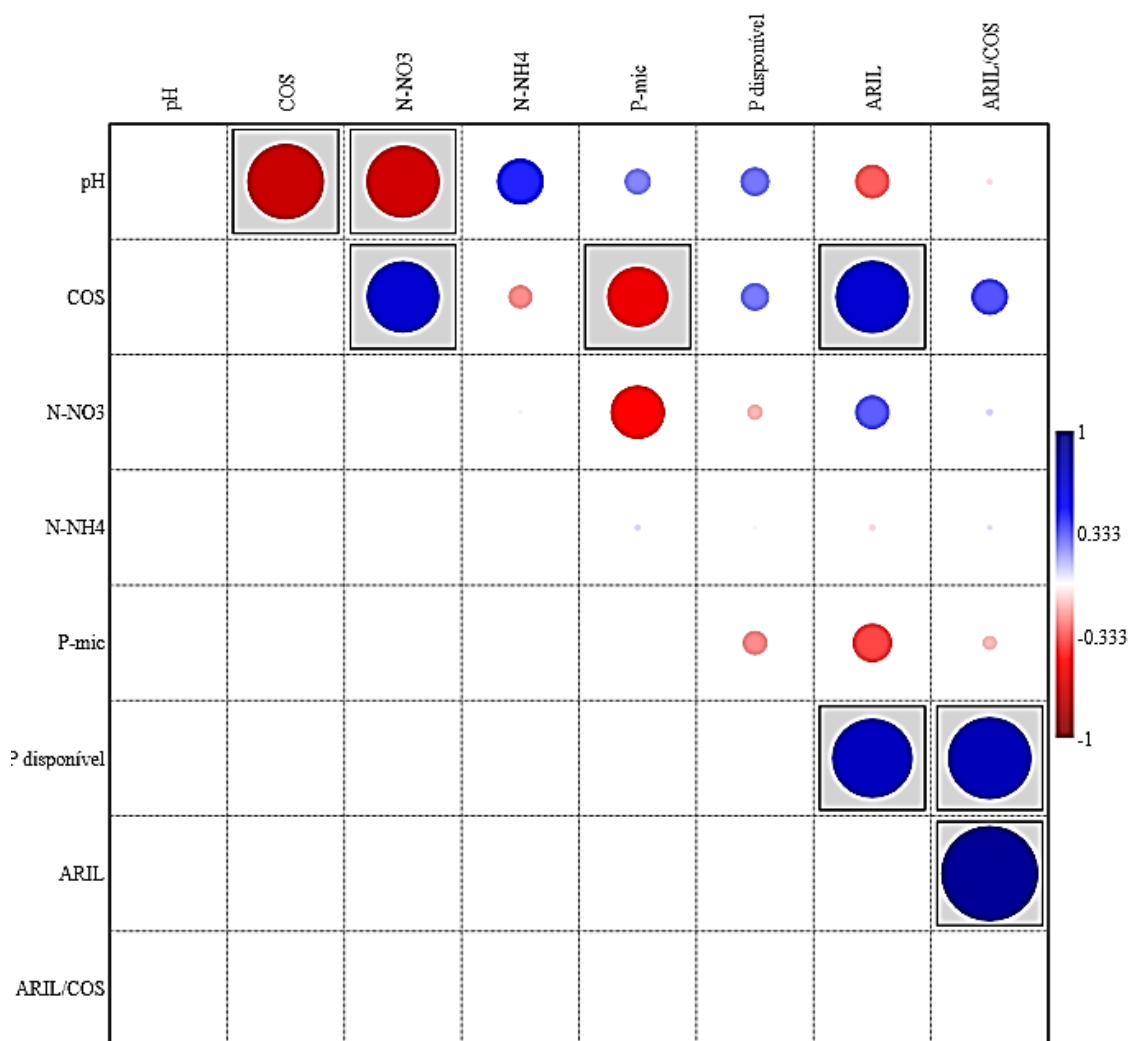


Figura 12. Correlação linear de Pearson entre as atividades enzimáticas absoluta e específica da arilsulfatase e atributos do solo do SSP. Círculos dentro de caixas indicam efeito significativo ($p < 0,05$). COS = carbono orgânico do solo e P-mic = fósforo da biomassa microbiana no solo

A íntima ligação da arilsulfatase com COS deve-se a proteção promovida pela MOS às enzimas do solo (LOPES et al., 2018). A elevada correlação positiva com P disponível ocorre pelo fato do fósforo e enxofre competirem pelos mesmos sítios de troca no solo, de modo que uma maior disponibilidade de P reflete em menor disponibilidade de S, induzindo ao aumento na atividade da arilsulfatase (WANG et al., 2019), fato este que também explica a correlação positiva com $N-NO_3^-$.

4.4 Quantificação dos genes *cbbl*, 18S rRNA (fungos totais e micorrízicos) e *phoD*

A abundância das bactérias autotróficas fixadoras de CO_2 , como medida pelo número de genes *cbbl*, variou de 11,19 a 11,52 \log_{10} do nº de cópias do gene na estação seca e de 10,99 a 11,55 \log_{10} do nº de cópias do gene na estação chuvosa. Houve uma abundância 20% superior no sabiá a 0 m e 4 m em relação a braquiária em monocultivo na estação seca, enquanto que sabiá e gliricídia nas distâncias 4 m e 8 m apresentaram maiores abundâncias na estação chuvosa ($p < 0,10$), correspondendo a um aumento em relação a braquiária solteira de 203% em G4, 256% em G8, 184% em S4 e 173% em S8 (Figura 13).

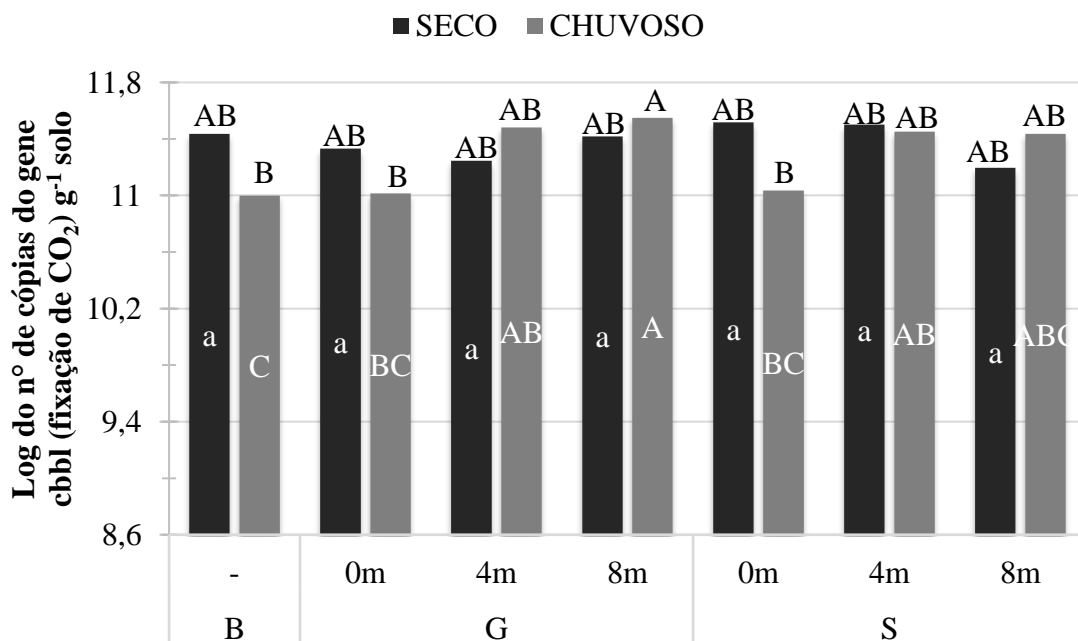


Figura 13. Abundância do gene *cbbl* (fixação de CO_2) em solos sob sistema silvipastoril estabelecido com braquiária (B), consórcios de braquiária com gliricídia (G) e sabiá (S), sob variação sazonal. 0, 4 e 8m representa a distância das linhas de leguminosas. Colunas com letras escuras diferentes diferem entre si na comparação das combinações entre tratamento e época do ano ao nível de 10% pelo teste de Tukey. Colunas com letras brancas minúsculas e maiúsculas diferentes diferem entre si na comparação entre tratamentos para as estações seca e chuvosa, respectivamente, ao nível de 10% pelo teste de Tukey

O sistema silvipastoril estabeleceu um ambiente favorável para o crescimento de bactérias autotróficas fixadoras de CO₂, pois a permanência dos resíduos vegetais no solo acarreta aumento na abundância deste grupo de micro-organismos (LU et al., 2019). A tendência das abundâncias de fixadores de CO₂ é comparável com os teores de C total do mesmo SSP em estudo (LIRA JUNIOR et al., 2020b), que relatam um aumento de aproximadamente 30% no teor de C total nas parcelas de leguminosas em relação a braquiária solteira no período chuvoso.

O aumento da abundância de fixadoras de CO₂ no sabiá 0 m e 4 m na estação seca deve ser resultante do maior sombreamento das copas do sabiá, menor densidade do solo e raízes mais finas do que a gliricídia (LIMA et al., 2018), que promove manutenção da umidade do solo por um período de tempo maior. Enquanto que as maiores abundâncias em sabiá e gliricídia nas distâncias 4 m e 8 m na estação chuvosa devem-se ao aumento na umidade do solo com o distanciamento das linhas das leguminosas (LIMA et al., 2018), visto que a fixação microbiana de CO₂ no solo é facilitada pela umidade do solo devido as alterações na disponibilidade de nutrientes e oxigênio (CHEN et al., 2021).

A presença de esterco e ausência de fertilização química é outro fator que provavelmente beneficiou a população de micro-organismos autotróficos no SSP, como observado por Liao et al. (2020) ao constatarem que solos com presença de esterco tiveram uma taxa de fixação de CO₂ 150% (0,40 mg kg⁻¹ solo dia⁻¹) maior do que os solos fertilizados quimicamente.

Yuan et al. (2012) avaliando a influência de micro-organismos fixadores de CO₂ no sequestro de C, estimaram um dreno de 2 a 3 Pg de C ano⁻¹ nos solos de uma região subtropical na China, com abundâncias de fixadores de CO₂ 1000 vezes menores do que as encontradas no presente SSP, demonstrando o elevado potencial deste sistema em drenar CO₂ atmosférico na região tropical sub-úmida.

No geral, os trabalhos com bactérias fixadoras de CO₂ em sistemas de cultivo têm encontrado abundâncias de cerca de 100 a 10.000 vezes menores do que nossos resultados (YUAN et al., 2012; WU et al., 2015; GE et al., 2016; LYNN et al., 2017; LU et al., 2019; LIAO et al., 2020), enfatizando que o SSP aumenta a comunidade de bactérias autotróficas fixadoras de CO₂ no solo e tem uma elevada capacidade em drenar C atmosférico.

A maior abundância de fungos totais (gene 18S rRNA) no SSP foi observada na estação seca (de 8,66 a 9,56 log₁₀ do n° de cópias do gene), principalmente na braquiária em monocultivo. Já na estação chuvosa houve variação de 8,40 a 9,42 log₁₀ do n° de cópias do gene, com maiores abundâncias a 4 m de distância das linhas das leguminosas, não havendo diferença estatística entre os tratamentos e sazonalidade climática (p > 0,10) (Figura 14).

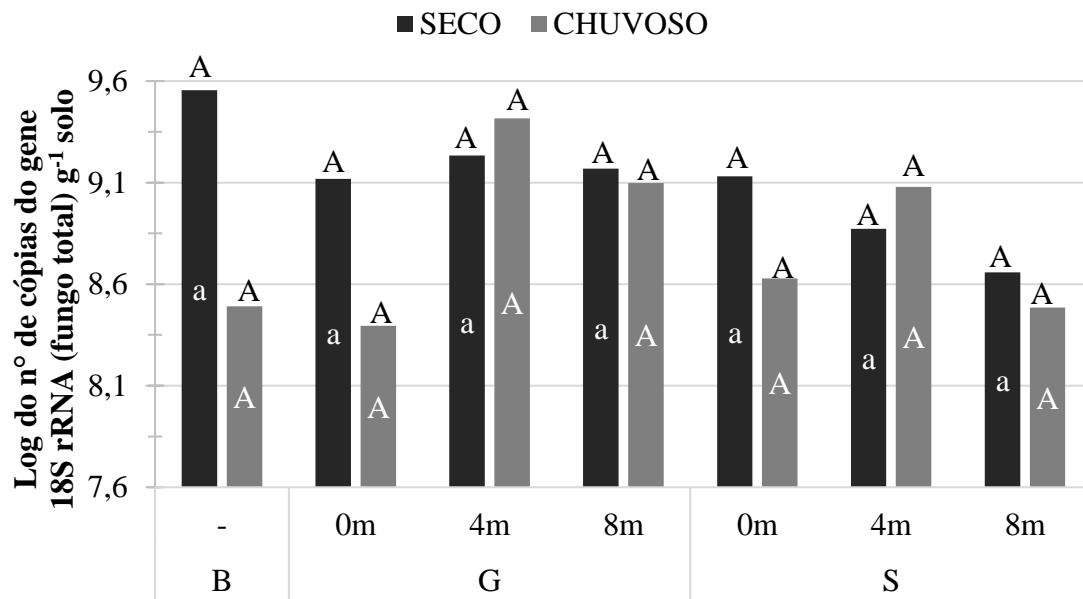


Figura 14. Abundância do gene 18S rRNA (fungo total) em solos sob sistema silvipastoril estabelecido com braquiária (B), consórcios de braquiária com gliricídia (G) e sabiá (S), sob variação sazonal. 0, 4 e 8m representa a distância das linhas de leguminosas. Colunas com letras escuras idênticas não diferem entre si na comparação das combinações entre tratamento e época do ano ao nível de 10% pelo teste de Tukey. Colunas com letras brancas minúsculas e maiúsculas idênticas não diferem entre si na comparação entre tratamentos para as estações seca e chuvosa, respectivamente, ao nível de 10% pelo teste de Tukey

Um maior acúmulo de forragem na braquiária em pleno sol em relação a braquiária sob sombra nas parcelas das leguminosas é relatado por Lima et al. (2020), neste mesmo SSP. O sombreamento das leguminosas sobre a braquiária pode afetar aspectos morfofisiológicos, reduzindo a produtividade e qualidade da gramínea no SSP (LIMA et al., 2020), o que poderia explicar as maiores abundâncias de fungos totais no monocultivo. Além disso, a plena radiação solar também favorece o aumento na abundância de fungos totais quando comparado com diferentes níveis de sombreamento (MENEZES et al., 2019).

A redução da abundância de fungo nas linhas das leguminosas pode ser decorrente do aumento na qualidade da serapilheira, principalmente na gliricídia que possui uma taxa de decomposição mais rápida do que o sabiá (APOLINÁRIO et al., 2015). Li et al. (2019) relatam que o aumento na qualidade da serapilheira pode diminuir a abundância relativa de fungos, pois as bactérias costumam ter maiores taxas de crescimento e renovação na presença de substratos com baixa relação C/N. Assim, a heterogeneidade da serapilheira misturada apresenta efeitos complementares na decomposição dos resíduos e diversidade de nutrientes, criando um ambiente favorável para diversos tipos de micro-organismos (NJERU et al., 2014; THAPA et al., 2021).

A maior abundância de fungos totais em 4 m de distância em relação a linha das leguminosas e braquiária em monocultivo na estação chuvosa, pode estar relacionada com a maior produção e qualidade da forragem (LIMA et al., 2020), fato este também observado por Barros et al. (2021) para a abundância de bactérias totais.

Assim como para fungos totais, a abundância de micorriza foi maior na braquiária solteira na estação seca, com variação de 11,46 a 11,96 \log_{10} do nº de cópias do gene (Figura 15). Isto pode ser decorrente tanto do aumento na produção da braquiária em pleno sol (LIMA et al., 2020), quanto pelo sistema radicular fasciculado das gramíneas que favorece a associação micorrízica (LEHMAN et al., 2012).

O aumento da abundância de micorriza com o distanciamento das linhas das leguminosas, principalmente na estação chuvosa ($p < 0,10$), pode ser decorrente da alta densidade de raízes finas da braquiária, que promove um ambiente mais propício para o estabelecimento da associação micorrízica, e presença de resíduos vegetais de melhor qualidade na braquiária consorciada do que em monocultivo (BHANDARI; WEST; ACOSTA-MARTINEZ, 2020).

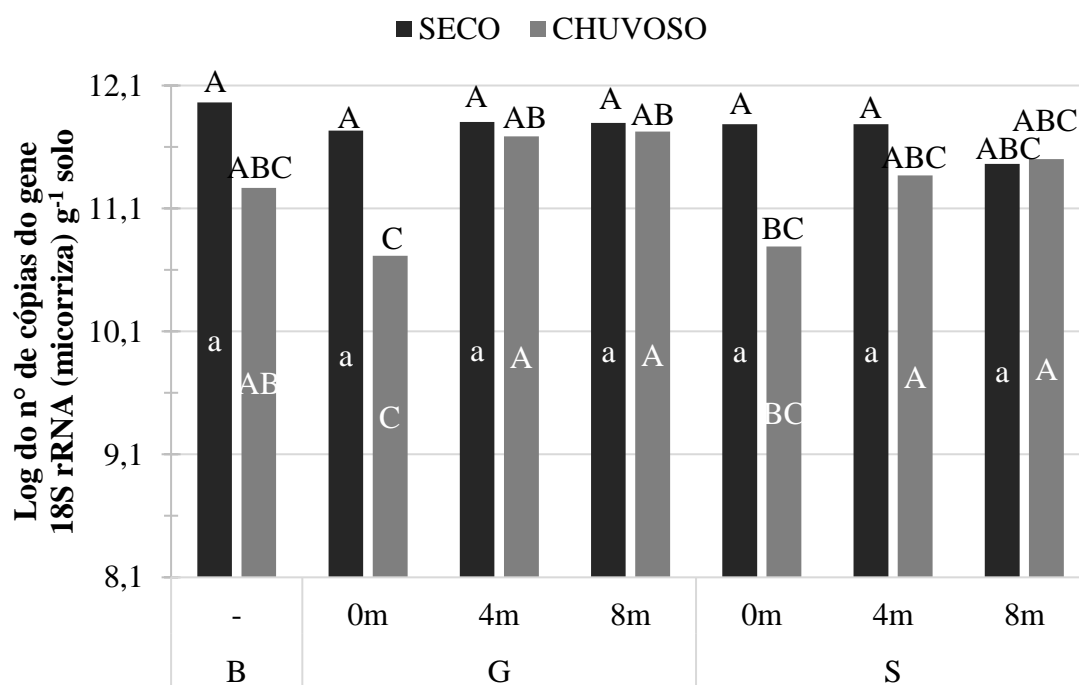


Figura 15. Abundância do gene 18S rRNA (micorriza) em solos sob sistema silvipastoril estabelecido com braquiária (B), consórcios de braquiária com gliríndia (G) e sabiá (S), sob variação sazonal. 0, 4 e 8m representa a distância das linhas de leguminosas. Colunas com letras escuras diferentes diferem entre si na comparação das combinações entre tratamento e época do ano ao nível de 10% pelo teste de Tukey. Colunas com letras brancas minúsculas e maiúsculas diferentes diferem entre si na comparação entre tratamentos para as estações seca e chuvosa, respectivamente, ao nível de 10% pelo teste de Tukey

Sarto et al. (2020) relatam que a introdução de eucalipto no SSP diminuiu a abundância de micorriza quando comparado a pastagem em monocultivo, especialmente nas linhas das árvores, por causa da liberação de algum composto aleloquímico na serapilheira do eucalipto. No entanto, no presente trabalho, a menor abundância de micorriza nas linhas das leguminosas é possivelmente decorrente da maior disponibilidade de N (LIRA JUNIOR et al., 2020a), que afeta as infecções radiculares devido a sensibilidade de micorriza ao enriquecimento de N (JIA et al., 2020). Um aumento na disponibilidade de N induz uma maior produção de biomassa vegetal acima do solo, reduzindo a necessidade de produção de novas raízes e estabelecimento de associação micorrízica (CHEN et al., 2015). Além disso, o aumento de $N-NH_4^+$ nas leguminosas promove a excreção de H^+ para manter o balanço de cargas entre as raízes e a solução do solo, promovendo a acidificação do solo (SILVA et al., 2013), podendo afetar direta ou indiretamente o crescimento microbiano (CHEN et al., 2015).

Quanto ao *phoD*, foi observada uma baixa variação (de 12,39 a 12,80 \log_{10} do nº de cópias do gene) na abundância de micro-organismos mineralizadores de P na estação seca ($p > 0,10$), com maior abundância em gliricídia 8 m. Já na estação chuvosas, a variação foi de 11,66 a 12,52 \log_{10} do nº de cópias do gene, com menores abundâncias de *phoD* na braquiária em monocultivo e nas linhas de ambas leguminosas, havendo um aumento significativo da abundância deste gene como o distanciamento das linhas das leguminosas (4 e 8 m) ($p < 0,10$) (Figura 16).

Na estação seca, o aumento na abundância de *phoD* se correlaciona com o aumento na disponibilidade de P no solo, exceto para sabiá 8 m (ver Tabela 1), provavelmente pela menor taxa de infiltração de água em S8 em relação dos demais tratamentos (LIMA et al., 2018). Já na estação chuvosa, esta mesma tendência dos dados não foi observada devido a elevada sensibilidade deste gene aos ciclos de secagem e umedecimento do solo (CHEN et al., 2019b), indicando que a sazonalidade é um fator modificador na abundância de *phoD* no SSP.

O aumento na abundância de *phoD* com o distanciamento das linhas das leguminosas na estação chuvosa, mostra claramente o efeito benéfico do consórcio de pastagem com leguminosas no SSP sobre esta comunidade microbiana. Isto deve-se ao fato da gramínea ter um sistema radicular mais denso, podendo liberar mais exsudatos e estimular o crescimento microbiano, tais como micro-organismos ligados a ciclagem de P (GOU et al., 2021). E quando em associação com leguminosas, a presença mista de resíduos promove um ambiente favorável para os micro-organismos possuidores do gene *phoD* (XIE et al., 2020), resultando em maiores abundâncias na gramínea consorciada com leguminosas.

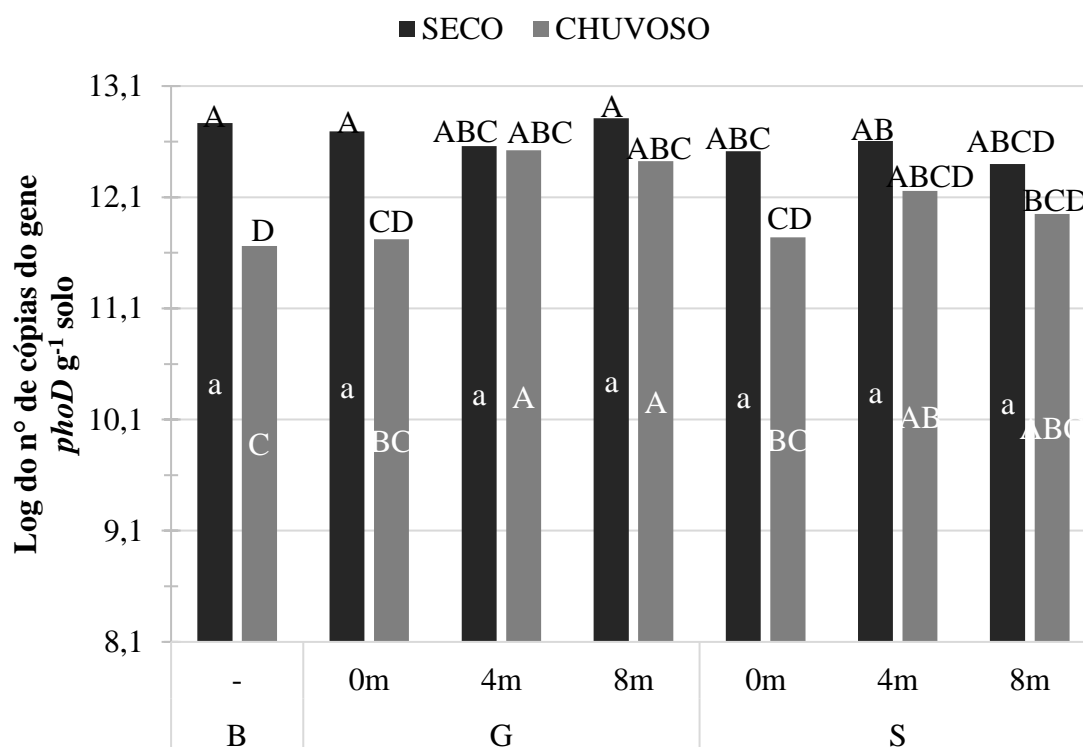


Figura 16. Abundância do gene *phoD* (mineralização de P) em solos sob sistema silvipastoril estabelecido com braquiária (B), consórcios de braquiária com gliricídia (G) e sabiá (S), sob variação sazonal. 0, 4 e 8m representa a distância das linhas de leguminosas. Colunas com letras escuras diferentes diferem entre si na comparação das combinações entre tratamento e época do ano ao nível de 10% pelo teste de Tukey. Colunas com letras brancas minúsculas e maiúsculas diferentes diferem entre si na comparação entre tratamentos para as estações seca e chuvosa, respectivamente, ao nível de 10% pelo teste de Tukey

Outro fato relevante é que na braquiária consorciada com leguminosas, pode se formar uma ampla rede micorrízica de comunicação entre diferentes espécies de plantas e um mesmo fungo (GEOFFROY et al., 2017; MORAES et al., 2019), aumentando a eficiência da gramínea na utilização da água, principalmente na associação com gliricídia que tem um sistema radicular mais profundo do que ao sabiá, e assim apresenta vantagens na absorção de água e distribuição para a braquiária consorciada (LIMA et al., 2018), resultando em melhores condições para o crescimento fúngico, estabelecimento micorrízico e comunidade microbiana de mineralizadores de P, refletindo também no aumento da atividade da FAL (Figura 7 a e b).

As abundâncias do gene *phoD* neste estudo foram 1 milhão de vezes maiores do que as encontradas por Gou et al. (2021), estudando 8 sistemas de cultivo em solos ricos em óxidos no clima subtropical na China. Isto sugere que o SSP tem a capacidade de transformação e ciclagem de P, como observado por Liu et al. (2018) ao estudar genes do ciclo do P em solos agrícolas.

Os resultados da abundância de *phoD* apresentam uma correlação positiva com o P disponível (0,51), FAL (0,24), COS (0,75) e N-NO₃⁻ (0,41) (Figura 17). Estas correlações são explicadas pelo fato dos micro-organismos possuidores do gene *phoD* serem responsáveis pela mineralização do P (FRASER et al., 2015). Além disso, o aumento na relação C/P e N/P pelo aumento nos teores de C e N acentua a limitação de P, desencadeando a ativação do gene *phoD* para aumentar a disponibilidade de P e reestabelecer o equilíbrio nutricional (CHEN et al., 2019b).

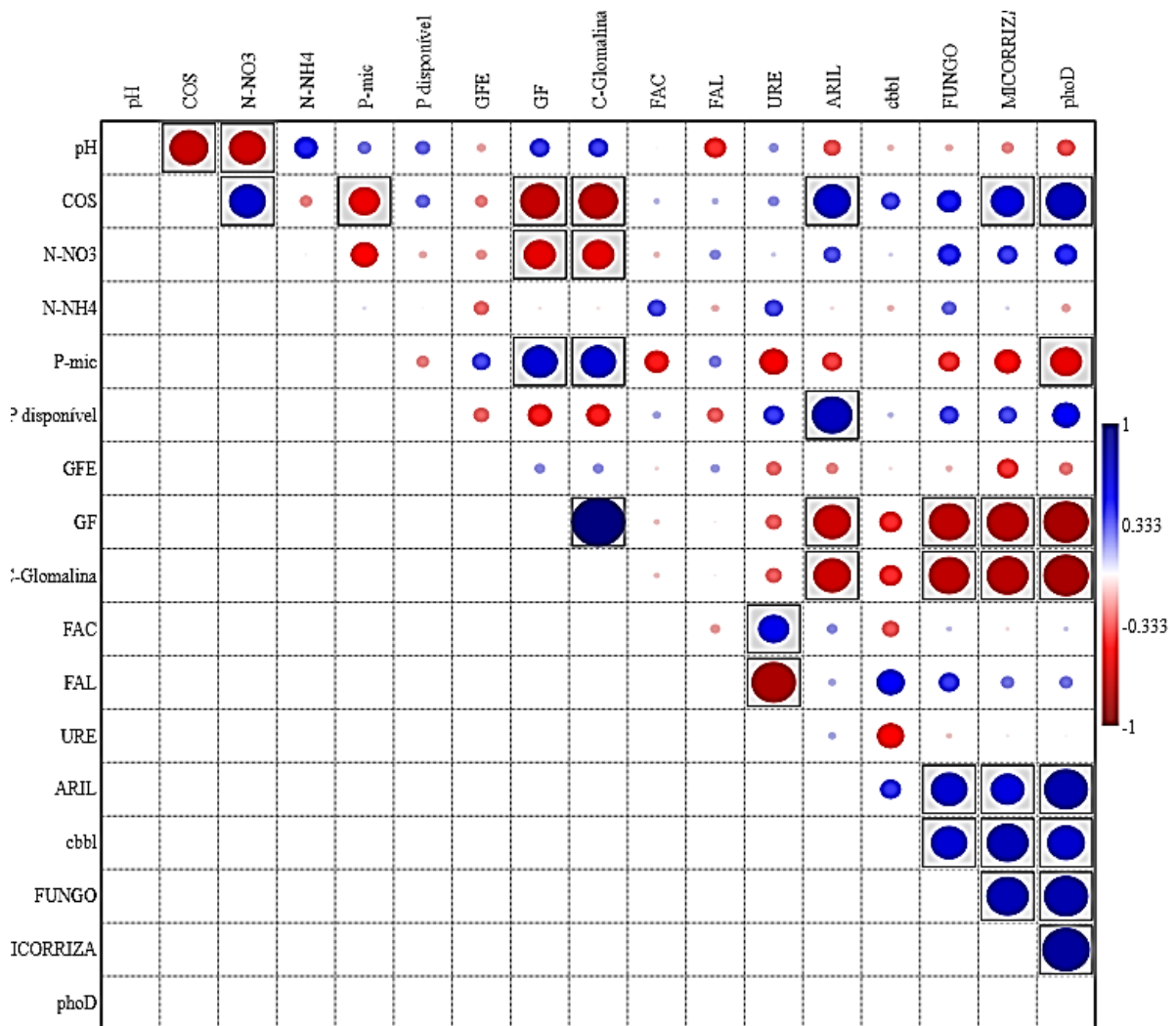


Figura 17. Correlação linear de Pearson entre os atributos do solo, atividades enzimáticas e abundâncias dos genes 18S rRNA (fungo total e micorriza), *phoD* e *cbbl* no SSP. Círculos dentro de caixas indicam efeito significativo ($p < 0,05$). COS = carbono orgânico do solo, P-mic = fósforo da biomassa microbiana, FAC = fosfatase ácida, FAL = fosfatase alcalina, URE = urease, ARIL = arilsulfatase

A correlação positiva de fungos totais, micorrizas, *phoD* e P-disponível (Figura 17) é altamente relevante para solos muito intemperizados e pobres em nutrientes, pois o aumento na

abundância destas comunidades microbianas promoverá maiores taxas de colonização e associações plantas-micro-organismos, aumentando a absorção e disponibilidade de P, fundamentais para a nutrição de plantas e ciclagem do nutriente (XIAO et al., 2019). Já a correlação positiva de fungos totais, micorrizas, *phoD* e FAL é decorrente da liberação de fosfatases pelas paredes das hifas para mineralização de P orgânico ou hidrólise de fitatos (BURNS et al., 2013).

A correlação positiva entre a abundância de micorriza com o COS (0,62), demonstra que parte do C estocado pode ser derivado no micélio micorrízico, que é um importante regulador da dinâmica do C nos ecossistemas (CLEMMENSEN et al., 2013).

As correlações positivas dos genes funcionais estudados e COS, P disponível, FAC, FAL e arilsulfatase, demonstram que os processos bioquímicos dos ciclos do C, N, P e S estão fortemente ligados entre si, o que sustenta a importância destas populações funcionais nos seus respectivos ciclos (LUO et al., 2020).

No geral, os resultados dos genes estudados mostram que a diversidade vegetal no SSP tem o potencial de modificar a abundância de genes na comunidade microbiana do solo e aumentar a atividade enzimática associada ao ciclo do N, P e S na região tropical subúmida.

Foi possível observar o efeito do uso da terra nos atributos microbiológicos do solo, através da clara distinção entre os grupos pela ACP, principalmente em função da sazonalidade climática (Figura 18). O componente principal 1 sozinho explica 87% da variabilidade total, sendo melhor representado pela FAC absoluta (0,98) e específica (0,86) e urease absoluta (0,62) e específica (0,50). Enquanto que o componente 2 sozinho explica 9% da variação total, sendo melhor representado pela FAL absoluta (0,92) e específica (0,79).

A formação dos grupos da ACP demonstra que o SSP produziu um ambiente favorável para a produção de P-mic, glomalina, enzimas e crescimento microbiano devido ao maior acúmulo de resíduos orgânicos e manutenção da umidade no solo, conseqüentemente, melhorando a qualidade da pastagem ali presente.

Esta associação das leguminosas com os atributos biológicos e comunidades microbianas estudadas é resultante da menor relação C/N dos resíduos vegetais em relação a braquiária, que resulta em taxas de decomposição mais rápida, maior aporte de serapilheira e contínuo fornecimento de substrato para a comunidade microbiana (THAPA et al., 2021). Deste modo, a combinação dos fatores estudados sugere que a presença de leguminosas juntamente com braquiária tem um potencial em modular as comunidades microbianas no solo, ciclar nutrientes e melhorar a qualidade deste ecossistema.

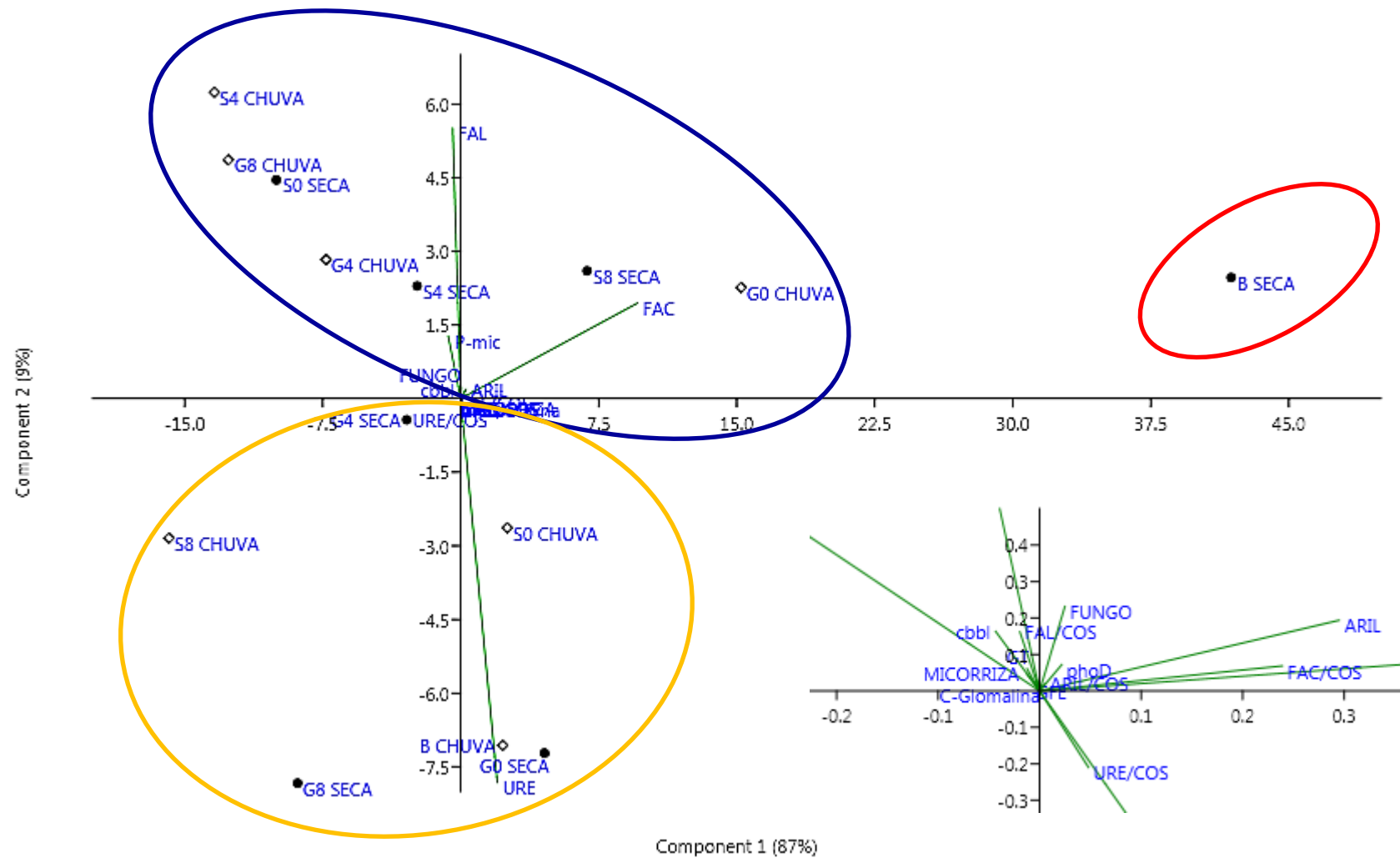


Figura 18. Análise de componentes principais dos atributos microbiológicos em resposta ao uso da terra no SSP. Tratamentos na estação seca estão simbolizados por ponto (●) e na estação chuvosa por losango (◇). B=braquiárias solteira; G=glicíndia consorciada com braquiária nas distâncias 0 m (G0), 4 m (G4) e 8 m (G8); S=sabiá consorciada com braquiária nas distâncias 0 m (S0), 4 m (S4) e 8 m (S8).

5 CONCLUSÕES

A introdução das leguminosas gliricídia e sabiá contribui para a melhoria da qualidade do solo pelo aumento da atividade das enzimas fosfatases ácida, alcalina e arilsulfatase, e abundâncias de bactérias fixadoras de CO₂, fungos totais, micorrizas e mineralizadores de P. Sendo estes, bons indicadores de qualidade do solo para o sistema silvipastoril.

A inserção das leguminosas gliricídia e sabiá em pastagem contribui para melhorias no ciclo do fósforo através do aumento da atividade das enzimas fosfatases ácida e alcalina, e abundâncias de fungos totais, micorrizas e mineralizadores de P.

Sistema silvipastoril com leguminosas estabelece um ambiente favorável para o aumento da abundância de bactérias autotróficas fixadoras de CO₂ pelas melhores condições de crescimento microbiano, apresentando elevado potencial como dreno de CO₂ atmosférico por meio da fixação microbiana de carbono.

A sazonalidade climática afeta a atividade enzimática e abundância de comunidades microbianas, sendo um importante parâmetro para a avaliação da qualidade do sistema silvipastoril.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABIEC – Associação Brasileira das Indústrias Exportadoras de Carnes. Disponível em: <http://abiec.com.br/>. Acesso em maio de 2020.

ACOSTA-MARTÍNEZ, V.; PÉREZ-GUZMÁN, L.; JOHNSON, J. M. F. Simultaneous determination of β -glucosidase, β -glucosaminidase, acid phosphomonoesterase, and arylsulfatase activities in a soil sample for a biogeochemical cycling index. **Applied Soil Ecology**, v. 142, p. 72-80, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2019.05.001>

ACOSTA-MARTÍNEZ, V.; CANO, A.; JOHNSON, J. Simultaneous determination of multiple soil enzyme activities for soil health-biogeochemical indices. **Applied Soil Ecology**, v. 126, p. 121–128, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2017.11.024>

ACOSTA-MARTÍNEZ, V.; ZOBECK, T.; GILL, T.; KENNEDY, A. Enzyme activities and microbial community structure in semiarid agricultural soils. **Biology and Fertility of Soils**, v. 38, p. 216–227, 2003. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00374-003-0626-1>

ADAMCZYK, B.; KILPELÄINEN, P.; KITUNEN, V.; SMOLANDER, A. Potential activities of enzymes involved in N, C, P and S cycling in boreal forest soil under different tree species. **Pedobiologia**, v. 57, n.2, p. 97–102, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.pedobi.2013.12.003>

ADETUNJI, A. T.; LEWU, F. B.; MULIDZI, R.; NCUBE, B. The biological activities of β -glucosidase, phosphatase and urease as soil quality indicators: a review. **Journal of Soil Science and Plant Nutrition**, v. 17, n. 3, p. 794-807, 2017. DOI: <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-95162017000300018>

ALIZADEH, H.; KANDULA, D. R. W.; HAMPTON, J. G.; STEWART, A.; LEUNG, D. W. M.; EDWARDS, Y.; SMITH, C. Urease producing microorganisms under dairy pasture management in soils across New Zealand. **Geoderma Regional**, v. 11, p. 78-85, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.geodrs.2017.10.003>

ALMEIDA, R. F. D.; NAVES, E. R.; MOTA, R. P. D. Soil quality: Enzymatic activity of soil β -glucosidase. **Global Journal of Agricultural Research and Reviews**, v. 3, n. 2, p. 146-150, 2015. Disponível em: <http://www.globalscienceresearchjournals.org/>

ALONSO, J. Silvopastoral systems and their contribution to the environment. **Cuban Journal of Agricultural Science**, v. 45, n. 2, 2011.

AMÉZQUITA, M. C.; IBRAHIM, M.; LLANDERAL, T.; BUURMAN, P.; AMÉZQUITA, E. Carbon sequestration in pastures, silvo-pastoral systems and forests in four regions of the Latin American tropics. **Journal of Sustainable Forestry**, v. 21, n. 1, p. 31–49, 2004. DOI: https://doi.org/10.1300/J091v21n01_02

ANDRADE, H. J.; BROOK, R.; IBRAHIM, M. Growth, production and carbon sequestration of silvopastoral systems with native timber species in the dry lowlands of Costa Rica. **Plant and Soil**, v. 308, n. 1–2, p. 11–22, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11104-008-9600-x>

APOLINÁRIO, V. X. O.; DUBEUX JUNIOR, J. C. B.; LIRA, M. A.; FERREIRA, R. L. C.; MELLO, A. C. L.; COELHO, D. L.; MUIR, J. P.; SAMPAIO, E. V. S. B. Decomposition of Arboreal Legume Fractions in a Silvopastoral System. **Crop Science**, v. 56, p. 1356-1363, 2016. DOI: <https://doi.org/10.2135/cropsci2015.09.0588>

APOLINÁRIO, V. X. O.; DUBEUX JUNIOR, J. C. B.; LIRA, M. A.; FERREIRA, R. L. C.; MELLO, A. C. L.; SANTOS, M. V. F.; SAMPAIO, E. V. S. B.; MUIR, J. P. Tree Legumes Provide Marketable Wood and Add Nitrogen in Warm-Climate Silvopasture Systems. **Agronomy Journal**, v. 107, n. 5, p. 1915-1921, 2015. DOI: <https://doi.org/10.2134/agronj14.0624>

ARAKAKI, A.H.; SCHEIDT, G.N.; PORTELLA, A.C.; ARRUDA, E.J. COSTA, R.B. O baru (*Dipteryx alata* Vog.) como alternativa de sustentabilidade em área de fragmento florestal do Cerrado, no Mato Grosso do Sul. **Interações (Campo Grande)**, v.10, n.1, p.31-39, 2009. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S1518-70122009000100004>.

ARAUJO, S. A. C.; SILVA, T. O.; ROCHA, N. S.; ORTÊNCIO, M. O. Growing tropical forage legumes in full sun and silvopastoral systems. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, v. 39, n. 1, p. 27-34, 2017. DOI: <https://doi.org/10.4025/actascianimsci.v39i1.32537>

BALOTA, E. L.; MACHINESKI, O.; HONDA, C.; YADA, I. F. U.; BARBOSA, G. M. C.; NAKATANI, A. S.; COYNE, M. S. Response of arbuscular mycorrhizal fungi in different soil tillage systems to long-term swine slurry application. **Land Degradation & Development**, v. 27, n. 4, p. 1141-1150, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1002/ldr.2304>

BALOTA, E. L.; MACHINESKI, O.; HAMID, K. I.; YADA, I. F.; BARBOSA, G. M.; NAKATANI, A. S.; COYNE, M. S. Coyne Soil microbial properties after long-term swine slurry application to conventional and no-tillage systems in Brazil. **Science of the Total Environment**, v. 490, p. 397-404, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.05.019>

BARDGETT, R. D.; MOMMER, L.; DE VRIES, F. T. Going underground: root traits as drivers of ecosystem processes. **Trends in Ecology & Evolution**, v. 29, n. 12, p. 692–699, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tree.2014.10.006>

BARROS, F. M. R.; FRACETTO, F. J. C.; LIRA JUNIOR, M. A.; BERTINI, S. C. B.; FRACETTO, G. G. M. Spatial and seasonal responses of diazotrophs and ammonium-oxidizing bacteria to legume-based silvopastoral systems. **Applied Soil Ecology**, v. 158, 103797, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2020.103797>

BARROS, F. M. R.; FRACETTO, G. G. M.; FRACETTO, F. J. C.; MENDES JUNIOR, J. P.; ARAUJO, V. L. P.; LIRA JUNIOR, M. A. Silvopastoral systems drive the nitrogen-cycling bacterial community in soil. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 42, n. 3, p. 281-290, 2018. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/1413-70542018423031117>

BARROS, F. M. R. **Diversidade e abundância de bactérias totais, amônio-oxidantes e diazotróficos em solos sob sistema silvipastoril com leguminosas arbóreas**. 2018. 74 f. Dissertação (Mestrado em Ciência do Solo) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2018.

- BENAVIDES, R.; DOUGLAS, G. B.; OSORO, K. Silvopastoralism in New Zealand: review of effects of evergreen and deciduous trees on pasture dynamics. **Agroforest Systems**, v.76, n.327, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10457-008-9186-6>
- BEULE, L.; CORRE, M. D.; SCHMIDT, M.; GÖBEL, L.; VELDKAMP, E.; KARLOVSKY, P. Conversion of monoculture cropland and open grassland to agroforestry alters the abundance of soil bacteria, fungi and soil-N-cycling genes. **Plos One**, v. 14, n. 7, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0218779>
- BEVER, J. D. Preferential allocation, physio-evolutionary feedbacks, and the stability and environmental patterns of mutualism between plants and their root symbionts. **New Phytologist**, v. 205, n. 4, p. 1503-1514, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1111/nph.13239>
- BHANDARI, K. B.; WEST, C. P.; ACOSTA-MARTÍNEZ, V. Assessing the role of interseeding alfalfa into grass on improving pasture soil health in semi-arid Texas High Plains. **Applied Soil Ecology**, v. 147, 103399, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2019.103399>
- BINDRABAN, P. S.; DIMKPA, C. O.; PANDEY, R. Exploring phosphorus fertilizers and fertilization strategies for improved human and environmental health. **Biology and Fertility of Soils**, v. 56, p. 299–317, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00374-019-01430-2>
- BŁOŃSKA, E.; LASOTA, J.; ZWYDAK, M. The relationship between soil properties, enzyme activity and land use. **Leśne Prace Badawcze**, v. 78, n. 1, p. 39–44, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1515/frp-2017-0004>
- BŁOŃSKA, E.; LASOTA, J.; GRUBA, P. Effect of temperate forest tree species on soil dehydrogenase and urease activities in relation to Rother properties of soil derived from less and galciofluvial sand. **Ecological Research**, v. 31, n. 5, p. 655–664, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11284-016-1375-6>
- BONONI, L.; TAKETANI, R. G.; SOUZA, D. T.; MOITINHO, M. A.; KAVAMURA, V. N.; MELO, I. S. Higher phylogenetic diversity prevents loss of functional diversity caused by successive drying and rewetting cycles. **Antonie van Leeuwenhoek**, v. 111, p. 1033-1045, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10482-017-1003-7>
- BOULTER, N.; SUAREZ, F. G.; SCHIBECI, S.; SUNDERLAND, T.; TOLHURST, O.; HUNTER, T.; HODGE, G.; HANDELSMAN, D.; SIMANAINEN, U.; HENDRIKS, E.; DUGGAN, K. A simple, accurate and universal method for quantification of PCR. **BMC Biotechnology**, v. 16, n. 27, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12896-016-0256-y>
- BOWLES, T. M.; ACOSTA-MARTÍNEZ, V.; CALDERÓN, F.; JACKSON, L. E. Soil enzyme activities, microbial communities, and carbon and nitrogen availability in organic agroecosystems across an intensively-managed agricultural landscape. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 68, p. 252–262, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2013.10.004>
- BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v. 7, n. 72, p. 248-254, 1976. DOI: <https://doi.org/10.1006/abio.1976.9999>

BRESSAN, M.; GATTIN, I. T.; DESAIRE, S.; CASTEL, L.; GANGNEUX, C.; LAVAL, K. A rapid flow cytometry method to assess bacterial abundance in agricultural soil. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v. 88, p. 60–68, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2014.12.007>

BÜNEMANN, E. K.; BONGIORNO, G.; BAI, Z.; CREAMER, R. E.; DE DEYN, G.; DE GOEDE, R.; FLESKENS, L.; GEISSEN, V.; KUYPER, T. W.; MÄDER, P.; PULLEMAN, M.; SUKKEL, W.; van GROENIGEN, J. W.; BRUSSAARD, L. Soil quality—A critical review. **Soil Biology and Biochemistry**, Amsterdam, v. 120, p. 105–125, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2018.01.030>

BÜNEMANN, E. K. Assessment of gross and net mineralization rates of soil organic phosphorus – A review. **Soil biology and biochemistry**, Amsterdam, v. 89, p. 82-98, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2015.06.026>

BURNS, R. G.; DEFOREST, J. L.; MARXSEN, J.; SINSABAUGH, R. L.; STROMBERGER, M. E.; WALLENSTEIN, M. D.; WEINTRAUB, M. N.; ZOPPINI, A. Soil enzymes in a changing environment: Current knowledge and future directions. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 58, p. 216-234, 2013. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.soilbio.2012.11.009>

CABRAL, C. E. A.; BARROS, L. V.; ABREU, J. G.; SILVA, F. G.; CABRAL, C. H. A.; BEHLING NETO, A.; ANDRADE, F. C. F.; SALES, K. C.; HERRERA, D. M.; DELLARMELE, T. M. M. Marandu palisade grass intercropped with densely spaced teak in silvopastoral system. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 38, n. 4, p. 2075-2082, 2017. DOI: <https://doi.org/10.5433/1679-0359.2017v38n4p2075>

CANTARELLA, H.; OTTO, R.; SOARES, J. R.; SILVA, A. G. B. Agronomic efficiency of NBPT as a urease inhibitor: A review. **Journal of Advanced Research**, v. 13, p. 19-27, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jare.2018.05.008>

CÁRDENAS, A., MOLINER, A., HONTORIA, C., IBRAHIM, M. Ecological structure and carbon storage in traditional silvopastoral systems in Nicaragua. **Agroforestry Systems**, v. 93, p. 229–239, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10457-018-0234-6>

CARDOSO, E. J. B. N.; VASCONCELLOS, R. L. F.; BINI, D.; MIYAUCHI, M. Y. H.; DOS SANTOS, C. A.; ALVES, P. R. L.; DE PAULA, A. M.; NAKATANI, A. S.; PEREIRA, J. M.; NOGUEIRA, M. A. Soil health: looking for suitable indicators. What should be considered to assess the effects of use and management on soil health? **Scientia Agricola**, v. 70, n. 4, p. 274-289, 2013.

CARVALHO, W. T. V.; MINIGHIN, D. C.; GONÇALVES, L. C.; VILLANOVA, D. F. Q.; MAURICIO, R. M.; PEREIRA, R. V. G. Pastagens degradadas e técnicas de recuperação: Revisão. **Pubvet**, v. 11, n. 10, p. 1036-1045, 2017. DOI: <http://dx.doi.org/10.22256/pubvet.v11n10.1036-1045>

CAVALCANTE, W. F.; SILVA, L. R. C.; SILVA, E. G.; OLIVEIRA, T. C.; MOREIRA, K. A. Enzymatic activity of caatinga biome with and without anthropic action. **Revista Caatinga**, v. 33, n. 1, p. 142 – 150, 2020. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/1983-21252020v33n116rc>

CHEN, D.; LAN, Z.; HU, S.; BAI, Y. Effects of nitrogen enrichment on belowground communities in grassland: Relative role of soil nitrogen availability vs. soil acidification. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 89, p. 99–108, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2015.06.028>

CHEN, H.; WANG, F.; KONG, W.; JIA, H.; ZHOU, T.; XU, R.; WU, G.; WANG, J.; WU, J. Soil microbial CO₂ fixation plays a significant role in terrestrial carbon sink in a dryland ecosystem: A four-year small-scale field-plot observation on the Tibetan Plateau. **Science of The Total Environment**, 143282, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.143282>

CHEN, H.; LIU, J.; LI, D.; XIAO, K.; WANG, K. Controls on soil arylsulfatase activity at a regional scale. **European Journal of Soil Biology**, v. 90, p. 9-14, 2019a. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ejsobi.2018.11.001>

CHEN, X.; JIANG, N.; CONDRON, L. M.; DUNFIELD, K. E.; CHEN, Z.; WANG, J.; CHEN, L. Soil alkaline phosphatase activity and bacterial phoD gene abundance and diversity under long-term nitrogen and manure inputs. **Geoderma**, Amsterdam, v. 349, p. 36-44, 2019b. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2019.04.039>

CHI, G. G.; WU, Q. S. Effects of mycorrhizal fungi on plant and growth soil properties in trifoliolate orange seedlings grown in a root–box. **Philippine Agricultural Scientist**, v. 100, n. 3, 271–277, 2017.

CHOWDHURY, R. B.; MOORE, G. A.; WEATHERLEY, A. J.; ARORA, M. Key sustainability challenges for the global phosphorus resource, their implications for global food security, and options for mitigation. **Journal of Cleaner Production**, v. 140, p. 945–963, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2016.07.012>

CISSÉ, G.; VAN OORT, F.; CHENU, C.; ESSI, M.; STAUNTON, S. Is the operationally defined fraction of soil organic matter, “GRSP” (glomalin-related soil protein), stable in soils? Evidence from trends in long-term bare fallow soil. **European Journal of Soil Science**, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1111/ejss.12974>

CLEMMENSEN, K. E.; BAHR, A.; OVASKAINEN, O.; DAHLBERG, A.; EKBLAND, A.; WALLANDER, H.; STENLID, J.; FINLAY, R. D.; WARDLE, D. A.; LINDAHL, B. D. Roots and Associated Fungi Drive Long-Term Carbon Sequestration in Boreal Forest. **Science**, v. 339, n. 6127, p. 1615-1618, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1126/science.1231923>

CPRH – COMPANHIA PERNAMBUCANA RECURSOS HÍDRICOS. **Diagnóstico sócio ambiental do Litoral Norte de Pernambuco**. Recife, 2003. p. 32, 214p.

CONDRON, L. M.; TIESSEN, H. Interaction of organic phosphorus in terrestrial ecosystems. In: TURNER, B. L.; FROSSARD, E.; BALDWIN, D. S. (Ed.). **Inositol Phosphates: Linking Agricultural and the Environmental**. Wallingford: CAB Int., 2015, p. 295-308.

CONIJN, J. G.; BINDRABAN, P. S.; SCHRÖDER, J. J.; JONGSCHAAP, R. Can our food system meet food demand within planetary boundaries? **Agriculture, Ecosystems &**

Environment, Amsterdam, v. 251, p. 244–256, 2018. DOI:
<https://doi.org/10.1016/j.agee.2017.06.001>

CORDERO, I.; SNELL, H.; BARDGETT, R. D. High throughput method for measuring urease activity in soil. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 134, p. 72-77, 2019. DOI:
<https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2019.03.014>

CUBILLOS, A. M.; VALLEJO, V. E.; ARBELI, Z.; TERÁN, W.; DICK, R. P.; MOLINA, C. H.; MOLINA, E.; ROLDAN, F. Effect of the conversion of conventional pasture to intensive silvopastoral systems on edaphic bacterial and ammonia oxidizer communities in Colombia. **European Journal of Soil Biology**, v. 72, p. 42-50, 2016. DOI:
<https://doi.org/10.1016/j.ejsobi.2015.12.003>

CUCCURULLO, A.; GALLIPOLI, D.; BRUNO, A. W.; AUGARDE, C.; HUGHES, P.; LA BORDERIE, C. Earth stabilisation via carbonate precipitation by plant-derived urease for building applications. **Geomechanics for Energy and the Environment**, 100230, 2020. DOI:
<https://doi.org/10.1016/j.gete.2020.100230>

CUI, Y.; WANG, X.; ZHANG, X.; JU, W.; DUAN, C.; GUO, X.; WANG, Y.; FANG, L. Soil moisture mediates microbial carbon and phosphorus metabolism during vegetation succession in a semiarid region. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 147, 107814, 2020. DOI:
<https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2020.107814>

DAMIAN, J. M.; MATOS, E. S.; PEDREIRA, B. C.; CARVALHO, P. C. F.; SOUZA, A. J.; ANDREOTE, F. D.; PREMAZZI, L. M.; CERRI, C. E. P. Pastureland intensification and diversification in Brazil mediate soil bacterial community structure changes and soil C accumulation. **Applied Soil Ecology**, v. 160, 103858, 2021. DOI:
<https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2020.103858>

DE BARROS, J. A.; DE MEDEIROS, E. V.; DA COSTA, D. P.; DUDA, G. P.; DE SOUSA LIMA, J. R.; DOS SANTOS, U. J.; ANTONINO, A. C. D.; HAMMECKER, C. Human disturbance affects enzyme activity, microbial biomass and organic carbon in tropical dry sub-humid pasture and forest soils. **Archives of Agronomy and Soil Science**, v. 1, p. 1-33, 2019. DOI:
<https://doi.org/10.1080/03650340.2019.1622095>

DE SÁ, F. A.; GOMES, T. G. J.; EDVAN, R. L.; SOUSA, P. H. A. A. Fenação de leguminosas tropicais como alternativa para aumentar a segurança alimentar do rebanho. **Revista Eletrônica de Veterinária**, v. 18, p. 1–15, 2017.

DENG, J.; CHONG, Y.; ZHANG, D.; REN, C.; ZHAO, F.; ZHANG, X.; HAN, X.; YANG, G. Temporal Variations in Soil Enzyme Activities and Responses to Land-Use Change in the Loess Plateau, China. **Applied Sciences**, v. 9, 3129, 2019. DOI:
<https://doi.org/10.3390/app9153129>

DIAS-FILHO, M. B. **Degradação de pastagens: o que é e como evitar**. Brasília, DF: Embrapa: Embrapa Amazônia Oriental, 2017. 19p.

DING, L.; SHANG, Y.; ZHANG, W.; ZHANG, Y.; LI, S.; WEI, X.; ZHANG, Y.; SONG, X.; CHEN, X.; LIU, J.; YANG, F.; YANG, X.; ZOU, C.; WANG, P. Disentangling the effects of driving forces on soil bacterial and fungal communities under shrub encroachment on the

Guizhou Plateau of China. **Science of the Total Environment**, Amsterdam, v. 709, n. 136207, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.136207>

DOS SANTOS, A. M. G.; DUBEUX JUNIOR, J. C. B.; DOS SANTOS, M. V. F.; LIRA, M. A.; APOLINÁRIO, V. X. O.; COSTA, S. B. M.; COÊLHO, D. L.; PEIXÔTO, T. V. F. R.; SANTOS, E. R. S. Animal performance in grass monoculture or silvopastures using tree legumes. **Agroforestry Systems**, v. 94, p. 615–626, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10457-019-00431-2>.

DUBEUX JUNIOR, J. C. B.; MUIR, J. P.; APOLINÁRIO, V. X. O.; NAIR, P. K. R.; LIRA, M. A.; SOLLENBERGER, L. E. Tree legumes: an underexploited resource in warm-climate silvopastures. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 46, n. 8, p. 689-703, 2017. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S1806-92902017000800010>

DUBEUX JUNIOR, J. C. B.; MUIR, J. P.; NAIR, P. K. R.; SOLLENBERGER, L. E.; SILVA, H. M. S.; MELLO, A. C. L. The advantages and challenges of integrating tree legumes into pastoral systems. In: EVANGELISTA, A. R.; AVILA, C. L. S.; CASAGRANDE, D. R.; LARA, M. A. S.; BERNARDES, T. F. (Eds.). **International Conference on Forages in Warm Climates**, Lavras, MG, Brazil. UFLA, Lavras. p.141-164, 2015.

DUBEUX JUNIOR, J. C. B.; LIRA, M. A.; SANTOS, M. V. F.; MUIR, J.; SILVA, M. A.; TEIXEIRA, V. I.; MELLO, A. C. L. Soil characteristics under legume and non-legume tree canopies in signalgrass (*Brachiaria decumbens*) pastures. **African Journal of Range & Forage Science**, v. 31, n. 1, p. 37-42, 2014a. DOI: <https://doi.org/10.2989/10220119.2014.880746>

DUBEUX JUNIOR, J. C. B.; SOLLENBERGER, L. E.; VENDRAMINI, J. M. B.; INTERRANTE, S. M.; LIRA JR, M. A. Stocking Method, Animal Behavior, and Soil Nutrient Redistribution: How are They Linked? **Crop Science**, v. 54, n. 5, p. 2341-2350, 2014b. DOI: <https://doi.org/10.2135/cropsci2014.01.0076>

EIVAZI, F.; TABATABAI, M. A. Phosphatases in Soils. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 9, n. 3, p. 167-172, 1977. DOI: [https://doi.org/10.1016/0038-0717\(77\)90070-0](https://doi.org/10.1016/0038-0717(77)90070-0)

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA. **Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes**. 2ed. Rev. ampl. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 672p. 2009.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. 2.ed. Rio de Janeiro, Embrapa Solos, 2006. 306p.

FAN, Y.; LIN, F.; YANG, L. M.; ZHONG, X. J.; WANG, M.; ZHOU, J.; CHEN, Y.; YANG, Y. Decreased soil organic P fraction associated with ectomycorrhizal fungal activity to meet increased P demand under N application in a subtropical forest ecosystem. **Biology and Fertility of Soils**, v. 54, p. 149–161, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00374-017-1251-8>

FAO—Food and Agriculture Organization. **Principles for the assessment of livestock impacts on biodiversity**. In *Livestock Environmental Assessment and Performance (LEAP) Partnership*; FAO: Rome, Italy, 2016.

FELLBAUM, C. R.; MENSAH, J. A.; CLOOS, A. J.; STRAHAN, G. E.; PFEFFER, P. E.; KIERS, E. T.; BÜCKING, H. Fungal nutrient allocation in common mycorrhizal networks is regulated by the carbon source strength of individual host plants. **New Phytologist**, v. 203, p. 646–656, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1111/nph.12827>

FENG, J.; TURNER, B. L.; LÜ, X.; CHEN, Z.; WEI, K.; TIAN, J.; WANG, C.; LUO, W.; CHEN, L. Phosphorus transformations along a large-scale climosequence in arid and semiarid grasslands of northern China. **Global Biogeochemical Cycles**, v. 30, n. 9, p. 1264–1275, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1002/2015GB005331>

FERREIRA, D. F. Sisvar: a Guide for its Bootstrap procedures in multiple comparisons. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 38, n. 2, p. 109-112, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1413-70542014000200001>

FEY, R.; MALAVASI, U. C.; MALAVASI, M. M. Silvopastoral system: a review regarding the family agriculture. **Revista de Agricultura Neotropical**, v. 2, n. 2, p. 26-41, 2015.

FIERER, N. Embracing the unknown: disentangling the complexities of the soil microbiome. **Nature Reviews Microbiology**, v. 15, n. 10, p. 579–590, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1038/nrmicro.2017.87>

FIERER, N.; JACKSON, J. A.; VILGALYS, R.; JACKSON, R. B. Assessment of Soil Microbial Community Structure by Use of Taxon-Specific Quantitative PCR Assays. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 71, n. 7, p. 4117–4120, 2005. DOI: <https://doi.org/10.1128/AEM.71.7.4117-4120.2005>

FINK, J. R.; INDA, A. V.; TIECHER, T.; BARRÓN, V. Iron oxides and organic matter on soil phosphorus availability. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 40, n. 4, p. 369-379, 2016. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/1413-70542016404023016>

FISHER, K. A.; YARWOOD, S. A.; JAMES, B. R. Soil urease activity and bacterial ureC gene copy numbers: Effect of pH. **Geoderma**, v. 285, p. 1-8, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2016.09.012>

FRASER, T. D.; LYNCH, D. H.; GAIERO, J.; KHOSLA, K.; DUNFIELD, K. E. Quantification of bacterial non-specific acid (phoC) and alkaline (phoD) phosphatase genes in bulk and rhizosphere soil from organically managed soybean fields. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v. 111, p. 48-56, 2017. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.apsoil.2016.11.013>

FRASER, T. D.; LYNCH, D. H.; BENT, E.; ENTZ, M. H. Soil bacterial phoD gene abundance and expression in response to applied phosphorus and long-term management. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 88, p. 137-147, 2015. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.soilbio.2015.04.014>

FUENTES, A.; ORTIZ, J.; SAAVEDRA, N.; SALAZAR, L. A.; MENESES, C.; ARRIAGADA, C. Reference gene selection for quantitative real-time PCR in *Solanum lycopersicum* L. inoculated with the mycorrhizal fungus *Rhizophagus irregularis*. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 101, p. 124-131, 2016. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.plaphy.2016.01.022>

GAO, P.; ZHENG, X.; WANG, L.; LIU, B.; ZHANG, S. Changes in the Soil Bacterial Community in a Chronosequence of Temperate Walnut-Based Intercropping Systems. **Forests**, v. 10, n. 299, p. 1-14, 2019. DOI: <https://doi.org/10.3390/f10040299>

GAO, Y.; HE, J.; TANG, X.; CHU, J. Calcium carbonate precipitation catalyzed by soybean urease as an improvement method for fine-grained soil. **Soils and Foundations**, v. 59, n. 5, p. 1631-1637, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.sandf.2019.03.014>

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

GE, T.; WU, X.; LIU, Q.; ZHU, Z.; YUAN, H.; WANG, W.; WHITELEY, A. S.; WU, J. Effect of simulated tillage on microbial autotrophic CO₂ fixation in paddy and upland soils. **Scientific Reports**, v. 6, n. 19784, p. 1-9, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1038/srep19784>

GEOFFROY, A.; SANGUIN, H.; GALIANA, A.; BÂ, A. Molecular characterization of arbuscular mycorrhizal fungi in an agroforestry system reveals the predominance of Funneliformis spp. associated with Colocasia esculenta and Pterocarpus officinalis adult trees and seedlings. **Frontiers in Microbiology**, v. 8, n. 1426, p. 1-10, 2017. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.01426>

GIANFREDA, L. Enzymes of importance to rhizosphere processes. **Journal of Soil Science and Plant Nutrition**, v. 15, n. 2, p. 283-306, 2015. DOI: <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-95162015005000022>

GISPERT, M.; PARDINI, G.; EMRAN, M.; DONI, S.; MASCIANDARO, G. Seasonal evolution of soil organic matter, glomalin and enzymes and potential for C storage after land abandonment and renaturalization processes in soils of NE Spain. **Catena**, v. 162, p. 402-413. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.catena.2017.10.019>

GOU, X.; CAI, Y.; WANG, C.; LI, B.; ZHANG, R.; ZHANG, Y.; TANG, X.; CHEN, Q.; SHEN, J.; DENG, J.; ZHOU, X. Effects of different long-term cropping systems on phoD-harboring bacterial community in red soils. **Journal of Soils and Sediments**, v. 21, p. 376–387, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11368-020-02749-2>

GROPPO, J. D.; LINS, S. R. M.; CAMARGO, P. B.; ASSAD, E. D.; PINTO, H. S.; MARTINS, S. C.; SALGADO, P. R.; EVANGELISTA, B.; VASCONCELLOS, E.; SANO, E. E.; PAVÃO, E.; LUNA, R.; MARTINELLI, L. A. Changes in soil carbon, nitrogen, and phosphorus due to land-use changes in Brazil. **Biogeosciences**, v. 12, p. 4765-4780, 2015. DOI: <https://doi.org/10.5194/bg-12-4765-2015>

GU, C.; ZHANG, S.; HAN, P.; HU, X.; XIE, L.; LI, Y.; BROOKS, M.; LIAO, X.; QIN, L. Soil Enzyme Activity in Soils Subjected to Flooding and the Effect on Nitrogen and Phosphorus Uptake by Oilseed Rape. **Frontiers in Plant Science**, v. 10, n. 368, 2019. DOI: <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00368>

HALECKI, W.; GASIOREK, M. Seasonal variability of microbial biomass phosphorus in urban soils. **Science of The Total Environment**, v. 502, p. 42-47, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.09.009>

HAMMER, O.; HARPER, D. A. T.; RYAN, P. D. Past: Paleontological statistics software package for education and data analysis. **Palaeontologia Electronica**, v. 4, p. 1-9, 2001.

HAMMER, V.; KASTL, E-M.; SCHLOTTER, M.; KUBLIK, S.; SCHMIDT, H.; WELZL, G.; JENTSCH, A.; BEIERKUHNLEIN, C.; GSCHWENDTNER, S. Influence of rewetting on microbial communities involved in nitrification and denitrification in a grassland soil after a prolonged drought period. **Scientific Reports**, v. 9, n. 2280, p. 1-10, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-018-38147-5>

HANISCH, A. L.; NEGRELLE, R. R. B.; BONATTO, R. A.; NIMMO, E. R.; LACERDA, A. E. B. Evaluating Sustainability in Traditional Silvopastoral Systems (caívas): Looking Beyond the Impact of Animals on Biodiversity. **Sustainability**, v. 11, 3098, 2019. DOI: <https://doi.org/doi:10.3390/su11113098>

HE, J-D.; CHI, G-G.; ZOU, Y-N.; SHU, B.; WU, Q-S.; SRIVASTAVA, A. K.; KUČA, K. Contribution of glomalin-related soil proteins to soil organic carbon in trifoliolate orange. **Applied Soil Ecology**, v. 154, 103592, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2020.103592>

HERNÁNDEZ, D. L.; HOBBIE, S. E. The effects of substrate composition, quantity, and diversity of microbial activity. **Plant and Soil**, v.335, n. 1–2, p. 397–411, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11104-010-0428-9>

HESTRIN, R.; HAMMER, E. C.; MUELLER, C. W.; LEHMANN, J. Synergies between mycorrhizal fungi and soil microbial communities increase plant nitrogen acquisition. **Nature – Communications Biology**, v. 2, n. 233, p. 1-9, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1038/s42003-019-0481-8>

HINSINGER, P.; BETERCOURT, E.; BERNARD, L.; BRAUMAN, A.; PLASSARD, C.; SHEN, J.; TANG, X.; ZHANG, F. P for two, sharing a scarce resource: soil phosphorus acquisition in the rhizosphere of intercropped species. **Plant Physiology**, v. 156, n. 3, p. 1078-1086, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1104/pp.111.175331>

ISLAM, K.R.; WEIL, R.R. Microwave irradiation of soil for routine measurement of microbial biomass carbon. **Biology and Fertility of Soils**, v. 27, p. 408-416, 1998. DOI: <https://doi.org/10.1007/s003740050451>

JACOMINE, P. K. T.; CAVALCANTI, A. C.; BURGOS, N.; PESSOA, S. C. P.; SILVEIRA, C. O. **Levantamento exploratório-reconhecimento de solos do estado de Pernambuco**. Recife, Ministério da Aricultura/Superintendência do Desenvolvimento do Nordeste, 1973. v. 1. 359p. Boletim técnico, v. 26.

JI, L. L.; TAN, W. F.; CHEN, X. H. Arbuscular mycorrhizal mycelial networks and glomalin-related soil protein increase soil aggregation in Calcaric Regosol under wellwatered and drought stress conditions. **Soil and Tillage Research**, v. 185, p. 1-8, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.still.2018.08.010>

JIA, X.; ZHONG, Y.; LIU, J.; ZHU, G.; SHANGGUAN, Z.; YAN, W. Effects of nitrogen enrichment on soil microbial characteristics: From biomass to enzyme activities. **Geoderma**, v. 366, 114256, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2020.114256>

- JOSE, S.; DOLLINGER, J. Silvopasture: a sustainable livestock production system. **Agroforestry Systems**, v. 93, p. 1-9, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10457-019-00366-8>
- JOSE, S., WALTER, D., KUMAR, B. M. Ecological considerations in sustainable silvopasture design and management. **Agroforestry Systems**, v. 93, p. 317–331, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10457-016-0065-2>.
- KAISER, K.; WEMHEUER, B.; KOROLKOW, V.; WEMHEUER, F.; NACKE, H.; SCHÖNING, I.; SCHRUMPF, M.; DANIEL, R. Driving forces of soil bacterial community structure, diversity, and function in temperate grasslands and forests. **Scientific Reports**, v. 6, n. 33696, p. 1-12, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1038/srep33696>
- KANDELER, E.; GERBER, H. Short-term assay of soil urease activity using colorimetric determination of ammonium. **Biology and Fertility of Soils**, v. 6, p. 68–72, 1988. DOI: <https://doi.org/10.1007/BF00257924>
- KAPPAUN, K.; PIOVESAN, A. R.; CARLINI, C. R.; LIGABUE-BRAUN, R. Ureasas: Historical aspects, catalytic, and non-catalytic properties – A review. **Journal of Advanced Research**, v. 13, p. 3-17, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jare.2018.05.010>
- KARACA, A.; CETIN, S. C.; TURGAY, O. C.; KIZILKAYA, R. Soil enzymes as indication of soil quality. In: SHUKLA, G.; VARMA, A. (Eds.). **Soil Enzymology**, Springer, 2010. Chapter 7, pp 119-148. DOI: https://doi.org/10.1007/978-3-642-14225-3_7
- KEYMER, A.; GUTJAHR, C. Cross-kingdom lipid transfer in arbuscular mycorrhiza symbiosis and beyond. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 44, p. 137-144, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2018.04.005>
- KOBAE, Y. Dynamic phosphate uptake in arbuscular mycorrhizal roots under field conditions. **Frontiers in Environmental Science**, v. 6, n. 159, p. 1-12, 2019. DOI: <https://doi.org/10.3389/fenvs.2018.00159>
- KOPER, T. E.; EL-SHEIKH, A. F.; NORTON, J. M.; KLOTZ, M. G. Urease-Encoding Genes in Ammonia-Oxidizing Bacteria. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 70, n. 4, p. 2342-2348, 2004. DOI: <https://doi.org/10.1128/AEM.70.4.2342-2348.2004>
- KURAMAE, E. E.; YERGEAU, E.; WONG, L. C.; PIJL, A. S.; VAN VEEN, J. A.; KOWALCHUK, G. A. Soil characteristics more strongly influence soil bacterial communities than land-use type. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 79, p. 12-24, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2011.01192.x>
- KUZYAKOV, Y.; RAZAVI, B. S. Rhizosphere size and shape: Temporal dynamics and spatial stationarity. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 135, p. 343–360, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2019.05.011>
- LAROCA, J. V. S.; SOUZA, J. M. A.; PIRES, G. C.; PIRES, G. J. C.; PACHECO, L. P.; SILVA, F. D.; WRUCK, F. J.; CARNEIRO, M. A. C.; SILVA, L. S.; SOUZA, E. D. Soil quality and soybean productivity in crop-livestock integrated system in no-tillage. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 53, n. 11, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1590/s0100-204x2018001100007>

- LE NOË, J.; BILLEN, G.; GARNIER, J. How the structure of agro-food systems shapes nitrogen, phosphorus, and carbon fluxes: The generalized representation of agro-food system applied at the regional scale in France. **Science of the Total Environment**, v. 586, p. 42-55, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.02.040>
- LEHMAN, R. M.; TAHERI, W. I.; OSBORNE, S. L.; BUYER, J. S.; DOUDS JR, D. D. Fall cover cropping can increase arbuscular mycorrhizae in soils supporting intensive agricultural production. **Applied Soil Ecology**, v. 61, p. 300-304, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2011.11.008>
- LEITE, J. N. F.; CRUZ, M. C. P.; FERREIRA, M. E.; ANDRIOLI, I.; BRAOS, L. B. Frações orgânicas e inorgânicas do fósforo no solo influenciadas por plantas de cobertura e adubação nitrogenada. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.51, n.11, p.1880-1889, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2016001100010>
- LI, Y.; BEZEMER, T. M.; YANG, J.; LÜ, X.; LI, X.; LIANG, W.; HAN, X.; LI, Q. Changes in litter quality induced by N deposition alter soil microbial communities. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 130, p. 33-42, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2018.11.025>
- LIAO, H.; QIN, F.; WANG, K.; ZHANG, Y.; HAO, X.; CHEN, W.; HUANG, Q. Long-term chemical fertilization-driving changes in soil autotrophic microbial community depresses soil CO₂ fixation in a Mollisol. **Science of The Total Environment**, v. 748, 141317, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.141317>
- LIMA, H. N. B.; DUBEUX JR, J. C. B.; SANTOS, M. V. F.; MELLO, A. C. L.; LIRA, M. A.; CUNHA, M. V. Soil attributes of a silvopastoral system in Pernambuco Forest Zone. **Tropical Grasslands-Forrajes Tropicales**, v. 6, n. 1, p. 15–25, 2018. DOI: [https://doi.org/10.17138/TGFT\(6\)15-25](https://doi.org/10.17138/TGFT(6)15-25)
- LIMA, H. N. B.; DUBEUX JR, J. C. B.; SANTOS, M. V. F.; MELLO, A. C. L.; LIRA, M. A.; CUNHA, M. V.; FREITAS, E. V.; APOLINÁRIO, V. X. O. Herbage responses of signalgrass under full sun or shade in a silvopasture system using tree legumes. **Agronomy Journal**, p. 1–10, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1002/agj2.20137>
- LIRA JUNIOR, M. A.; FRACETTO, F. J. C.; FERREIRA, J. S.; SILVA, M. B.; FRACETTO, G. G. M. Legume-based silvopastoral systems drive C and N soil stocks in a subhumid tropical environment. **Catena**, v. 189, 104508, 2020a. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.catena.2020.104508>
- LIRA JUNIOR, M. A.; FRACETTO, F. J. C.; FERREIRA, J. S.; SILVA, M. B.; FRACETTO, G. G. M. Legume silvopastoral systems enhance soil organic matter quality in a subhumid tropical environment. **Soil Science Society of America Journal**, v. 84, p. 1209-1218, 2020b. DOI: <https://doi.org/10.1002/saj2.20106>
- LIU, J.; CADE-MENUN, B. J.; YANG, J.; HU, Y.; LIU, C. W.; TREMBLAY, J.; LaFORGE, K.; SCHELLENBERG, M.; HAMEL, C.; BAINARD, L. D. Long-term land use affects phosphorus speciation and the composition of phosphorus cycling genes in agricultural soils. **Frontiers in Microbiology**, v. 9, n. 1643, p. 1-14, 2018. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01643>

LIU, J.; KONG, W.; ZHANG, G.; KHAN, A.; GUO, G.; ZHU, C.; WEI, X.; KANG, S.; MORGAN-KISS, R. M. Diversity and succession of autotrophic microbial community in high-elevation soils along deglaciation chronosequence. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 92, n. 10, p. 1-11, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1093/femsec/fiw160>

LIU, M.; SUI, X.; HU, Y.; FENG, F. Microbial community structure and the relationship with soil carbon and nitrogen in an original Korean pine forest of Changbai Mountain, China. **BMC Microbiology**, v. 19, n. 218, p. 1-14, 2019a. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12866-019-1584-6>

LIU, X.; ZHANG, M.; LI, Z.; ZHANG, C.; WAN, C.; ZHANG, Y.; LEE, D.-J. Inhibition of urease activity by humic acid extracted from sludge fermentation liquid. **Bioresource Technology**, v. 290, 121767, 2019b. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.121767>

LIU, Y.; MI, G.; CHEN, F.; ZHANG, J.; ZHANG, F. Rhizosphere effect and root growth of two maize (*zea mays* l.) genotypes with contrasting p efficiency at low p availability. **Plant Science**, v. 167, n. 2, p. 217-223, 2004. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2004.02.026>

LOPES, A. A. C.; SOUSA, D. M. G.; REIS JUNIOR, F. B.; FIGUEIREDO, C. C.; MALAQUIAS, J. V.; SOUZA, L. M.; MENDES, I. C. Temporal variation and critical limits of microbial indicators in oxisols in the Cerrado, Brazil. **Geoderma Regional**, v. 12, p. 72–82, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.geodrs.2018.01.003>

LOPES, A. A. C.; SOUSA, D. M. G.; REIS JUNIOR, F. B.; MENDES, I. C. Air-drying and long-term storage effects on b-glucosidase, acid phosphatase and arylsulfatase activities in a tropical Savannah Oxisol. **Applied Soil Ecology**, v. 93, p. 68-77, 2015. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.apsoil.2015.04.001>

LOPES, A. S.; GUILHERME, L. R. G. A career perspective on soil management in the cerrado region of Brazil. **Advances in Agronomy**, v. 137, p. 1-72, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1016/bs.agron.2015.12.004>

LÓPEZ-SANTIAGO, J. G., CASANOVA-LUGO, F., VILLANUEVA-LÓPEZ, G., DÍAZ-ECHEVERRÍA, V. F., SOLORIO-SÁNCHEZ, F. J., MARTÍNEZ-ZURIMENDI, P., ARYAL, D. R., CHAY-CANUL, A. J. Carbon storage in a silvopastoral system compared to that in a deciduous dry forest in Michoacán, Mexico. **Agroforestry Systems**, v. 93, p. 199–211, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10457-018-0259-x>.

LOVELOCK, C. E.; WRIGHT, S. F.; CLARK, D. A.; RUESS, R. W. Soil stocks of glomalin produced by arbuscular mycorrhizal fungi across a tropical rain forest landscape. **Journal of Ecology**, v. 92, n. 2, p. 278-287, 2004. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.0022-0477.2004.00855.x>

LU, J.; QIU, K.; LI, W.; WU, Y.; TI, J.; CHEN, F.; WEN, X. Tillage systems influence the abundance and composition of autotrophic CO₂-fixing bacteria in wheat soils in North China. **European Journal of Soil Biology**, v. 93, n. 103086, p. 1-6, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ejsobi.2019.103086>

LUDWIG, M.; ACHTENHAGEN, J.; MILTNER, A.; ECKHARDT, K. U.; LEINWEBER, P.; EMMERLING, C.; THIELE-BRUHN, S. Microbial contribution to SOM quantity and

quality in density fractions of temperate arable soils. **Soil Biology and Biochemistry**, Amsterdam, v. 81, p. 311–322, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2014.12.002>

LUN, F.; LIU, J.; CIAIS, P.; NESME, T.; CHANG, J.; WANG, R.; GOLL, D.; SARDANS, J.; PEÑUELAS, J.; OBERSTEINER, M. Global and regional phosphorus budgets in agricultural systems and their implications for phosphorus-use efficiency. **Earth System Science Data**, v. 10, p. 1-18, 2018. DOI: <https://doi.org/10.5194/essd-10-1-2018>

LUO, G.; XUE, C.; JIANG, Q.; XIAO, Y.; ZHANG, F.; GUO, S.; SHEN, Q.; LING, N. Soil Carbon, Nitrogen, and Phosphorus Cycling Microbial Populations and Their Resistance to Global Change Depend on Soil C:N:P Stoichiometry. **Applied and Environmental Science**, v. 5, n. 3, e00162-20, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1128/mSystems.00162-20>.

LV, Y.; WANG, C. Y.; JIA, Y. Y.; WANG, W. W.; MA, X.; DU, J.; PU, G. Z.; TIAN, X. J. Effects of sulfuric, nitric, and mixed acid rain on litter decomposition, soil microbial biomass, and enzyme activities in subtropical forests of China. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v. 79, p. 1–9, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2013.12.002>

LYNN, T. M.; GE, T.; YUAN, H.; WEI, X.; WU, X.; XIAO, K.; KUMARESAN, D.; YU, S. S.; WU, J.; WHITELEY, A. S. Soil Carbon-Fixation Rates and Associated Bacterial Diversity and Abundance in Three Natural Ecosystems. **Microbial Ecology**, v. 73, p. 645-657, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00248-016-0890-x>

MAISTRY, P. M.; MUASYA, A. M.; VALENTINE, A. J.; CHIMPHANGO, S. B. M. Increasing nitrogen supply stimulates phosphorus acquisition mechanisms in the fynbos species *Aspalathus linearis*. **Functional Plant Biology**, v. 42, p. 52–62, 2015. DOI: <http://dx.doi.org/10.1071/FP14100>

MAKOI, J. H.; CHIMPHANGO, S. B.; DAKORA, F. D. Elevated levels of acid and alkaline phosphatase activity in roots and rhizosphere of cowpea (*vigna unguiculata* L. Walp.) genotypes grown in mixed culture and at different densities with sorghum (*sorghum bicolor* L.). **Crop and Pasture Science**, v. 61, n. 4, p. 279-286, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1071/CP09212>

MAKOI, J. H.; NDAKIDEMI, P. A. Selected soil enzymes: Examples of their potential roles in the ecosystem. **African Journal of Biotechnology**, v. 7, n. 3, p. 181-191, 2008. Disponível em: <http://www.academicjournals.org/AJB>

MALOBANE, M. E.; NCIIZAH, A. D.; NYAMBO, P.; MUDAU, F. N.; WAKINDIKI, I. I. C. Microbial biomass carbon and enzyme activities as influenced by tillage, crop rotation and residue management in a sweet sorghum cropping system in marginal soils of South Africa. **Heliyon**, v. 6, n. 11, e05513, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e05513>

MARKLEIN, A. R.; HOULTON, B. Z. Nitrogen inputs accelerate phosphorus cycling rates across a wide variety of terrestrial ecosystems. **New Phytologist**, v. 193, n. 3, p. 696-704, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2011.03967.x>

MARON, P-A.; SARR, A.; KAISERMANN, A.; LÉVÊQUE, J.; MATHIEU, O.; GUIGUE, J.; KARIMI, B.; BERNARD, L.; DEQUIEDT, S.; TERRAT, S.; CHABBI, A.; RANJARD, L. High Microbial Diversity Promotes Soil Ecosystem Functioning. **Applied and**

Environmental Microbiology, v. 84, n. 9, p. 1-13, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1128/AEM.02738-17>

MARTINS, G.; MORAINÉ, M.; RYSCHAWY, J.; MAGNE, M-A.; ASAI, M.; SARTHOU, J-P.; DURU, M.; THEROND, O. Crop–livestock integration beyond the farm level: a review. **Agronomy for Sustainable Development**, v. 36, n. 53, p. 1-21, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1007/s13593-016-0390-x>

MASEKO, S.; DAKORA, F. Rhizosphere acid and alkaline phosphatase activity as a marker of p nutrition in nodulated cyclopia and aspalathus species in the cape fynbos of South Africa. **South African Journal of Botany**, v. 89, p. 289-295, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2013.06.023>

MATEI, G-M.; MATEI, S.; MOCANU, V. Assessing the role of soil microbial communities of natural forest ecosystem. **The EuroBiotech Journal**, v. 4, n. 1, p. 1-7, 2020. DOI: <https://doi.org/10.2478/ebtj-2020-0001>

McGRODDY, M. E.; LERNER, A. M.; BURBANO, D. V.; SCHNEIDER, L. C.; RUDEL, T. K. Carbon stocks in silvopastoral systems: a study from four communities in southeastern Ecuador. **Biotropica**, v. 47, n. 4, p. 407–415, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1111/btp.12225>

MEDEIROS, E. V.; DUDA, G. P.; SANTOS, L. A. R.; LIMA, J. R. S.; ALMEIDA-CORTEZ, J. S.; HAMMECKER, C.; LARDY, L.; COURNAC, L. Soil organic carbon, microbial biomass and enzyme activities responses to natural regeneration in a tropical dry region in Northeast Brazil. **Catena**, Cremlingen, v. 151, p. 137-146, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.catena.2016.12.012>

MEDEIROS, E. V.; NOTARO, K. A.; BARROS, J. A.; MORAES, W. S.; SILVA, A. O.; MOREIRA, K. A. Absolute and specific enzymatic activities of sandy entisol from tropical dry forest, monoculture and intercropping areas. **Soil & Tillage Research**, Amsterdam, v. 145, p. 208-215, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.still.2014.09.013>

MEENA, M. D.; NARJARY, B.; SHEORAN, P.; JAT, H. S.; JOSHI, P. K.; CHINCHMALATPURE, A. R.; YADAV, G.; YADAV, R. K.; MEENA, M. K. Changes of phosphorus fractions in saline soil amended with municipal solid waste compost and mineral fertilizers in a mustard-pearl millet cropping system. **Catena**, v. 160, p. 32-40, 2018. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.catena.2017.09.002>

MENDES, I. C.; SOUZA, L. M.; SOUSA, D. M. G.; LOPES, A. A. C.; REIS JUNIOR, F. B.; LACERDA, M. P. C.; MALAQUIAS, J. V. Critical limits for microbial indicators in tropical Oxisols at post-harvest: The FERTBIO soil sample concept. **Applied Soil Ecology**, v. 139, p. 85–93, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2019.02.025>

MENDONÇA, E. S.; MATOS, E. S. **Matéria Orgânica do Solo: Métodos de Análises**. Viçosa, UFV, 2ª Ed., p. 154-169, 2017.

MENEZES, K. M. S.; SILVA, D. K. A.; GOUVEIA, G. V.; COSTA, M. M.; QUEIROZ, M. A. A.; YANO-MELO, A. M. Shading and intercropping with buffelgrass pasture affect soil biological properties in the Brazilian semi-arid region. **Catena**, v. 175, p. 236-250, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.catena.2018.12.021>

MERINO, C.; GODOY, R.; MATUS, F. Soil enzymes and biological activity at different levels of organic matter stability. **Journal of Soil Science and Plant Nutrition**. v. 16, n. 1, p. 14-30, 2016. DOI: <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-95162016005000002>

MILERA, M. C. Contribución de los sistemas silvopastoriles en la producción y el medio ambiente. **Avances en Investigación Agropecuaria**, v. 17, n. 3, p. 7-24, 2013.

MILERA, M.; LÓPEZ, O.; ALONSO, O. Principios generados a partir de la evolución del manejo en pastoreo para la producción de leche bovina en Cuba. **Pastos y Forrajes**, v. 37, n. 4, p. 382–391, 2014.

MORAES, J. M. A. S.; ZANCHI, C. S.; PIRES, G. C.; MORETTI, C. F.; BARBOSA, M. V.; SILVA, A. O.; PACHECO, L. P.; CARNEIRO, M. A. C.; OLIVEIRA, R. L.; KEMMELMEIER, K.; SOUZA, E. D. Arbuscular mycorrhizal fungi in integrated crop livestock systems with intercropping in the pasture phase in the Cerrado. **Rhizosphere**, v. 11, 100165, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.rhisph.2019.100165>

MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e bioquímica do solo**. 2. ed. Lavras: Universidade Federal de Lavras, 2006. 729 p.

MORI, T.; ZHOU, K.; WANG, C.; WANG, S.; WANG, Y.; ZHENG, M.; LU, X.; ZHANG, W.; MO, J. Effects of 14-year continuous nitrogen addition on soil arylsulfatase and phosphodiesterase activities in a mature tropical forest. **Global Ecology and Conservation**, v. 22, e00934, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.gecco.2020.e00934>

MOSQUERA, O.; BUURMAN, P.; RAMIREZ, B. L.; AMEZQUITA, M. C. Carbon stocks and dynamics under improved tropical pasture and silvopastoral systems in Colombian Amazonia. **Geoderma**, Amsterdam, v. 189-190, p. 81–86, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2012.04.022>

MOSQUERA-LOSADA, M. R.; RODRÍGUEZ-BARREIRA, S.; LÓPEZ-DÍAZ, M. L.; FERNÁNDEZ-NÚÑEZ, E.; RIGUEIRO-RODRÍGUEZ, A. Biodiversity and silvopastoral system use change in very acid soil. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v. 131, p. 315-324, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.agee.2009.02.005>

MUNGAI, W. N.; MOTAVALLI, P. P.; KREMER, R. J.; NELSON, K. A. Spatial variation in soil enzyme activities and microbial functional diversity in temperate alley cropping systems. **Biology and Fertility of Soils**, v. 42, p. 129–136, 2005. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00374-005-0005-1>

MURGUEITIO, R. E.; CALLE, Z.; URIBE, F.; CALLE, A.; SOLORIO, B.; Native trees and shrubs for the productive rehabilitation of cattle ranching lands. **Forest Ecology and Management**, v. 261, n. 10, p. 1654-1663, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2010.09.027>

NANNIPIERI, P.; GIAGNONI, L.; RENELLA, G.; PUGLISI, E.; CECCANTI, B.; MASCIANDARO, G.; FORNASIER, F.; MOSCATELLI, M. C.; MARINARI, S. Soil enzymology: Classical and molecular approaches. **Biology and Fertility of Soils**. v. 48, p. 743-762, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00374-012-0723-0>

- NASH, D. M.; HAYGARTH, P. M.; TURNER, B. L.; CONDRON, L. M.; MCDOWELL, R. W.; RICHARDSON, A. E.; WATKINS, M.; HEAVEN, M. W. Using organic phosphorus to sustain pasture productivity: A perspective. **Geoderma**, Amsterdam, v. 221-222, p. 11-19, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2013.12.004>
- NJERU, E. M.; AVIO, L.; SBRANA, C.; TURRINI, A.; BOCCI, G.; BÀRBERI, P.; GIOVANNETTI, M. First evidence for a major cover crop effect on arbuscular mycorrhizal fungi and organic maize growth. **Agronomy for Sustainable Development**, v. 34, p. 841-848, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1007/s13593-013-0197-y>
- PÁNEK, J.; KOLÁŘ, M.; VOHRADSKÝ, J.; VALÁŠEK, L. S. An evolutionary conserved pattern of 18S rRNA sequence complementarity to mRNA 5' UTRs and its implications for eukaryotic gene translation regulation. **Nucleic Acids Research**, v. 41, n. 16, p. 7625-7634, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1093/nar/gkt548>
- PEREIRA, C. M. R.; SILVA, D. K. A.; GOTO, B. T.; ROSENDAHL, S.; MAIA, L. C. Management practices may lead to loss of arbuscular mycorrhizal fungal diversity in protected areas of the Brazilian Atlantic Forest. **Fungal Ecology**, Amsterdam, v. 34, p. 50-58, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.funeco.2018.05.001>
- PEREIRA, J.P. Sistemas agroflorestais com a seringueira. **Informe Agropecuário**, v. 28, n. 237, p. 32-38, 2007.
- PÉREZ-BRANDÁN, C.; ARZENO, J.; HUIDOBRO, J.; CONFORTO, C.; GRÜMBERG, B.; HILTON, S.; BENDING, G.; MERILES, J.; VARGAS-GIL, S. The effect of crop sequences on soil microbial, chemical and physical indicators and its relationship with soybean sudden death syndrome (complex of *Fusarium* species). **Spanish Journal of Agricultural Research**, v. 12, n. 1, p. 252-254, 2014. DOI: <https://doi.org/10.5424/sjar/2014121-4654>
- PORTILHO, I. I. R.; SAVIN, M. C.; BORGES, C. D.; TSAI, S. M.; MERCANTE, F. M.; ROSCOE, R.; CARVALHO, L. A. Maintenance of N cycling gene communities with crop-livestock integration management in tropical agriculture systems. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, v. 267, p. 52-62, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.agee.2018.08.005>
- QIAN, X.; GU, J.; PAN, H-J.; ZHANG, K-Y.; SUN, W.; WANG, X-J. Effects of living mulches on the soil nutrient contents, enzymeactivities, and bacterial community diversities of apple orchard soils. **European Journal of Soil Biology**, v. 70, p. 23-30, 2015. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejsobi.2015.06.005>
- QU, T-B.; DU, W-C.; YUAN, X.; YANG, Z-M.; LIU, D-B.; WANG, D-L.; YU, L-J. Impacts of Grazing Intensity and Plant Community Composition on Soil Bacterial Community Diversity in a Steppe Grassland. **PLoS ONE**, v.11, n. 7, p. 1-16, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0159680>
- REBOUÇAS, E. L.; COSTA, J. J. N.; PASSOS, M. J.; PASSOS, J. R. S.; VAN DEN HURK, R.; SILVA, J. R. V. Real time PCR and importance of housekeeping genes for normalization and quantification of mRNA expression in different tissues. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 56, n. 1, p. 143-154, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1516-89132013000100019>

- ROWE, H.; WITHERS, P. J. A.; BAAS, P.; CHAN, N. I.; DOODY, D.; HOLIMAN, J.; JACOBS, B.; LI, H.; MACDONALD, G. K.; MCDOWELL, R.; SHARPLEY, A. N.; SHEN, J.; TAHERI, W.; WALLENSTEIN, M.; WEINTRAUB, M. N. Integrating legacy soil phosphorus into sustainable nutrient management strategies for future food, bioenergy and water security. **Nutrient Cycling in Agroecosystems**, v. 104, n. 3, p. 393-412, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10705-015-9726-1>
- SAKURAI, M.; WASAKI, J.; TOMIZAWA, Y.; SHINANO, T.; OSAKI, M. Analysis of bacterial communities on alkaline phosphatase genes in soil supplied with organic matter. **Soil Science and Plant Nutrition**, v. 54, p. 62-71, 2008. DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1747-0765.2007.00210.x>.
- SÁNCHEZ-SANTANA, T.; LÓPEZ-VIGO, O.; IGLESIAS-GÓMEZ, J. M.; LAMELA-LÓPEZ, L.; SOCA-PÉREZ, M. The potential of silvopastoral systems for cattle production in Cuba. **Elementa Science of the Anthropocene**, v. 6, n. 82, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1525/elementa.334>
- SANTOS, A.; SILVA, C. F.; GAMA-RODRIGUES, E. F.; GAMA-RODRIGUES, A. C.; SALES, M.; FAUSTINO, L. L.; BARRETO-GARCIA, P. A. B. Glomalin in soil aggregates under different forest and pasture systems in the North of Rio de Janeiro state, Brazil. **Environmental and Sustainability Indicators**, 100088, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.indic.2020.100088>
- ŠARAPATKA, B.; ALVARADO-SOLANO, D. P.; ČIŽMÁR, D. Can glomalin content be used as an indicator for erosion damage to soil and related changes in organic matter characteristics and nutrients? **Catena**, v. 181, 104078, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.catena.2019.104078>
- SARTO, M. V. M.; BORGES, W. L. B.; SARTO, J. R. W.; PIRES, C. A. B.; RICE, C. W.; ROSOLEM, C. A. Soil microbial community and activity in a tropical integrated crop-livestock system. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v. 145, n. 103350, p. 1-11, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2019.08.012>
- SATO, K.; SUYAMA, Y.; SAITO, M.; SUGAWARA, K. A new primer for discrimination of arbuscular mycorrhizal fungi with polymerase chain reaction-denature gradient gel electrophoresis. **Grassland Science**, v. 51, n. 2, p. 179-181, 2005. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1744-697X.2005.00023.x>
- SCHETTINI, B. L. S.; JACOVINE, L. A. G.; TORRES, C. M. M. E.; OLIVEIRA NETO, S. N.; ROCHA, S. J. S. S.; ALVES, E. B. B. M.; VILLANOVA, P. H. Estocagem de Carbono em Sistemas Silvopastoris com Diferentes Arranjos e Materiais Genéticos. **Advances in Forestry Science**, v. 4, n. 4, p. 175–179, 2018. DOI: <https://doi.org/10.34062/afs.v4i4.5042>
- SEGUEL, A.; RUBIO, R.; CARRILLO, R.; ESPINOSA, A.; BORIE, F. Levels of glomalin and their relation with soil chemical and biological soil (andisol) characteristics in a relic of native forest of southern Chile. **Bosque**, v. 29, n. 1, p. 11-22, 2008. DOI: <http://dx.doi.org/10.4067/S0717-92002008000100002>
- SEKARAN, U.; LOYA, J. R.; ABAGANDURA, G. O.; SUBRAMANIAN, S.; OWENS, V.; KUMAR, S. Intercropping of kura clover (*Trifolium ambiguum* M. Bieb) with prairie

cordgrass (*Spartina pectinata* link.) enhanced soil biochemical activities and microbial community structure. **Applied Soil Ecology**, v. 147, 103427, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2019.103427>

SHARIFI, Z.; AZADI, N.; RAHIMI, S.; CERTINI, G. The response of glomalin-related soil proteins to fire or tillage. **Geoderma**, v. 329, p. 65-72, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2018.05.008>

SHEN, J.; YUAN, L.; ZHANG, J.; LI, H.; BAI, Z.; CHEN, X.; ZHANG, W.; ZHANG, F. Phosphorus Dynamics: From Soil to Plant. **Plant Physiology**, v. 156, p. 997–1005, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1104/pp.111.175232>

SILVA, A. B.; LIRA JUNIOR, M. A.; DUBEUX JUNIOR, J. C. B.; FIGUEIREDO, M. V. B.; VICENTIN, R. P. Estoque de serapilheira e fertilidade do solo em pastagem degradada de *Brachiaria decumbens* após implantação de leguminosas arbustivas e arbóreas forrageiras. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 37, p. 502-511, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-06832013000200021>

SILVA, E. O.; DE MEDEIROS, E. V.; DUDA, G. P.; LIRA JUNIOR, M. A.; BROSSARD, M.; DE OLIVEIRA, J. B.; SANTOS, U. J.; HAMMECKER, C. Seasonal effect of land use type on soil absolute and specific enzyme activities in a Brazilian semi-arid region. **Catena**, Cremlingen, v. 172, p. 397-407, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.catena.2018.09.007>

SONG, K.; XUE, Y.; ZHENG, X.; LV, W.; QIAO, H.; QIN, Q.; YANG, J. Effects of the continuous use of organic manure and chemical fertilizer on soil inorganic phosphorus fractions in calcareous soil. **Scientific Reports**, v. 7, n. 1164, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-017-01232-2>

SOUSA, H. M.; CORREA, A. R.; SILVA, B. M.; OLIVEIRA, S. S.; CAMPOS, D. T. S.; WRUCK, F. J. Dynamics of soil microbiological attributes in integrated crop-livestock systems in the cerrado-amazonônia ecotone. **Revista Caatinga**, v. 33, n. 1, p. 09 – 20, 2020. DOI: <https://dx.doi.org/10.1590/1983-21252020v33n102rc>

STAUNTON, S.; SABY, N. P. A.; ARROUAYS, D.; QUIQUAMPOIX, H. Can soil properties and land use explain glomalin-related soil protein (GRSP) accumulation? A nationwide survey in France. **Catena**, v. 193, 104620, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.catena.2020.104620>

STEFFEN, W.; RICHARDSON, K.; ROCKSTRÖM, J.; CORNELL, S. E.; FETZER, I.; BENNETT, E. M.; BIGGS, R.; CARPENTER, S. R.; DE VRIES, W.; DE WIT, C. A.; FOLKE, C.; GERTEN, D.; HEINKE, J.; MACE, G. M.; PERSSON, L. M.; RAMANATHAN, V.; REYERS, B.; SÖRLIN, S. Planetary boundaries: Guiding human development on a changing planet. **Science**, v. 347, n. 6223, 2015. DOI: <http://dx.doi.org/10.1126/science.1259855>

TABATABAI, M. A.; BREMNER, J.M. Distribution of total and available sulfur in selected soils and soil profiles. **Agronomy Journal**, v. 64, n. 1, p. 40-44, 1972. DOI: <https://doi.org/10.2134/agronj1972.00021962006400010013x>

TARDY, V.; SPOR, A.; MATHIEU, O.; LÉVÈQUE, J.; TERRAT, S.; PLASSART, P.; REGNIER, T.; BARDGETT, R.D.; DER PUTTEN, W.H.; ROGGERO, P. P.; SEDDAIU, G.; BAGELLA, S.; LEMANCEAU, P.; RANJARD, L.; MARON, P-A. Shifts in microbial diversity through land use intensity as drivers of carbon mineralization in soil. **Soil Biology and Biochemistry**, Amsterdam, v. 90, p. 204–213, 2015. DOI:

<https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2015.08.010>

TEDERSOO, L.; BAHRAM, M.; ZOBEL, M. How mycorrhizal associations drive plant population and community biology. *Science*, v. 367, eaba1223, 2020. DOI:

<http://dx.doi.org/10.1126/science.aba1223>

TEDESCHI, L. O.; MUIR, J. P.; RILEY, D. G.; FOX, D. G. The role of ruminant animals in sustainable livestock intensification programs. **International Journal of Sustainable Development & World Ecology**, v. 22, n. 5, p. 452-465, 2015. DOI:

<https://doi.org/10.1080/13504509.2015.1075441>

TEILLARD, F.; ANTON, A.; DUMONT, B.; FINN, J.; HENRY, B.; SOUZA, D. M.; MANZANO, P.; MILÀ I CANALS, L.; PHELPS, C.; SAID, M.; VIJN, S.; WHITE, S. A **review of indicators and methods to assess biodiversity – application to livestock production at global scale**. Livestock Environmental Assessment and Performance Partnership (LEAP). FAO, Rome, Italy. 2016.

THAPA, V. R.; GHIMIRE, R.; ACOSTA-MARTÍNEZ, V.; MARSALIS, M. A. Cover crop biomass and species composition affect soil microbial community structure and enzyme activities in semiarid cropping systems. **Applied Soil Ecology**, v. 157, 103735, 2021. DOI:

<https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2020.103735>

TIAN, J.; WEI, K.; CONDRON, L. M.; CHEN, Z.; XU, Z.; CHEN, L. Impact of land use and nutrient addition on phosphatase activities and their relationships with organic phosphorus turnover in semi-arid grassland soils. **Biology and Fertility of Soil**, v. 52, p. 675-683, 2016. DOI:

<https://doi.org/10.1007/s00374-016-1110-z>

TRASAR-CEPEDA, C.; LEIRÓS, M. C.; GIL-SOTRES, F. Hydrolytic enzyme activities in agricultural and forest soils. Some implications for their use as indicators of soil quality. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 40, p. 2146-2155, 2008. Doi:

<https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2008.03.015>

ULLAH, R.; LONE, M. I.; ULLAH, K. S.; MEHDI, S. M.; QAZI, M. A. Effect of cropping system and seasonal variation on soil microbial biomass and enzymatic activities in arid soils. **The Journal of Animal & Plant Sciences**, v. 23, n. 2, p. 493-499, 2013.

ULLAH, R.; LONE, M. I.; MIAN, S. M.; ALI, S.; ULLAH, K. S.; SHEIKH, A. A.; ALI, I. Impact of seasonal variations and cropping systems on soil microbial biomass and enzymatic activities in slope gradient moisture stressed soils of Punjab-Pakistan. **Soil and Environment**, v. 31, n. 1, p. 21-29, 2012.

VALLEJO, V. E.; ARBELI, Z.; TERÁN, W.; LORENZ, N.; DICK, R. P.; ROLDAN, F. Effect of land management and *Prosopis juliflora* (Sw.) DC trees on soil microbial community and enzymatic activities in intensive silvopastoral systems of Colombia. **Agriculture**,

Ecosystems & Environment, v. 150, p. 139-148, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.agee.2012.01.022>

VAN AARLE, I. M.; PLASSARD, C. Spatial distribution of phosphatase activity associated with ectomycorrhizal plants is related to soil type. **Soil Biology and Biochemistry**, Amsterdam, v. 42, n. 2, p. 324-330, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2009.11.011>

VEERARAGAVAN, S.; DURAISAMY, R.; MANI, S. Seasonal variation of soil enzyme activities in relation to nutrient and carbon cycling in *Senna alata* (L.) Roxb invaded sites of Puducherry region, India. **Geology, Ecology, and Landscapes**, v. 2, n. 3, p. 155-168, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1080/24749508.2018.1452465>

VINHAL-FREITAS, I. C.; CORRÊA, G. F.; WENDLING, B.; BOBUESKÁ, L.; FERREIRA, A. S. Soil textural class plays a major role in evaluating the effects of land use on soil quality indicators. **Ecological Indicators**, v. 74, p. 182–190, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2016.11.020>

VLČEK, V.; POHANKA, M. Glomalin – an interesting protein part of the soil organic matter. **Soil and Water Research**, v. 15, p. 67-74, 2020. DOI: <https://doi.org/10.17221/29/2019-SWR>

VOŘÍŠKOVÁ, A.; JANSÁ, J.; PÜSCHEL, D.; KRÜGER, M.; CAJTHAML, T.; VOSÁTKA, M.; JANOUŠKOVÁ, M. Real-time PCR quantification of arbuscular mycorrhizal fungi: does the use of nuclear or mitochondrial markers make a difference? **Mycorrhiza**, v. 27, n. 6, p. 577-585, 2017. Doi: <https://doi.org/10.1007/s00572-017-0777-9>

WAGG, C.; BENDER, S. F.; WIDMER, F.; VAN DER HEIJDEN, M. G. A. Soil biodiversity and soil community composition determine ecosystem multifunctionality. **Proceedings of the National Academy of Science of the USA**, v. 111, n. 14, p. 5266–5270, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.1320054111>

WANG, Q.; WANG, W.; HE, X.; ZHANG, W.; SONG, K.; HAN, S. Role and Variation of the Amount and Composition of Glomalin in Soil Properties in Farmland and Adjacent Plantations with Reference to a Primary Forest in North-Eastern China. **PLoS ONE**, v. 10, n. 10, e0139623, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0139623>

WANG, S.; ZHOU, K.; MORI, T.; MO, J.; ZHANG, W. Effects of phosphorus and nitrogen fertilization on soil arylsulfatase activity and sulfur availability of two tropical plantations in southern China. **Forest Ecology and Management**, v. 453, 117613, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2019.117613>

WANG, X-X.; HOFFLAND, E.; FENG, G.; KUYPER, T. Phosphate Uptake from Phytate Due to Hyphae-Mediated Phytase Activity by Arbuscular Mycorrhizal Maize. **Frontiers in Plant Science**, v. 8, n. 684, p. 1-8, 2017. DOI: <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00684>

WHITESIDE, M. D.; WERNER, G. D. A.; CALDAS, V. E. A.; VAN'T PADJE, A.; DUPIN, S. E.; ELBERS, B.; BAKKER, M.; WYATT, G. A. K.; KLEIN, M.; HINK, M. A.; POSTMA, M.; VAITLA, B.; NOË, R.; SHIMIZU, T. S.; WEST, S. A.; KIERS, E. T. Mycorrhizal Fungi Respond to Resource Inequality by Moving Phosphorus from Rich to Poor

Patches across Networks. **Current Biology**, v. 29, p. 2043–2050, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cub.2019.04.061>

WINAGRASKI, E.; KASCHUK, G.; MONTEIRO, P. H. R.; AUER, C. G.; HIGA, A. R. Diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in forest ecosystems of Brazil: a review. **Cerne**, v. 25, n. 1, p. 25-35, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1590/01047760201925012592>

WRIGHT, S. F.; UPADHYAYA, A. A survey of soils for aggregate stability and glomalin, a glycoprotein produced by hyphae of arbuscular mycorrhizal fungi. **Plant and Soil**, v. 198, p. 97-107, 1998. DOI: <https://doi.org/10.1023/A:1004347701584>

WRIGHT, S. F.; UPADHYAYA, A. A extraction of an abundant and unusual protein from soil and comparison with hyphal protein of arbuscular mycorrhizal fungi. **Soil Science**, Baltimore, v. 161, n. 9, p. 575-586, 1996. DOI: <https://doi.org/10.1097/00010694-199609000-00003>

WU, Q. S.; CAO, M-Q.; ZOU, Y-N.; HE, X-H. Direct and indirect effects of glomalin, mycorrhizal hyphae, and roots on aggregate stability in rhizosphere of trifoliate orange. **Scientific Reports**, v. 4, n. 5823, p. 1-8, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1038/srep05823>

WU, X.; GE, T.; WANG, W.; YUAN, H.; WEGNER, C-E.; ZHU, Z.; WHITELEY, A. S.; WU, J. Cropping systems modulate the rate and magnitude of soil microbial autotrophic CO₂ fixation in soil. **Frontiers in Microbiology**, v. 6, n. 379, p. 1-10, 2015. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00379>

WYATT, G. A. K.; KIERS, E. T.; GARDNER, A.; WEST, S. A. A biological market analysis of the plant-mycorrhizal symbiosis. **Evolution**, v. 68, p. 2603-2618, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1111/evo.12466>

WYSZKOWSKA, J.; BOROWIK, A.; OLSZEWSKI, J.; KUCHARSKI, J. Soil Bacterial Community and Soil Enzyme Activity Depending on the Cultivation of *Triticum aestivum*, *Brassica napus*, and *Pisum sativum* ssp. *arvense*. **Diversity**, v. 11, n. 246, 2019. DOI: <https://doi.org/10.3390/d11120246>

XIAO, D.; TAN, Y.; LIU, X.; YANG, R.; ZHANG, W.; HE, X.; WANG, K. Effects of different legume species and densities on arbuscular mycorrhizal fungal communities in a karst grassland ecosystem. **Science of The Total Environment**, v. 678, p. 551-558, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.04.293>

XIE, Y.; WANG, F.; WANG, K.; YUE, H.; LAN, X. Responses of bacterial *phoD* gene abundance and diversity to crop rotation and feedbacks to phosphorus uptake in wheat. **Applied Soil Ecology**, v. 154, 103604, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2020.103604>

XIONG, L.; WANG, P.; KOPITTKKE, P. M. Tailoring hydroxyapatite nanoparticles to increase their efficiency as phosphorus fertilisers in soils. **Geoderma**, Amsterdam, v. 323, p. 116–125, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2018.03.002>

XUE, P-P.; CARRILLO, Y.; PINO, V.; MINASNY, B.; MCBRATNEY, A. B. Soil Properties Drive Microbial Community Structure in a Large Scale Transect in South Eastern

Australia. **Scientific Reports**, v. 8, n. 11725, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-018-30005-8>

YADA, M. M.; MINGOTTE, F. L. C.; MELO, W. J.; MELO, G. P.; MELO, V. P.; LONGO, R. M.; RIBEIRO, A. I. Atributos químicos e bioquímicos em solos degradados por mineração de estanho e em fase de recuperação em ecossistemas amazônicos. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 39, n. 3, p. 714-724, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1590/01000683rbc20140499>

YANG, M.; YANG, D.; YU, X. Soil microbial communities and enzyme activities in sea-buckthorn (*Hippophae rhamnoides*) plantation at different ages. **PLoS ONE**, v. 13, n. 1, e0190959, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0190959>

YAO, M. J.; RUI, J. P.; NIU, H. S.; HEDÉNEC, P.; LI, J. B.; HE, Z. L.; WANG, J. M.; CAO, W. D.; LI, X. Z. The differentiation of soil prokaryote communities along a precipitation and temperature gradient in the eastern Inner Mongolia steppe. **Catena**, v. 152, p. 47-56, 2017. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.catena.2017.01.007>

YU, J.; QU, F.; WU, H.; MENG, L.; DU, S.; XIE, B. Soil Phosphorus Forms and Profile Distributions in the Tidal River Network Region in the Yellow River Delta Estuary. **The Scientific World Journal**, v. 2014, n. 912083, p. 1-11, 2014. DOI: <http://dx.doi.org/10.1155/2014/912083>

YUAN, H.; GE, T.; ZOU, S.; WU, X.; LIU, S.; ZHOU, P.; CHEN, X.; BOOKES, P.; WU, J. Effect of land use on the abundance and diversity of autotrophic bacteria as measured by ribulose-1, 5-biphosphate carboxylase/oxygenase (RubisCO) large subunit gene abundance in soils. **Biology and Fertility Soils**, v. 49, p. 609–616, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00374-012-0750-x>

YUAN, H.; GE, T.; CHEN, C.; O'DONNELL, A. G.; WU, J. S. Significant role for microbial autotrophy in the sequestration of soil carbon. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 78, p. 2328-2336, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1128/AEM.06881-11>

ZANDONA, A. P.; COLOZZI FILHO, A.; PONTES, L. S. Effects of trees and nitrogen supply on the soil microbiological attributes on integrated crop-livestock systems. **Revista Ceres**, v. 66, n. 3, p. 226-234, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1590/0034-737x201966030009>

ZHANG, J.; BEUSEN, A. H. W.; VAN APELDOORN, D. F.; MOGOLLÓN, J. M.; YU, C.; BOUWMAN, A. F. Spatiotemporal dynamics of soil phosphorus and crop uptake in global cropland during the 20th century. **Biogeosciences**, v. 14, p. 2055–2068, 2017. DOI: <https://doi.org/10.5194/bg-14-2055-2017>

ZHANG, M.; O'CONNOR, P.; ZHANG, J.; YE, X. Linking soil nutrient cycling and microbial community with vegetation cover in riparian zone. **Geoderma**, v. 384, 114801, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2020.114801>

ZHAO, F.; ZHANG, Y.; DIJKSTRA, F. A.; LI, Z.; ZHANG, Y.; ZHANG, T.; LU, Y.; SHI, J.; YANG, L. Effects of amendments on phosphorous status in soils with different phosphorous levels. **Catena**, v. 172, p. 97-103, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.catena.2018.08.016>

ZHOU, X.; FORNARA, D.; IKENAGA, M.; AKAGI, I.; ZHANG, R.; JIA, Z. The Resilience of Microbial Community under Drying and Rewetting Cycles of Three Forest Soils.

Frontiers in Microbiology, v. 7, n. 1101, p. 1-12, 2016. DOI:

<https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01101>

ZHU, J.; LI, M.; WHELAN, M. Phosphorus activators contribute to legacy phosphorus availability in agricultural soils: a review. **Science of The Total Environment**, v. 62, p. 522–

537, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.08.095>

ZOU, Y-N.; SRIVASTAVA, A. K.; WU, Q-S. Glomalin, a potential soil conditioner for perennial fruits. **International Journal of Agriculture & Biology**, v. 18, n. 2, p. 293–297,

2016. DOI: <https://doi.org/10.17957/IJAB/15.0085>