

**DISTRIBUIÇÃO DA COMUNIDADE MICROBIANA E ATIVIDADE
ENZIMÁTICA EM FRAÇÕES DE AGREGADOS DO SOLO SOB
COBERTURAS VEGETAIS NO BIOMA MATA ATLÂNTICA**

ANDRÉIA FRANCISCA RITER NETTO

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE
DARCY RIBEIRO**

**CAMPOS DOS GOYTACAZES – RJ
MARÇO - 2023**

DISTRIBUIÇÃO DA COMUNIDADE MICROBIANA E ATIVIDADE
ENZIMÁTICA EM FRAÇÕES DE AGREGADOS DO SOLO SOB
COBERTURAS VEGETAIS NO BIOMA MATA ATLÂNTICA

ANDRÉIA FRANCISCA RITER NETTO

“Dissertação apresentada ao Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como parte das exigências para obtenção do título de Mestra em Produção Vegetal”

Orientadora: Prof^a Emanuela Forestieri da Gama-Rodrigues

CAMPOS DOS GOYTACAZES – RJ
MARÇO – 2023

FICHA CATALOGRÁFICA

UENF - Bibliotecas

Elaborada com os dados fornecidos pela autora.

N476 Netto, Andréia Francisca Riter.

DISTRIBUIÇÃO DA COMUNIDADE MICROBIANA E ATIVIDADE ENZIMÁTICA EM FRAÇÕES DE AGREGADOS DO SOLO SOB COBERTURAS VEGETAIS NO BIOMA MATA ATLÂNTICA / Andréia Francisca Riter Netto. - Campos dos Goytacazes, RJ, 2023.

61 f. : il.
Bibliografia: 39 - 49.

Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) - Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias, 2023.
Orientadora: Emanuela Forestieri da Gama Rodrigues.

1. Leguminosa arbórea. 2. Agregação do solo. 3. Enzimas. I. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. II. Título.

CDD - 630

DISTRIBUIÇÃO DA COMUNIDADE MICROBIANA E ATIVIDADE
ENZIMÁTICA EM FRAÇÕES DE AGREGADOS DO SOLO SOB
COBERTURAS VEGETAIS NO BIOMA MATA ATLÂNTICA

ANDRÉIA FRANCISCA RITER NETTO

“Dissertação apresentada ao Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como parte das exigências para obtenção do título de Mestra em Produção Vegetal”

Aprovada em 31 de março de 2023.

Comissão Examinadora:

Prof. Marco Antonio Martins (Ph.D., Microbiologia do Solo) – UENF

David Pessanha Siqueira (D.Sc., Produção Vegetal) – UENF

Prof. Paulo Henrique Marques Monroe (D.Sc., Produção Vegetal) - UESB

Prof^a Emanuela Forestieri da Gama-Rodrigues (Ph.D., Ciência do Solo) – UENF
(Orientadora)

À memória do meu pai, José Ritter;
À minha mãe Marinete e meus irmãos;
A meus amados filhos Larissa, Letícia e João;

Dedico

AGRADECIMENTOS

A Deus na certeza que esteve sempre comigo nos dias de êxito, nos dias exaustivos e quando ninguém pôde ver;

À Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, ao Centro de Ciências e Tecnologia Agropecuária, ao Laboratório de Solos e ao Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal, pela oportunidade de desenvolver um projeto no curso de Mestrado em prol da minha capacitação profissional;

À minha orientadora Prof^a Dra. Emanuela Forestieri da Gama Rodrigues, por toda sabedoria compartilhada para meu crescimento. Por ser compreensiva, altruísta e sempre me dar o apoio necessário para condução da pesquisa científica realizada;

Aos amigos de profissão Kátia, Vanilda, Ederaldo e André agradeço todo apoio que me deram durante o curso de mestrado e aos professores do LSOL pela contribuição em minha formação;

À parceria e dedicação no desenvolvimento das análises laboratoriais do colega David Pessanha e ao excelente profissional Seldon Aleixo pelas contribuições importantes para o meu trabalho e por toda ajuda na estatística com tanta gentileza.

Às minhas amigas-irmãs Alessandra Lamonica, Gina Sanguedo, Mariane Tavora e Rivea Rodrigues por todo apoio nessa busca pelo conhecimento e ao meu grande amigo Fabio Sander que muito me incentivou a iniciar o curso de mestrado.

SUMÁRIO

AGRADECIMENTOS	iii
SUMÁRIO	iv
RESUMO	vi
ABSTRACT	viii
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	4
2.1. Árvores leguminosas e qualidade do solo	4
2.2. Agregados do solo	5
2.3. Atividade enzimática do solo como indicador biológico.....	8
2.4. Propriedades biológicas nos agregados do solo	12
3. MATERIAL E MÉTODOS	14
3.1. Descrição da área de estudo.....	14
3.2. Amostragem do solo e caracterização da área	15
3.3. Fracionamento dos Agregados	16
3.4. Atividade enzimática e contagem de microrganismos.....	17
3.5. Análise estatística	19
4. RESULTADOS	20
4.1. Atributos químicos e microbiológicos do solo.....	20
4.2. Distribuição das frações de agregados do solo.....	23
4.3. Atributos químicos nas frações de agregados	24
4.4. Atributos microbiológicos nas frações de agregados	26
4.5. Análise de componentes principais (ACP)	30
5. DISCUSSÃO	33
6. CONCLUSÕES	38

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....39

RESUMO

RITER NETTO, Andréia Francisca; MSc.; Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro; março de 2023; Distribuição da comunidade microbiana e atividade enzimática em frações de agregados do solo sob diferentes coberturas vegetais no bioma Mata Atlântica; Orientadora: DSc. Emanuela Forestieri da Gama-Rodrigues.

Um mecanismo importante para controlar a biodisponibilidade e acessibilidade da matéria orgânica pelos microrganismos e enzimas do solo é a proteção física dentro dos agregados. O objetivo desse estudo foi determinar a distribuição da atividade enzimática e da comunidade de fungos e bactérias totais; os teores de carbono orgânico (CO), N total e P disponível em diferentes frações de agregados do solo sob plantio de leguminosa arbórea Sabiá, pastagem não-manejada e floresta natural, em área localizada na Fazenda Carrapeta, município de Conceição de Macabu-RJ. Dessa forma, o presente estudo buscou responder aos seguintes questionamentos: o Sabiá proporciona condições mais favoráveis à proteção da atividade enzimática nos agregados do solo? A distribuição da população microbiana e da atividade enzimática está diretamente relacionada ao tamanho da fração de agregado e ao tipo de cobertura vegetal? Foram então determinados os teores de CO, N total, P disponível, pH, o número total de bactérias e fungos e as atividades das enzimas fosfatase ácida, urease e da β -glicosidase, relacionadas à ciclagem de P, N e C, respectivamente. Os resultados mostram dissimilaridade da floresta em relação às demais coberturas e dissimilaridade da leguminosa em relação à pastagem, com maior atividade da

fosfatase ácida e teor de P disponível no solo e em agregados sob o Sabiá e a floresta. Já a floresta proporcionou maior teor de CO e atividade da urease que as demais coberturas e o Sabiá maior população de fungos. Assim, o sistema com uso de leguminosa Sabiá em uma região de clima tropical no Brasil deve ser incentivado para recuperação de áreas degradadas por ser favorável à manutenção da microbiota e sua atividade nos agregados do solo.

ABSTRACT

RITER NETTO, Andréia Francisca; MSc.; State University of North Fluminense Darcy Ribeiro; march 2023; Distribution of soil microbial community and enzymatic activity in soil aggregated under different land uses in the Atlantic forest biome; Advisor: DSc. Emanuela Forestieri da Gama-Rodrigues.

An important mechanism to control soil organic matter bioavailability and accessibility for microorganisms and their soil enzymes is the physical protection within soil aggregates. This study aimed to determine the distribution of soil enzymatic activity and fungi and bacteria communities; soil organic carbon (SOC), total N, and available P in fractions of soil aggregates beneath a legume tree species (*Sabia*), a pasture, and a natural forest. The areas are located within the Conceicao de Macabu municipality, Rio de Janeiro. This study addressed the following questions: Does the legume plantation promote better protection for the enzymatic activity in soil aggregates? Are the soil microbial community and enzymatic activity directly related to both the size of soil fraction and land-use cover? We determined the SOC, total N, available P, soil pH, total number of bacteria and fungi, and the activity of acid phosphatase, urease, and β -glucosidase enzymes. These enzymes are related to acquiring/cycling P, N, and C, respectively. The results revealed dissimilarity between the natural forest and other land uses, and dissimilarity of the legume in relation to the pasture, where the highest acid phosphatase activity and available were found in soil and in soil aggregates beneath *Sabia* and the forest. However, the natural forest resulted in gains for SOC and urease activity compared to the pasture and legume tree

plantation. We observed the highest fungi population under the legume tree plantation. Thus, the Sabia legume tree plantation in tropical climate conditions should be recommended for afforestation of degraded areas as the maintenance of soil microbial community and activity in the soil aggregates will be successful.

1. INTRODUÇÃO

A Mata Atlântica abrange cerca de 15% do território brasileiro, incluindo 17 estados. É uma das florestas mais ricas em diversidade de espécies, no entanto, hoje existem apenas 12,4% da floresta original (SOS Mata Atlântica, 2021). A diversidade de espécies de árvores é o principal fator regulador para maior biodiversidade e funções da floresta (Sanaei et al., 2021).

No estado do Rio de Janeiro, entre os municípios que mais desmataram a Mata Atlântica entre 2014 e 2015, está Conceição de Macabu, com a eliminação de seis hectares de floresta nesse período (SOS Mata Atlântica e INPE, 2016). O desmatamento de florestas para implementação de pastos e culturas, utilizando derrubadas e queimadas, tem graves consequências. As queimadas alteram as propriedades do solo como pH, quantidade e composição química da matéria orgânica (MO), disponibilidade de nutrientes e retenção de umidade, que controlam a taxa de recuperação das populações microbianas (Pomianoski et al., 2006; Prendergast-Miler et al., 2017).

A recuperação de solos degradados tem como promissora alternativa o uso de leguminosas arbóreas associadas a bactérias fixadoras de N_2 e fungos micorrízicos, simbioses que atuam na fixação de nitrogênio e na produção da biomassa vegetal (Primieri et al., 2021). Dados anteriores sobre essas mesmas coberturas vegetais mostraram um estoque significativo de C e N no solo em *A. auriculiformis* e *Inga edulis*, até 1 m, em uma faixa de 150–170 e 15–18 $Mg\ ha^{-1}$, respectivamente. Por sua vez, a *Mimosa caesalpiniiifolia* e floresta secundária armazenaram 120 e 10 $Mg\ ha^{-1}$, respectivamente (Gomes, 2009).

Uma espécie leguminosa nativa e endêmica do Brasil, muito utilizada em reflorestamento, é a *Mimosa caesalpinifolia* Benth (Sabiá). A utilização do Sabiá na recuperação de pastagens degradadas proporciona a formação de uma camada de serapilheira que favorece a acumulação de matéria orgânica e, assim, cria condições microambientais favoráveis para a comunidade faunística, resultando em maior abundância e diversidade biológica (Manhães et al., 2013; Faustino et al., 2022). Outra característica importante é a baixa relação C:N da serapilheira das leguminosas que acelera a decomposição e influencia a composição química da MO, favorecendo o aumento do teor de CO e a agregação do solo (Harza et al., 2019).

Além disso, a agregação do solo também é influenciada pela deposição contínua de serapilheira em sistemas florestais; pela presença de raízes e hifas de fungos que criam locais de nucleação para o crescimento de fungos e outros microrganismos do solo. Cria-se, portanto, uma extensa rede e também uma mistura de produtos de origem microbiana e vegetal (mucilagem), entre eles a glomalina. A glomalina é uma glicoproteína produzida pelos fungos micorrízicos que atua como agente cimentante na formação dos agregados do solo e representa um reservatório de C e N nos agregados do solo (Santos et al., 2020).

Assim, a proteção física da matéria orgânica do solo através da sua oclusão dentro de agregados e a proteção química através da sua interação com a superfície dos minerais ou com outras moléculas orgânicas são consideradas como importantes mecanismos para reduzir a biodisponibilidade e acessibilidade da matéria orgânica do solo por microrganismos e enzimas do solo (Six et al., 2000).

Além de mediar a transformação da MO, as comunidades microbianas são uma fonte primária de enzimas do solo (Ghosh et al., 2020). A atividade dessas biomoléculas indica alterações em processos metabólicos específicos, causadas nos sistemas de plantio (Bastos et al., 2023). Algumas enzimas, como a β -glicosidase (BG), desempenham papel essencial na ciclagem do carbono no solo. Outras enzimas, como as fosfatases, catalisam a hidrólise de ésteres de fosfatos, liberando fosfato solúvel a partir de P orgânico. Já a atividade da urease é um importante mecanismo de regulação de N para as plantas (Tabatabai et al., 1994).

A maior vantagem do uso de bioindicadores como a atividade enzimática, é que são mais sensíveis do que indicadores químicos e físicos,

detectando com maior antecedência alterações que ocorrem no solo e podendo ser utilizado como índice de qualidade e saúde do solo (Ghosh et al., 2020; Mendes et al., 2021). Diante do exposto, foi possível formular os seguintes questionamentos: O Sabiá proporciona condições mais favoráveis à proteção da atividade enzimática nos agregados do solo? A distribuição da população microbiana e da atividade enzimática está diretamente relacionada ao tamanho da fração de agregado e ao tipo de cobertura vegetal? Assim, o objetivo desse estudo foi determinar a distribuição da atividade enzimática e da comunidade de fungos e bactérias totais, além dos teores de carbono orgânico (CO), N total e P disponível em diferentes frações de agregados do solo sob plantio de leguminosa arbórea Sabiá, pastagem não-manejada e floresta natural, em área localizada na Fazenda Carrapeta, município de Conceição de Macabu-RJ.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Árvores leguminosas e qualidade do solo

Cerca de 30% dos solos mundiais estão em estado de moderada a alta degradação, em decorrência principalmente de fatores como erosão, salinização, compactação, contaminação e acidificação (FAO, 2015). De acordo com Azevedo et al. (2007), a utilização de leguminosas para recuperação de áreas degradadas é vantajosa, devido a um grande número de espécies adaptadas no território brasileiro. O Brasil possui espécies de leguminosas arbóreas que se adaptam a condições adversas de solo, como a *Acácia auriculiformes*, que se desenvolve bem em solos arenosos, ácidos e alagados, espécies do gênero *Inga* spp. se adaptam bem a solos ácidos e encharcados e a espécie *Mimosa scabrella* considerada pioneira e adaptada a solos ácidos.

Já a *Mimosa caesalpinifolia* Benth (Sabiá), possui alta taxa de sobrevivência (Gama-Rodrigues et al., 2008). A árvore leguminosa Sabiá tem preferência por solos profundos, em geral a floração se estende de abril a junho e a frutificação de maio a outubro, tem boa capacidade de regeneração natural e é encontrada em quase todo território brasileiro (Ribaski et al., 2003; Dutra et al., 2022).

As leguminosas têm capacidade de promover simbiose com bactérias diazotróficas e fungos micorrízicos, o que possibilita a incorporação de C e N ao solo, o que torna as leguminosas mais eficientes na absorção de nutrientes e

tolerantes aos estresses ambientais. Uma maior deposição de serapilheira, proporcionada pelas leguminosas, resulta em maior eficiência de incorporação de resíduos orgânicos na biomassa microbiana, reduzindo estresse metabólico devido ao fornecimento de N e fornecimento de sombra pelas leguminosas arbóreas, que proporciona temperatura e umidade favoráveis à microbiota do solo (Camelo et al., 2021).

Um maior aporte de matéria orgânica no solo, a longo prazo, influencia positivamente a dinâmica C e N, bem como a estrutura e atividade da comunidade microbiana (Zhang et al., 2012; Li et al., 2015; Gautam et al., 2020). O plantio de leguminosas puro e consorciado com eucalipto para revegetação de áreas de cava de extração de argila no Norte do estado do Rio de Janeiro promoveu melhorias da fertilidade, teores de carbono e nitrogênio totais do solo do carbono das substâncias húmicas (Silva et al., 2015).

Já a composição química da serapilheira das leguminosas influencia diretamente os atributos microbianos, funcionando como importante reserva de C e N microbiano (Gama-Rodrigues et al., 2005; Barreto et al., 2008), além de influenciar índices microbianos como a respiração e relação C/N microbiana, aumentando a disponibilidade de nutrientes (Gama-Rodrigues, 2008).

Ferreira et al. (2007) quantificando a deposição e acúmulo de matéria seca e de nutrientes na serapilheira em um bosque de Sabiá, observaram que essa espécie depositou $7.830,44 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}\cdot\text{ano}^{-1}$ de serapilheira com acúmulo de $8.906,9 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$, sendo principalmente constituída por folhas, fração que apresentou maior teor de nutrientes, com o acúmulo de $110,3 \text{ Kg}\cdot\text{ha}^{-1}$ de N e $5,3 \text{ Kg}\cdot\text{ha}^{-1}$ de P na fração folhas.

Sistemas que apresentam alto aporte de material vegetal contribuem para a formação e manutenção dos agregados do solo e proteção da matéria MO. Os efeitos de cobertura com leguminosas na agregação são promovidos pela ação concomitante das raízes e a deposição contínua de material orgânico na superfície do solo, mantendo um manto contra os efeitos indesejáveis do clima, além de estimular a atividade da fauna edáfica e de microrganismos organotróficos (Perin et al., 2002).

2.2. Agregados do solo

O meio ambiente, a cobertura vegetal, o manejo, propriedades químicas e

microbiológicas do solo influenciam a complexa dinâmica de formação dos agregados (Kay, 1998; Six et al., 2004; Yudina et al., 2018). De acordo com Kemper e Rosenau (1986), a estabilidade dos agregados é determinada em função da capacidade das forças coesivas entre as partículas para resistirem a uma força disruptiva aplicada.

A formação dos agregados ocorre por forças físicas envolvidas nos ciclos de umedecimento e secagem do solo e pela ação de compressão do sistema radicular das plantas, posteriormente a MO atua na estabilização dos agregados (Bayer e Mielniczuk, 2008). Os agregados do solo são classificados de acordo com o tamanho que apresentam, sendo os macroagregados com variação de tamanho entre 2000-250 μm ; microagregados variando entre 250-53 μm e fração silte-argila, com tamanho menor que 53 μm (Six et al., 2000).

A teoria da hierarquização proposta por Tisdall e Oades (1982) explica que diferentes frações da MO possuem diferentes funções na agregação. Os microagregados são formados a partir de agentes ligantes persistentes, como ligações entre óxidos, partículas de argila e a MOS. Os macroagregados são formados a partir da junção de microagregados pela ação de agentes ligantes temporários e transitórios, como raízes finas, hifas de fungos e polissacarídeos.

Posteriormente, Oades (1984) sugeriu uma pequena, mas muito importante, modificação do conceito de hierarquização por meio da teorização da formação de microagregados dentro de macroagregados. Após a incorporação do resíduo fresco no solo, fungos e outros microrganismos do solo utilizam o C mais facilmente disponível e produzem mucilagens, resultando na formação de matéria orgânica particulada grosseira (MOPg) $>250 \mu\text{m}$. A MOPg, com o tempo, é ainda mais decomposta e fragmentada, formando a matéria orgânica particulada fina (MOPf) (250-53 μm). A MOPf e mucilagens associadas tornam-se incrustados com minerais, estabilizando o material orgânico no núcleo do microagregado recém-desenvolvido dentro macroagregado. Este último processo é interrompido se houver quebra de macroagregados pelo efeito do cultivo do solo, resultando em um sequestro reduzido de C (Six et al., 2000).

Além do efeito do cultivo, os macroagregados podem ser degradados e decompostos com o tempo, uma vez que seus agentes ligantes são temporários e transitórios. Assim, pode ocorrer naturalmente a liberação dos microagregados estáveis, capazes de contribuir como novos blocos no ciclo de formação dos macroagregados (Fig. 1).

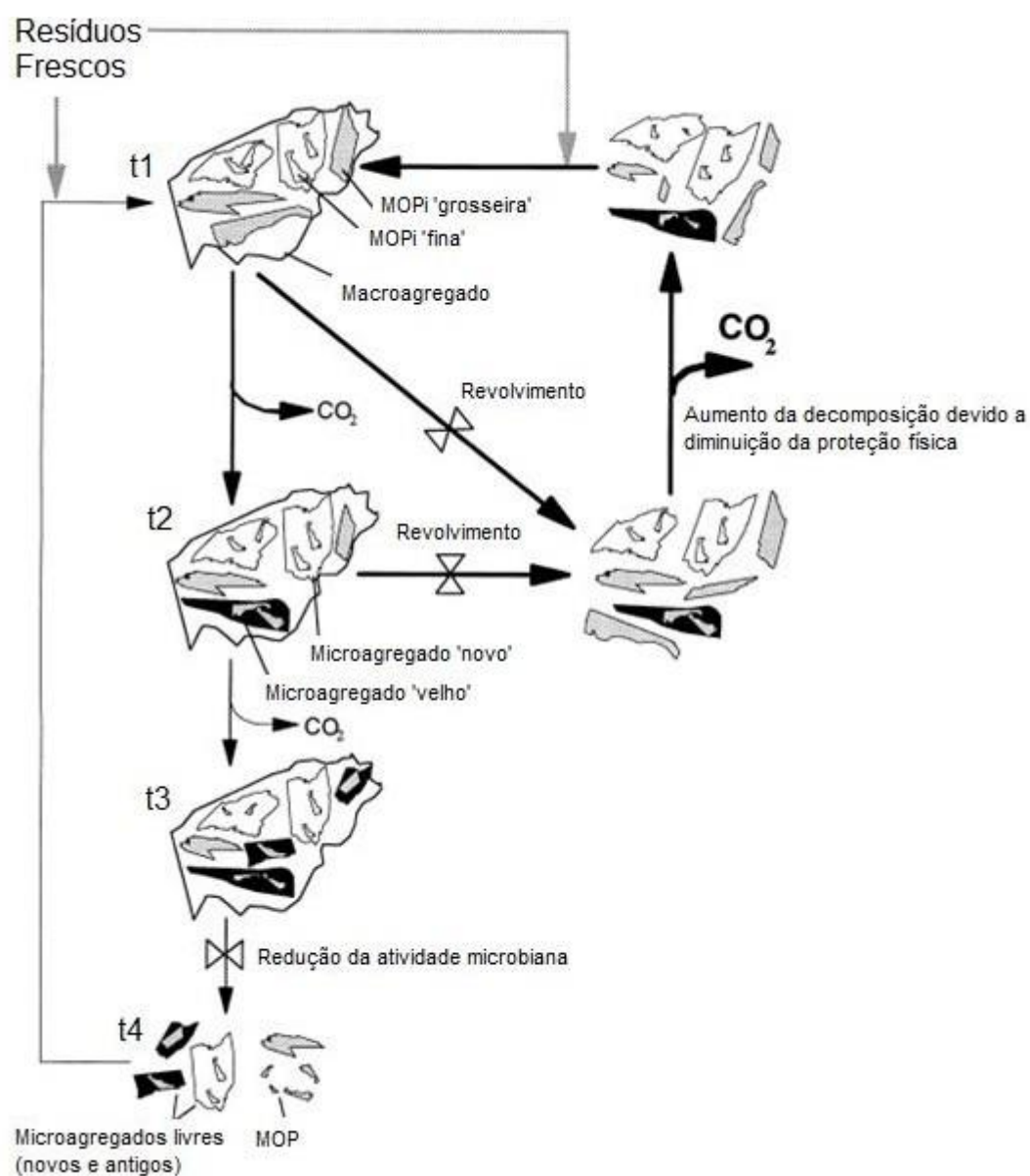


Figura 1. Modelo conceitual descrito por Six et al. 2000 (adaptado) mostra o ciclo de vida de um macroagregado e a formação de microagregados, A ciclagem ocorre quando o macroagregado é formado tornando-se instável e, eventualmente, é quebrado. MOPi - matéria orgânica particulada intra-agregada; MOP - matéria orgânica particulada; t - tempo modificador de taxa de processo.

Os agregados contribuem para uma boa estruturação física do solo, melhorando atributos de aeração, retenção e infiltração de água. Além desses atributos, proporcionam proteção física do C pela oclusão no agregado, reduzindo a biodisponibilidade e acessibilidade da matéria orgânica para microrganismos e enzimas do solo (Tisdall and Oades, 1982).

Vicente et al. (2019), ao determinar o CO dentro de agregados em diferentes profundidades do solo sob diferentes coberturas, concluíram que o sistema de conversão de pastagem em eucalipto de 3 e 5 anos apresentou potencial para aumentar o estoque de C nesses solos: em média 40% sob as plantações de eucalipto, 18% na floresta secundária, 11% na pastagem de 50 anos e 8,5% na seringueira, que foram protegidos fisicamente em agregados de solo até 1 m de profundidade, com os macroagregados representando o maior reservatório.

Várias são as metodologias para estudar agregados, dentre elas o tamizamento a seco e fracionamento yoder para separação em frações de agregados, além do fracionamento densimétrico e sonificação para separação das frações da matéria orgânica do agregado. A escolha da metodologia a ser empregada, assim como a profundidade de coleta das amostras de solo, depende da finalidade do estudo.

Favorecer a agregação do solo é importante para manutenção de um solo saudável, com capacidade de prestar diversos serviços ambientais, dentre eles o sequestro de carbono, favorecendo a microbiota do solo que desempenha um papel fundamental no funcionamento dos ecossistemas.

2.3. Atividade enzimática do solo como indicador biológico

No solo, o carbono e nutrientes são utilizados pelos microrganismos para manutenção e crescimento celular, isso ocorre após despolimerização de compostos orgânicos pela ação de enzimas, moléculas de natureza proteica, liberadas por microrganismos. A síntese de proteínas é energeticamente cara e requer nitrogênio. Os processos de decomposição e mineralização de nutrientes são importantes para o funcionamento do ecossistema (Wallenstein e Burns, 2011). As enzimas catalisam reações, sendo específicas para os tipos de reações químicas em que participam, pois se combinam com seus substratos de forma estereoespecífica (Tabatabai, 1994).

O solo é um ambiente hostil para enzimas extracelulares, pois estão sujeitas a desnaturação, degradação e inativação por mecanismos bióticos e abióticos. Essas enzimas podem estar associadas à fração não-viva e se acumulam no solo protegidas da ação de proteases por meio de sua adsorção em partículas de argila e na matéria orgânica (Wallenstein e Burns, 2011; Mendes et al., 2020).

A atividade enzimática de um solo é o somatório da atividade de enzimas dos microrganismos, plantas e animais. As enzimas são encontradas no meio intracelular e/ou extracelular (Figura 2). A quantidade de enzimas livres na solução do solo é pequena em comparação com o estado adsorvido.

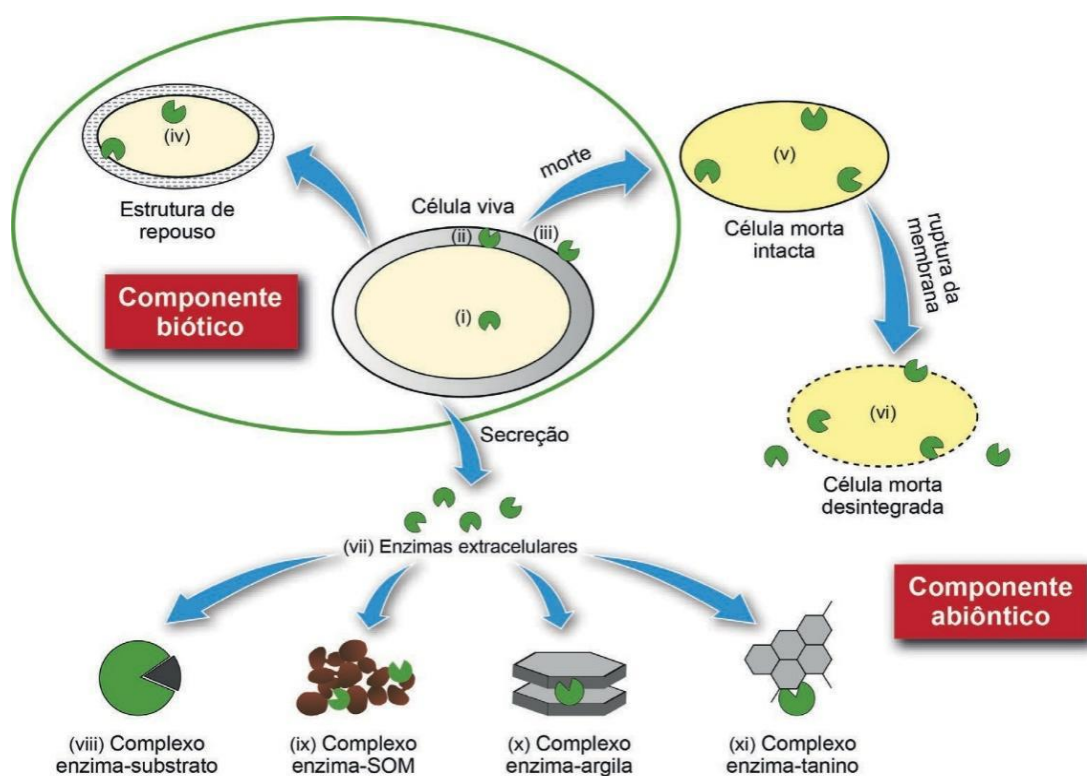


Figura 2. Esquema ilustrativo da localização das enzimas no compartimento do solo (SOM= matéria orgânica do solo). Fonte: Mendes et al. 2003 (adaptado de Wallenstein e Burns (2011)).

Enzimas podem ser denominadas de acordo com a natureza química dos compostos em que atua, como as que atuam em polissacarídeos, participando do ciclo do C, as de nitrogênio que decompõe quitina, proteína e ureia, as de fósforo

que liberam P inorgânico a partir de P orgânico e enzimas oxidativas, que decompõem substratos de difícil degradação.

Dentre as enzimas classificadas como celulolíticas, as β -glicosidases despertam grande interesse, pois participam da cascata de hidrólise da celulose, na etapa em que a celobiose liberada é hidrolisada em dois monômeros de glicose. O produto da reação, o monossacarídeo β -D-(+)-glicose, pode ser então absorvido e utilizado pelos microrganismos como fonte de energia (Eivazi e Tabatabai, 1988).

Em geral, a atividade da β -glicosidase esta intimamente relacionada com a MOS, atividade biológica e ciclagem de C, e pode fornecer um sinal avançado de alterações no CO muito antes que isso possa ser corretamente determinado por outras técnicas de rotina. Essas qualidades permitiram significativamente sua adoção para testes de qualidade do solo na agricultura. Esta enzima pode ser encontrada em microrganismos, plantas e células animais e sua atividade pode ser influenciada pela temperatura do solo, pH, qualidade e conteúdo da matéria orgânica (Tabatabai, 1994).

A taxa de transferência de P da serapilheira para o solo e a disponibilidade de P se relacionam a processos de mineralização/imobilização na fase orgânica e de adsorção/dessorção na fase mineral (Zaia et al., 2008). O potencial de leguminosas arbóreas em aumentar as concentrações de P no solo, por meio da ciclagem e acúmulo das frações de P_i e P_o , pode ser explicado pelo aumento da disponibilidade de N em sistemas agroflorestais com leguminosas (Aleixo et al., 2020). Um maior aporte de N proporciona condições para que as diferentes espécies de plantas e microrganismos aumentem a produção das enzimas fosfatase extracelular, além de uma maior atividade de fosfatase radicular ser um provável fator filogenético em leguminosas fixadoras de N (Png et al., 2017).

Um outro grupo de enzimas existentes no solo são as fosfatases, que catalisam a hidrólise de ésteres de fosfatos, liberando fosfato solúvel a partir de P orgânico. Dentre esse grupo de enzimas, as fosfomonoesterases em solos possuem considerável literatura acumulada, devido à importância delas na nutrição de plantas (Tabatabai, 1994). As fosfomonoesterases são classificadas como fosfatases ácidas e alcalinas, porque mostram atividades ótimas em faixas de pH específicas. São adicionadas ao solo pelas secreções radiculares e por atividade microbiana. No Brasil, a fosfatase ácida é geralmente a mais estudada,

pois a maioria dos solos brasileiros são ácidos (Mendes et al., 2019).

Maiores valores de atividade da enzima fosfatase ácida em sistemas florestais podem ser atribuídos a maior deposição de serapilheira e ciclagem neste ambiente, conferindo maior teor de nutrientes, além dessa enzima ser mais ativa em áreas livres de adubação mineral (Diniz et al., 2020).

Já a atividade da urease é um importante mecanismo de regulação de N para as plantas, pois as ureases são enzimas que hidrolisam a ureia em amônia e dióxido de carbono e considerando que a ureia é um dos fertilizantes nitrogenados mais utilizados. A volatilização da amônia é maior em solos com baixa CTC (Sangoi et al., 2003).

Após a aplicação ao solo, a ureia $[\text{CO}(\text{NH}_2)_2]$ é hidrolisada pela enzima urease, resultando na formação de carbonato de amônio $[\text{CO}(\text{NH}_2)_2 + 2\text{H}_2\text{O} \rightarrow (\text{NH}_4)_2\text{CO}_3]$, que se decompõe rapidamente, originando amônio, bicarbonato e hidroxila $[(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3 + \text{H}_2\text{O} \rightarrow 2\text{NH}_4^{++} \text{OH}^- + \text{HCO}_3^-]$, elevando o pH no local (Tasca et al., 2011).

Uma alta atividade da enzima urease pode ocasionar perda de N, seja por volatilização de amônia para a atmosfera ou transformação em íon amônio no solo, que pode ser absorvido pelas plantas ou nitrificado, correndo o risco de se perder por lixiviação. Se a atividade da urease for baixa, a produção de N-amoniaco pode ser menor que as exigências nutricionais da planta (Melo et al., 2010).

A urease no solo possui grande estabilidade contra atividade proteolítica e processos de inativação, devido à imobilização em complexos organominerais, dependendo da natureza desses complexos encontrados no solo. Há ocorrência de hidrólise de ureia na ausência de urease, porém a hidrólise química é muito lenta, comparada com a hidrólise bioquímica (Dharmakeerthi e Thenabadu, 1996).

A atividade da enzima urease apresenta relações diretas com C e N da biomassa microbiana, nitrogênio total e diferentes fontes de N (Klose e Tabatabai, 2000; Lv et al., 2013). A análise da atividade da urease pode informar os métodos de manejo que favorecem o metabolismo microbiano e a ciclagem de N. O estudo de solos manejados com leguminosas pode fornecer dados para reduzir a perda de NH_3 e otimizar os níveis de nitrogênio no solo, já que essas espécies têm a capacidade de fixar N biologicamente (Adetunji et al., 2017).

A atividade enzimática do solo é um bioindicador de qualidade com alta sensibilidade a variações no sistema do solo. O estudo dos compartimentos onde

as enzimas se localizam e se estabilizam e as relações com a qualidade do solo, pode auxiliar na melhor compreensão do equilíbrio biológico desse ecossistema.

2.4. Propriedades biológicas nos agregados do solo

A relação entre a matéria orgânica, os microrganismos e a sua estruturação do solo, formam um circuito complexo, onde qualquer interferência em um desses componentes têm consequências para a agregação. O aumento da MO do solo estimula os microrganismos, favorecendo a agregação. Um solo bem agregado é melhor habitat microbiano e também protege fisicamente a matéria orgânica do solo da decomposição (Moreira e Siqueira, 2006).

De acordo com Sollins et al. (1996), a agregação é afetada por substâncias químicas, microbianas, vegetais, animais e processos físicos. Muitos animais do solo promovem a agregação por meio da formação de pelotas fecais e da ligação de agentes de excreção. Microrganismos promovem agregação por vários mecanismos: (1) hifas fúngicas atuam como ligantes para formar agregados maiores; (2) as bactérias se ligam às partículas do solo formando pontes; (3) fungos e bactérias liberam polissacarídeos que servem como um agente de ligação.

Uma grande diversidade metabólica pode ser encontrada principalmente em solos bem estruturados, que promovem uma grande variedade de habitats (Andreote e Cardoso, 2016). Além de uma constante deposição de material vegetal, os microrganismos do solo são pré-condições para a estabilidade dos agregados (Kandele e Murer, 1993). O estudo da atividade enzimática microbiana do solo a nível de agregado pode fornecer *insights* sobre a ciclagem de C e N no solo (Wang et al., 2015).

Wang et al. (2015), esperavam encontrar maiores valores CBM em macroagregados de solos sob pastagem, presumindo que esta fração acumula MO lábil em comparação a frações menores, no entanto, determinaram maiores valores de CBM em microagregados, correlacionando com maior superfície específica, por causa de uma maior porção de argila e silte, a qual as células microbianas estão ligadas.

A quantidade e a composição química dos resíduos orgânicos atuam de forma específica como fonte ou estímulo para atividade enzimática, através de maior oferta de substrato enzimático (Mendes et al., 2003). Dorodnikov et al.

(2009), determinaram que a composição química do substrato influencia na função da comunidade microbiana no ecossistema.

Liu et al. (2023) mostraram que maior oferta de N altera a composição da comunidade microbiana, com aumento na diversidade de fungos, o que pode ser explicado pelo alívio na limitação de N, apresentando influência nas atividades enzimáticas, com a comunidade de fungos afetando a atividade de oxidases e a comunidade bacteriana afetando a atividade de hidrolases.

Já em um processo de sucessão florestal na China, o conteúdo total do perfil de ácidos graxos de fosfolipídios, um método comumente utilizado para composição da comunidade microbiana do solo, foi afetado pelo tamanho do agregado, sendo a atividade enzimática nos agregados fortemente influenciada pelos teores de CO e N total. Os mesmos autores encontram maiores atividades da enzima fosfatase ácida em microagregados, quando comparados a macroagregados de 2000 a 250 μm , sob reflorestamento natural (Yang et al., 2020).

Identificar a localização e atividade da microbiota nos agregados do solo aumentará a capacidade de prever a resiliência dos ecossistemas e mudanças globais futuras (Wang et al., 2015). As inter-relações entre os sistemas planta, microrganismos e fração mineral do solo determinam o teor de MOS que afeta a agregação do solo e, conseqüentemente, características físicas e químicas relacionadas. Determinar e entender os atributos microbiológicos no nível de agregado pode fornecer *insights* sobre a proteção de enzimas específicas para a ciclagem de nutrientes.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Descrição da área de estudo

O estudo foi realizado na área experimental da fazenda Carrapeta, localizada no município de Conceição de Macabu - RJ, ($21^{\circ} 37' S$ e $42^{\circ} 05' W$) (Figura 3). De acordo com a classificação de Köppen, o clima da região é do tipo Am, quente e úmido, com temperatura média de $26^{\circ}C$ e uma precipitação média de 1.400 mm anualmente, concentrada entre outubro e março e o período seco entre junho e setembro. O relevo é fortemente ondulado, com declividade em torno de $0,35 m m^{-1}$ (Faustino et al., 2020). O solo é classificado como Argissolo Vermelho-Amarelo distrófico (Santos et al., 2018).



Figura 3. Localização da área experimental na Fazenda Carrapeta, município de Conceição de Macabu - RJ.

3.2. Amostragem do solo e caracterização da área

A área experimental é constituída de plantio puro de Sabiá, (*Mimosa caesalpinhiifolia* Benth.), um fragmento florestal de Mata Atlântica em sucessão secundária, com espécies em diferentes estágios sucessionais (capoeira) e uma pastagem com predomínio de capim-gordura (*Melinis minutiflora*), grama-pernambuco (*Paspalum maritimum*) e sapê (*Imperata brasiliensis*). Na área em estudo, foi possível observar uma pastagem com pouco pastoreio e maior exposição do solo a erosão hídrica, devido à característica da cobertura vegetal de gramínea e declividade do terreno.

As parcelas experimentais (1.500 m² - 75 x 20 m) de cada cobertura foram dispostas adjacentes uma à outra e na mesma cota de altitude (Figura 4). O Sabiá (plantado em dezembro de 1998) foi inoculado com estirpes selecionadas de bactérias fixadoras de N₂ atmosférico e fungos micorrízicos (um combinado de *Gigaspora margarita* e *Glomus clarum*) (Gama-Rodrigues et al., 2008).



Figura 4. Coberturas vegetais da área experimental na Fazenda Carrapeta, Município de Conceição de Macabu - RJ. (a) Floresta Natural; (b) Pastagem e (c) Leguminosa florestal Sabiá.

A coleta das amostras de solo foi realizada em abril de 2022, no fim do

período chuvoso. Foram abertas mini trincheiras e as amostras retiradas com auxílio de uma espátula, na camada de 0 a 10 cm. Foram coletadas 12 amostras simples para obtenção de uma amostra composta. Cada cobertura vegetal foi representada por três amostras compostas, totalizando nove amostras de solo. As amostras recém-coletadas foram transportadas em caixa térmica, armazenadas em refrigeração a 4°C e analisadas no prazo máximo de 90 dias após a coleta. Foram feitas as seguintes determinações (no solo não fracionado - SNF e nas frações de agregados- FA), além da caracterização química do solo, conforme os métodos descritos em Teixeira, et. al. (2017): pH (H₂O) (SNF e FA); P (SNF e FA) e K (SNF) extraíveis, por Mehlich⁻¹ e determinados, respectivamente, por colorimetria e fotometria de chama; Ca, Mg e Al trocáveis (SNF), por KCl 1 mol L⁻¹, sendo Ca e Mg determinados por espectrofotometria de absorção atômica e o Al (SNF) por titulação com NaOH 0,025 mol L⁻¹; e H + Al, por acetato de cálcio 0,5 mol L⁻¹ a pH 7,0. O C orgânico e N total (SNF e FA) foram determinados por meio de combustão seca em auto analisador Perkin Elmer 2400 CHNS.

Tabela 1. Características Químicas do solo na profundidade de 0 – 10 cm em diferentes coberturas vegetais na Fazenda Carrapeta - RJ

Sítios	⁽¹⁾ K	⁽²⁾ Ca	⁽³⁾ Mg	⁽⁴⁾ Al	⁽⁵⁾ H + Al	⁽⁶⁾ CTC	⁽⁷⁾ SB
	----- mmolc/dm ³ -----						
Sabiá	2	12,2	4,4	10,6	66,8	86,9	20,1
Pastagem	1,2	1,9	1,3	9,7	40,6	45,7	5,1
Floresta Natural	1,2	3	3,6	14,9	67,6	76,2	8,6

⁽¹⁾K: Potássio. ⁽²⁾Ca: Cálcio. ⁽³⁾Mg: magnésio. ⁽⁴⁾Al: Alumínio. ⁽⁵⁾H + Al: hidrogênio + Alumínio. ⁽⁶⁾CTC: capacidade de troca catiônica. ⁽⁷⁾SB: Soma de bases.

3.3. Fracionamento dos Agregados

Antes do fracionamento as amostras de solo foram secas ao ar por 24 horas, atingindo um estado friável para melhor obtenção das frações de agregados do solo. Em seguida, foi utilizado um aparelho agitador, com jogo de peneiras com malhas de diferentes diâmetros (2000 µm; 250 µm e 53 µm), onde 150 g de solo de cada amostra composta foi submetida a 15 minutos de agitação

(Gupta e Germida., 1988). Obteve-se as seguintes frações de agregados: >2000 μm , de 2000 a 250 μm , de 250 a 53 μm e <53 μm , denominadas macroagregados maiores (MMA), macroagregados menores (MME) e microagregados (MIC) e fração silte-argila, respectivamente (Figura 5). A fração silte+argila não foi utilizada nas análises, pois o objetivo do presente trabalho foi trabalhar com as frações > que 53 μm .

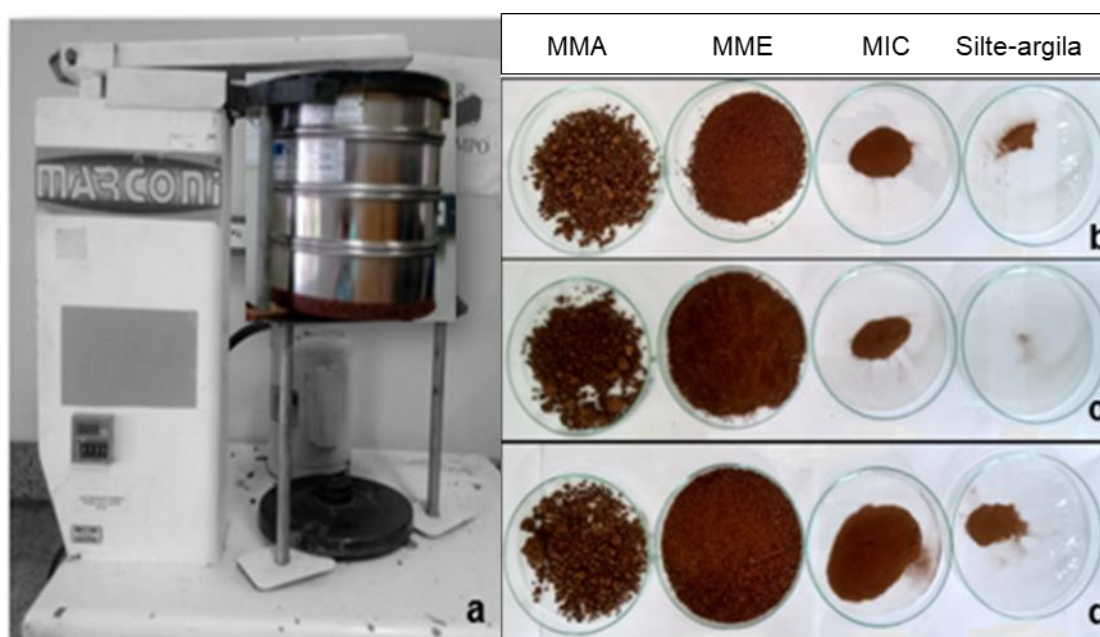


Figura 5. (a) Equipamento para fracionamento do solo a seco, obtendo as frações > 2000 μm (MMA); 2000-250 μm (MME); 250-53 μm (MIC) e <53 μm (silte-argila). (b) Frações do solo sob Sabiá; (c) frações do solo sob pastagem e (d) frações do solo sob floresta natural.

3.4. Atividade enzimática e contagem de microrganismos

Todas as enzimas e a contagem de microrganismos foram realizadas no solo não fracionado e nas frações de agregados (MMA; MME e MIC). A análise da atividade das enzimas β -glicosidase e fosfatase ácida foi realizada por determinação colorimétrica do p-nitrofenol, liberado a partir da hidrólise dos substratos sintéticos (Tabatabai, 1994).

Utilizou-se 1 g do solo peneirado a 2 mm e 1 g das frações em triplicata. Foram adicionados às amostras 0,25 mL de tolueno e 4 mL de solução tampão

contendo Tris hidroximetilaminometano (THAM). Para análise da β -glicosidase, o substrato utilizado foi 1 mL de solução a $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ de p-nitrofenil- β -D-glucopiranoside (PNG) e para a fosfatase ácida o p-nitrofenil fosfato (PNF). As amostras foram vedadas, agitadas e incubadas em banho-maria a 37°C por uma hora. Após o período de incubação a reação foi interrompida adicionando 1 mL de CaCl_2 $0,5 \text{ M}$ e 4 mL de THAM $0,1 \text{ M}$ com pH 12 na análise da β -glicosidase, já na fosfatase ácida foi adicionada 1 mL de solução de CaCl_2 $0,5 \text{ M}$ e 4 mL de NaOH $0,5 \text{ M}$. Os produtos foram filtrados em papel de filtro Whatman nº 2, sendo em seguida realizada a leitura em espectrofotômetro UV-VIS Shimadzu a 410 nm . Utilizou-se uma curva padrão preparada com as concentrações conhecidas de p-nitrofenol (0, 10, 20, 30, 40 e $50 \mu\text{g}$ de p-nitrofenol mL^{-1}). A unidade para expressar os resultados das atividades das enzimas é a quantidade de p-nitrofenol liberado (μg) por massa de solo (g) por hora (h).

Para a determinação da atividade da enzima urease foi determinada a concentração do íon amônio liberado, utilizando ureia como substrato (Kandeler e Gerber, 1988). Foram pesados $0,5 \text{ g}$ das amostras de solo e frações em triplicata. As amostras foram incubadas em banho-maria a 37°C por uma hora. Após a incubação foi adicionado 5 mL de KCl 1 M , as amostras foram agitadas por 30 min , sendo centrifugadas em seguida a 4000 rpm por 10 min . Para desenvolvimento da cor foram adicionados $0,5 \text{ mL}$ de solução contendo nitroprussiato, salicilato, citrato e tartarato de sódio e $0,5 \text{ mL}$ de solução contendo NaOH e hipoclorito de sódio a 5% . A leitura foi realizada em espectrofotômetro UV-VIS a 660 nm , sendo consideradas para cálculos de concentração as diluições realizadas. A curva padrão foi preparada utilizando cloreto de amônio ($0, 5, 10, 15, 20, 25 \mu\text{g}$ de NH_4^+ mL^{-1}).

Para avaliar o tamanho da população microbiana foram utilizados 10 g de solo peneirado a 2 mm e 5 g das frações analisadas. As amostras foram diluídas em série, utilizando solução estéril de NaCl a $0,85\%$ até a diluição de 10^{-6} . Uma alíquota de $0,1 \text{ mL}$ foi inoculada em meio Martin (Martin, 1950) para o crescimento de fungos e em ágar nutriente para fins de crescimento bacteriano. As placas foram incubadas a 28°C , por 5 dias para fungos, e por 48 h , para bactérias. O número de microrganismos por grama de solo foi estimado através da equação: Número de microrganismos/g de solo = [número de colônias x (1/diluição) x (1/alíquota)]/massa seca do solo.

3.5. Análise estatística

Inicialmente os dados foram submetidos às análises de normalidade (Teste de Jarque Bera) e homogeneidade (Teste de Bartlett) e transformados se necessário. Atendendo às pressuposições de normalidade e homogeneidade foi realizada a análise de variância considerando-se o delineamento inteiramente casualizado com três repetições. As médias foram comparadas pelo teste de Scott-Knott, ao nível de 5% de significância. De forma complementar os dados foram submetidos à análise multivariada, por meio da análise de componentes principais (PCA), a fim de avaliar a similaridade ou dissimilaridade inter e intragrupos e também a avaliação da importância de cada variável sobre a variação total disponível entre as frações de agregados dos solos das diferentes coberturas vegetais utilizando o software XLSTAT (Cruz et al., 2004).

4. RESULTADOS

4.1. Atributos químicos e microbiológicos do solo

Os solos, em geral, apresentaram pH extremamente ácido, e baixo nível de fertilidade (Tabela 1). O solo sob a floresta natural apresentou valor significativamente superior de CO e as demais coberturas não diferiram entre si. O N total, por sua vez, não diferiu entre as coberturas vegetais (Tabela 2). A pastagem apresentou o menor teor de P comparado à floresta natural e Sabiá (Tabela 2).

Tabela 2. Parâmetros físico-químicos das amostras de solo determinados nas áreas da fazenda Carrapeta - RJ

Sítios	pH	CO	N	P
		g/kg		mg/kg
Sabiá	4,0b	26b	5,0a	2,1a
Pastagem	4,4a	25b	4,6a	0,9b
Floresta natural	3,8c	32a	5,1a	2,3a

Médias encontradas de pH em água; carbono orgânico do solo (g/kg); nitrogênio total do solo (g kg^{-1}) e teor de fósforo (mg kg^{-1}). Letras minúsculas, dentro de uma mesma coluna, referem-se à comparação entre os sítios. Valores seguidos pelas mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Skott-Knott a 5%.

A atividade da β -glicosidase não variou entre as coberturas vegetais (Tabela 3). A floresta natural apresentou maior atividade da fosfatase e da urease; a pastagem foi a cobertura com menor atividade da fosfatase e as demais coberturas não diferiram entre si quanto a urease (Tabela 3).

Tabela 3. Atributos microbiológicos do solo obtidos nas áreas da fazenda Carrapeta - RJ

Sítios	β -glicosidase ⁽¹⁾	Fosfatase ácida ⁽²⁾	Urease ⁽³⁾	Bactérias ⁽³⁾	Fungos ⁽³⁾
	$\mu\text{g } p\text{-nitrophenol } \text{g}^{-1} \text{ solo } \text{h}^{-1}$		$\mu\text{g } \text{N-NH}_4 \text{g}^{-1}$	$\frac{\text{n}^\circ \text{ total/g de solo}}{\text{x } 10^4}$	$\text{X } 10^3$
Sabiá	39,4 a	430 b	83 b	10,0 b	8,6 a
Pastagem	32,7 a	327 c	89 b	4,0 c	1,2 b
Floresta natural	52,7 a	715 a	138 a	75,8 a	1,3 b

Médias encontradas de atividade das enzimas: ⁽¹⁾ β -glicosidase; ⁽²⁾ Fosfatase ácida; ⁽³⁾ Urease e das contagens de microrganismos: ⁽⁴⁾ n° de bactérias totais; ⁽⁵⁾ n° de fungos totais. Letras minúsculas, dentro de uma mesma coluna referem-se, à comparação entre os sítios. Valores seguidos pelas mesmas letras não diferem entre si pelo teste de skott-knott a 5%.

O número de bactérias totais no solo apresentou resultado similar à fosfatase ácida e o número de fungos totais foi significativamente superior no Sabiá. As demais coberturas apresentaram valores significativamente iguais (Tabela 3).

4.2. Distribuição das frações de agregados do solo

Em todos os sítios, a classe de macroagregados menores (MME) foi a mais representativa: 56,4% na pastagem, 55% na floresta natural e 52,8% no Sabiá. Em seguida, a classe MMA: 39,6% no Sabiá, 38,3% na pastagem e 34,8% na floresta natural. Os macroagregados, soma das frações MMA e MME representaram em média 92% dos solos. Já os microagregados e fração silte + argila juntos representaram 4,0% na pastagem, 8,7% na floresta natural e 7,4% no Sabiá (Figura 6). Não houve diferença significativa entre as coberturas vegetais para MME e MMA. Por outro lado, a pastagem foi a cobertura que apresentou menor percentual tanto de MIC quanto da fração silte+argila (Figura 6).

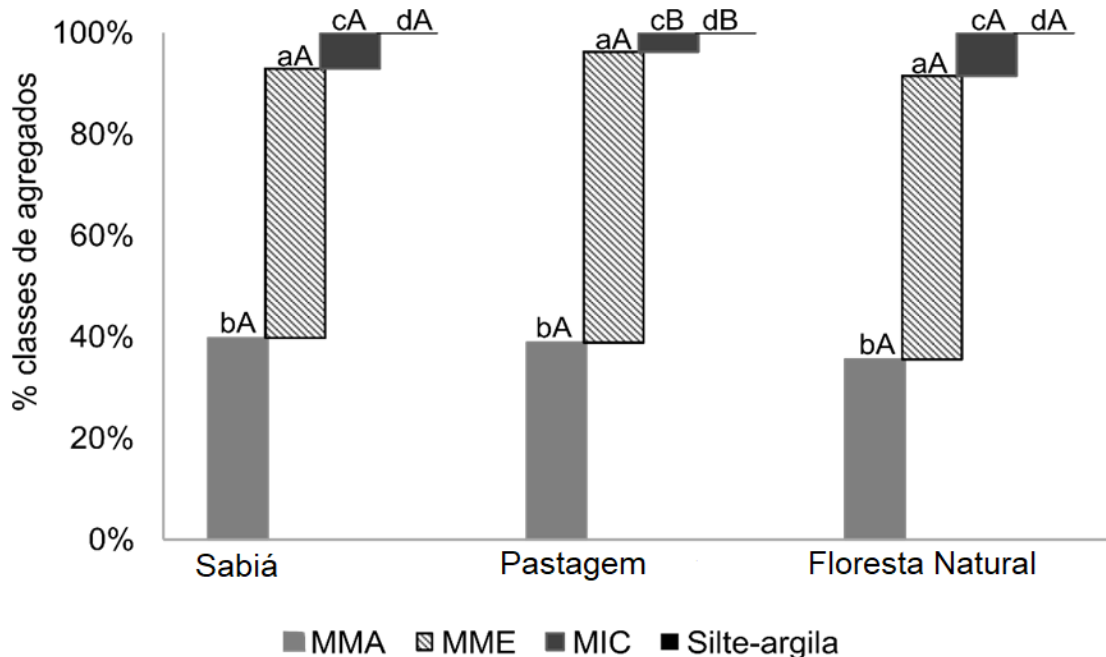


Figura 6. % das frações de agregado do solo sob as diferentes coberturas vegetais. Letras minúsculas referem-se à comparação entre diferentes frações de agregados em uma mesma cobertura vegetal. Letras maiúsculas referem-se à

comparação entre diferentes coberturas dentro de uma mesma fração. Em ambos os casos, valores seguidos pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Skott-Knott a 5%.

4.3. Atributos químicos nas frações de agregados

Assim como no solo, o pH foi extremamente ácido e ligeiras variações foram observadas entre as frações de agregados e coberturas (Fig. 7A). O teor de P variou de $0,8 \text{ mg kg}^{-1}$ a $2,9 \text{ mg kg}^{-1}$, com valores significativamente superiores sob a floresta natural e Sabiá em relação à pastagem em todas as frações de agregados (Fig.7B). Ao se comparar a mesma cobertura nas diferentes frações, observou-se que o Sabiá apresentou maior teor de P no MIC (Fig.7B). O CO variou de 21 g/kg^{-1} a 33 g/kg^{-1} , e a floresta natural, em geral, apresentou valor significativamente superior de CO (Fig. 7C). O N total, por sua vez, variou de $4,2 \text{ g/kg}^{-1}$ a $5,3 \text{ g/kg}^{-1}$ e, assim como o CO e o P, com ligeira variação entre as frações de agregados. Somente as frações MMA e MIC apresentaram diferenças de N total entre as coberturas, com valores inferiores na pastagem (Fig. 7D).

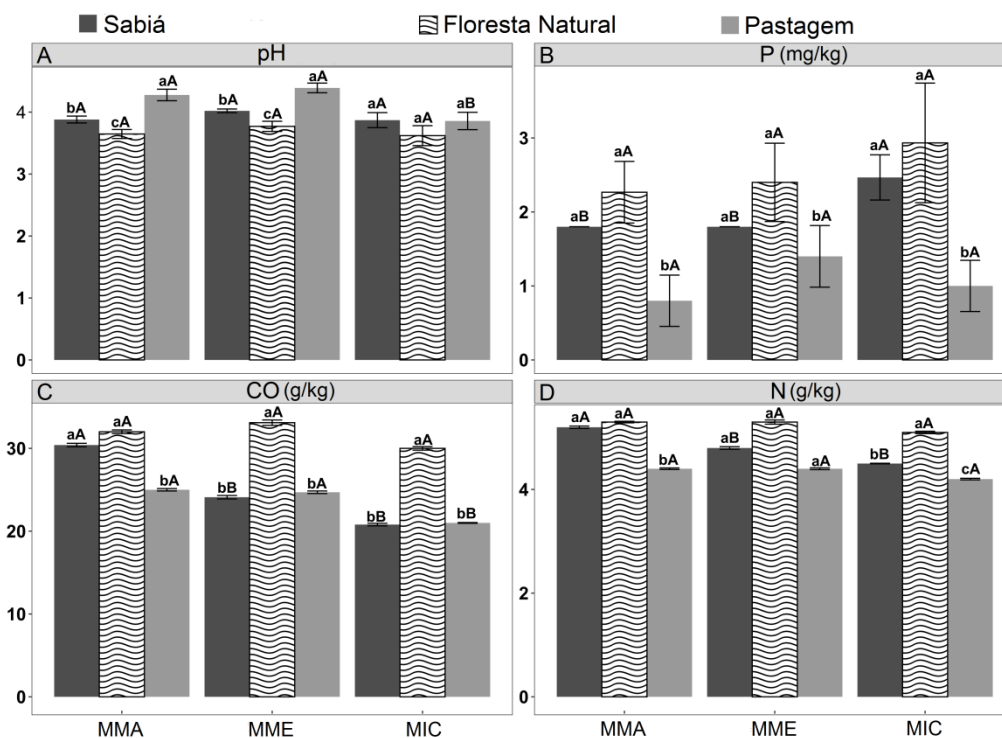


Figura 7. Médias obtidas nas frações macroagregados maiores (MMA), macroagregados menores (MME) e microagregados (MIC), do pH em água (A); teor de fósforo (B); Teor de Carbono (C) e Nitrogênio total (D). Letras minúsculas referem-se à comparação entre as diferentes coberturas vegetais dentro de uma mesma fração. Letras maiúsculas comparam a mesma cobertura dentro de cada fração. Valores seguidos pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Skott-Knott a 5%.

4.4. Atributos microbiológicos nas frações de agregados

O número de bactérias totais variou significativamente entre as coberturas vegetais e, em geral, a floresta apresentou valor significativamente superior em todas as frações de agregados (Fig. 8A). Ao se comparar as diferentes frações de agregados dentro de uma mesma cobertura vegetal, observou-se que apenas na pastagem o valor foi significativamente inferior na classe MME (Fig.8A).

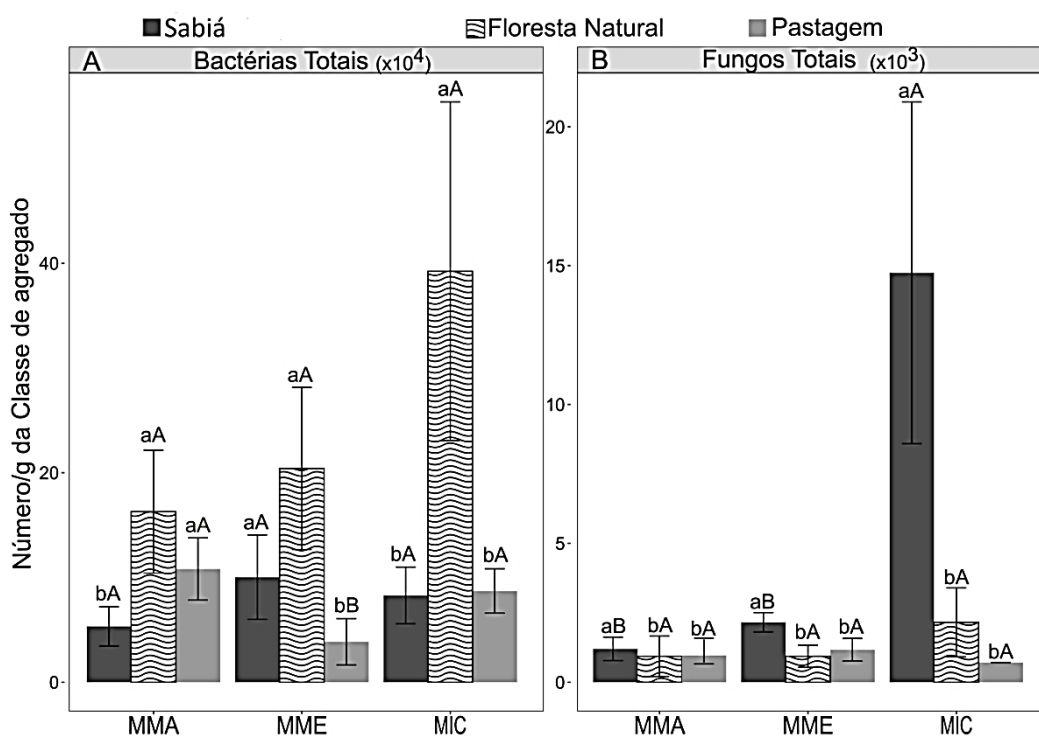


Figura 8. Médias obtidas nas frações macroagregados maiores (MMA), macroagregados menores (MME) e microagregados (MIC), do número de bactérias totais/grama de fração $\times 10^4$ (A) e do número de fungos totais/grama de fração $\times 10^3$ (B). Letras minúsculas referem-se à comparação entre as diferentes coberturas vegetais dentro de uma mesma fração. Letras maiúsculas comparam a mesma cobertura dentro de cada fração. Valores seguidos pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Skott-Knott a 5%.

O número total de fungos foi significativamente superior no Sabiá, em todas as frações (Fig. 8B). Ao se comparar a mesma cobertura dentro de cada fração observou-se que apenas o Sabiá apresentou valor superior nos MIC (Fig.8B).

A atividade da enzima β -glicosidase variou de 28 a 55 $\mu\text{g p-nitrophenol g}^{-1}$ classe de agregados h^{-1} , a da enzima fosfatase ácida de 341,9 a 857,5 $\mu\text{g p-nitrophenol g}^{-1} \text{h}^{-1}$ e da urease de 79 a 185,9 $\mu\text{g N-NH}_4 \text{g}^{-1} \text{h}^{-1}$ (Fig.9). Em geral, a floresta apresentou maior atividade da fosfatase ácida em todas as frações de agregados, exceto MMA (Fig.9A). Ao se comparar a mesma cobertura dentro de cada fração, apenas a floresta apresentou valor significativamente superior em MIC (Fig.9A). Em geral, a maior atividade enzimática da β -glicosidase foi observada na floresta, exceto em MME (Fig.9B). Em relação à urease, não houve diferença entre as coberturas dentro de cada fração, apenas no MIC a floresta apresentou valor significativamente superior das demais coberturas (Fig.9C). Da mesma forma, as coberturas apresentaram comportamentos similares entre as frações, com exceção da floresta que apresentou atividade da urease na seguinte ordem crescente: $\text{MME} < \text{MMA} < \text{MIC}$ (Fig.9C).

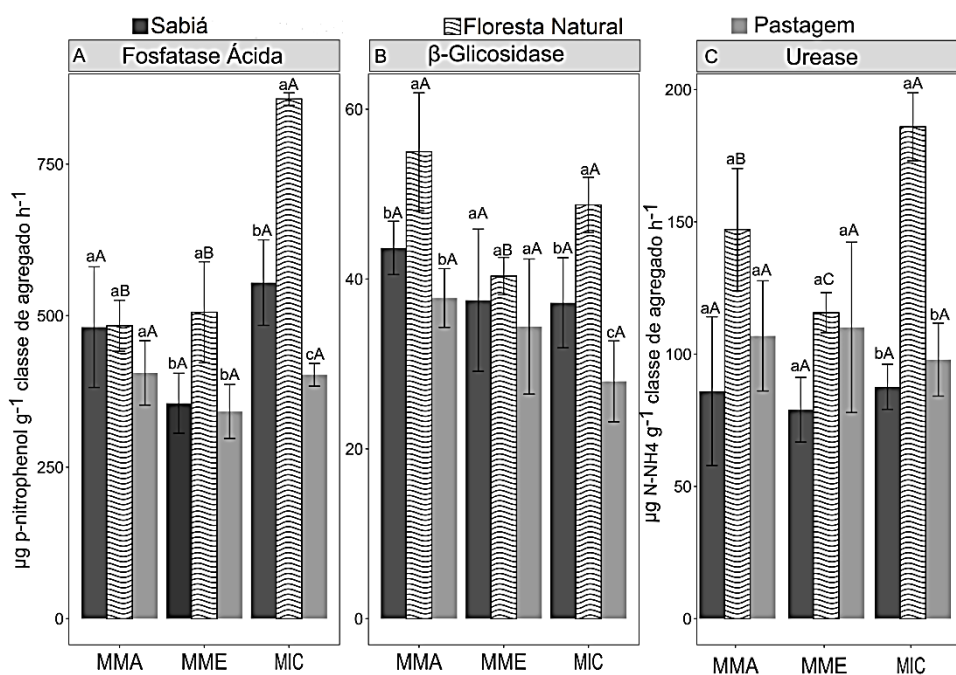


Figura 9. Médias obtidas nas frações macroagregados maiores (MMA), macroagregados menores (MME) e microagregados (MIC), pela atividade das enzimas fosfatase ácida (A) e β -glicosidase (B) em $\mu\text{g p-nitrophenol g}^{-1}$ fração agregada h^{-1} e atividade da urease (C) em $\mu\text{g N-NH}_4 \text{ g}^{-1}$ fração agregada h^{-1} . Letras minúsculas referem-se à comparação entre as diferentes coberturas vegetais dentro de uma mesma fração. Letras maiúsculas comparam a mesma cobertura dentro de cada fração. Valores seguidos da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Skott-Knott a 5%.

4.5. Análise de componentes principais (ACP)

Os atributos químicos e microbiológicos nas frações de agregados de solos sob diferentes coberturas vegetais foram associados aos dois primeiros componentes principais, que explicaram quase 80% da dissimilaridade: o componente principal 1 (CP1) explicou 60,06% e o componente principal 2 (CP2) 19,88%. Os atributos mais associados ao CP1 e, portanto, que melhor explicaram a dissimilaridade foram a atividade da β -glicosidase, o número de bactérias, N total, atividade da urease, e da fosfatase, CO e P total. Em CP2 o número total de fungos foi a variável com maior carga fatorial, porém, menos relevante para explicar a dissimilaridade entre os grupos formados (Tabela 4).

O diagrama de ordenação mostra a dissimilaridade das frações de agregados da pastagem em relação ao Sabiá e a floresta natural. O grupo da pastagem apresentou estreita similaridade entre os indivíduos e posicionou-se à esquerda do quadrante; a floresta se distribuiu à direita do quadrante, observa-se similaridade entre os indivíduos 1 (MMA) e 4 (MME) deste grupo e menor similaridade destes em relação ao indivíduo 7 (MIC). Ambos os grupos estão próximos de CP1. O Sabiá, por sua vez, ficou numa posição intermediária ao longo dos quadrantes e apresentou considerável dissimilaridade entre os indivíduos deste grupo (Fig. 10).

Tabela 4. Cargas fatoriais das diferentes variáveis associadas aos componentes principais extraídas dos atributos químicos e microbiológicos nas frações de agregados sob diferentes coberturas vegetais

Variáveis	Componentes principais	
	CP1	CP2
β -glicosidase	0,738	0,016
Fosfatase ácida	0,649	0,215
Urease	0,686	0
CO	0,646	0,243
N total	0,686	0,065
P	0,644	0,214
Bactérias	0,732	0,022
Fungos	0,024	0,814

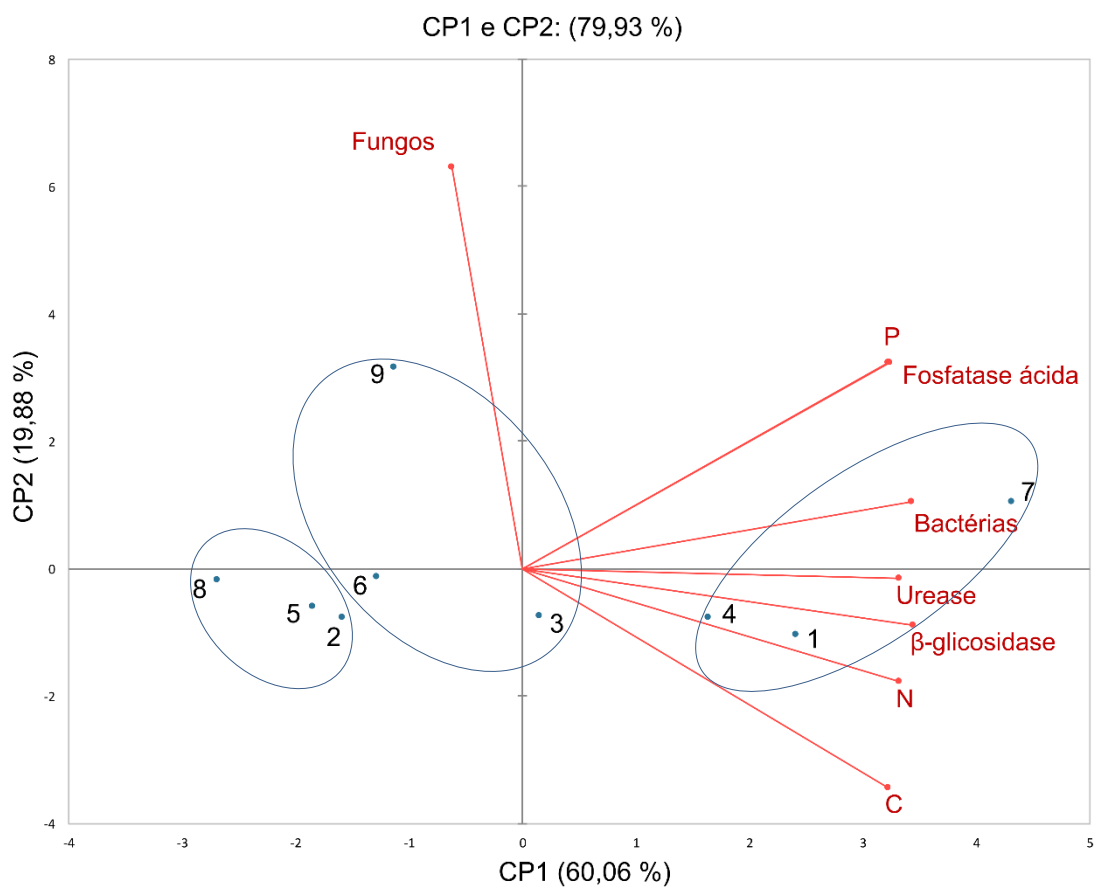


Figura 10. Diagrama de ordenação baseado em PCA de atributos químicos e microbiológicos nas frações de agregados em diferentes coberturas: Árvore Leguminosa (3;6;9), Pastagem (2;5;8) e Floresta Natural (1;4;7), correspondendo à numeração dos MMA, MME, MIC, respectivamente.

5. DISCUSSÃO

O pH ácido dos solos são característicos de solos altamente intemperizados (Tabela 2), com o solo mais ácido sob a floresta natural e sob o Sabiá mostrando correspondência a maiores teores de Al trocável e acidez potencial (Tabela 1). A acidez no solo sob o Sabiá pode ser explicada em decorrência da associação da leguminosa com bactérias diazotróficas, promovendo maior extrusão de prótons, reduzindo o pH do solo (Moreira e Siqueira 2006).

Como o pH do solo de acordo com Wang et al. 2014 atua como um controle primário da atividade microbiana, os resultados acima sugerem que a atividade da enzima fosfatase ácida nos solos sob floresta natural e Sabiá (Tabela 3), tenha sido favorecida pelos valores de pH encontrados, uma vez que a faixa de pH ótimo para ativação dessa enzima ser a de solos ácidos (Tabatabai 1994).

Vale ressaltar que solos com baixos níveis de P (Tabela 2), controlam essa limitação pela eficiência catalítica da fosfatase. Além disso, as espécies vegetais podem aliviar suas limitações relativas de P, retendo mais P do que N durante a reabsorção de nutrientes da serapilheira, o que leva a maior disponibilidade de N para demanda de produção de fosfatase (Peng et al., 2023). Portanto, maiores atividades da fosfatase ácida no solo sob a floresta natural e sob o Sabiá podem estar relacionadas ao fato dessas coberturas promoverem grande deposição de serapilheira, conferindo maior nível de ciclagem de nutrientes, aumentando os teores de P orgânico e atividade da fosfatase (Diniz et

al., 2020).

De forma geral, as maiores atividades enzimáticas foram no solo da floresta natural (Tabela 3), o que pode estar relacionado à capacidade desse sistema em acumular resíduos vegetais oriundos de uma diversidade de espécies, possibilitando uma maior variedade de substrato enzimático para a atividade dos microrganismos (Bastos et al., 2023). Essa explicação vai ao encontro do maior nível de CO no solo (Tabela 2) e maior população de bactérias neste sistema (Tabela 3), o que evidencia maior eficiência da BM na conversão de CO do solo em carbono microbiano (Sae -Tun et al., 2022).

Os valores de atividade das enzimas fosfatase ácida e da β -glicosidase do presente trabalho correspondem aos encontrados por Mendes et al. (2003) em área de vegetação natural no cerrado. Bastos et al. (2023), entretanto, encontraram maiores atividades de enzima β -glicosidase, em área de floresta natural na zona de transição entre a Caatinga e a Mata Atlântica, quando comparados ao presente estudo, evidenciando a influência das condições edafoclimáticas e da cobertura vegetal na atividade da microbiota do solo.

Os macroagregados foram as frações predominantes nas três coberturas vegetais (Figura 6), o que pode ser relacionado às características da arquitetura e fisiologia das raízes das plantas, que se associam a fungos micorrízicos. Os FMAs atuam na formação e estabilização dos agregados, através da ação de hifas fúngicas na união de partículas do solo (Leifheit et al., 2013). Além dos FMAs produzirem glomalina, agente cimentante que pode favorecer a macroagregação (Santos et al., 2020).

Nos macroagregados a maior atividade da enzima β -glicosidase na fração MMA (>2000 μm) em comparação à MME (2000 a 250 μm), sob a floresta natural (Figura 9), pode ser relacionado à maior proporção de resíduos orgânicos de origem vegetal pouco transformados, o que de acordo com Mendes et al. (2003), atua como substrato, estimulando a produção dessa enzima.

Já a menor quantidade da fração silte+argila e dos microagregados na pastagem em comparação às demais coberturas (Figura 6), podem ser relacionados à perda de argila devido a processos erosivos característicos sob a pastagem, o que de acordo com Souza (2010) promove perda de solo, afetando a microagregação, já que minerais argila podem adsorver a MO do solo, formando

associações organominerais persistentes, que atuam na estabilização dos microagregados (Tisdall e Oades, 1982; Six et al., 2004).

Em contrapartida, um maior percentual de microagregados no Sabiá e na floresta natural (Figura 6), pode explicar uma maior população de microrganismos nessas coberturas (Figura 8), uma vez que esta fração de agregados atua como habitat microbiano, pois têm maior superfície específica, por conter uma maior porção de argila e silte, onde as células microbianas estão ligadas, afetando aspectos importantes da ecologia microbiana, como a sobrevivência e sua atividade (Moreira e Siqueira, 2006).

Foi observado na Floresta Natural um distanciamento entre MIC e as frações MMA e MME, estando MIC altamente associada à variável bactérias totais (Figura 10), demonstrando que essa fração gera um microambiente favorável ao desenvolvimento desses microrganismos, o que pode ser relacionado não só ao tamanho da fração, mas também à grande capacidade desse sistema em aumentar e transformar resíduos orgânicos, que atuam como fonte de energia e nutrientes para a comunidade microbiana do solo (Bastos et al., 2023), favorecendo o estoque de carbono orgânico na camada superficial (0 - 10 cm), o que pode ser expresso por maiores teores de CO nesse sistema (Figura 7).

Corroborando, as frações de agregados na floresta natural foram todas associadas ao CP1 e a maiorias das variáveis, com os MIC altamente associado às variáveis das atividades enzimáticas (Figura 10), o que evidencia uma melhor estrutura e diversidade da comunidade microbiana nessa cobertura, já que esses fatores influenciam a atividade enzimática do solo (Six et al., 2006).

Maiores atividades das enzimas na fração MIC sob a floresta natural em relação às demais coberturas (Figura 9), podem ser relacionadas à maior população de bactérias nessa fração (Figura 8), já que células bacterianas produzem essas enzimas (Tabatabai, 1994). Além de a fração MIC contribuir para maior estabilização da β -glicosidase no solo, principalmente devido à resistência dos complexos organominerais, a qual essa enzima pode estar associada (Busto e Mateos, 2000). A associação dessa enzima à MO e minerais argila de acordo com Wallenstein e Burns, (2011) pode proteger contra proteases e outros agentes desnaturantes, reduzindo com a complexação a acessibilidade do substrato aos locais ativos. Estudo realizado por Pflug (1982) relata que a atividade de celulasas ligadas à argila manteve a atividade, o que evidencia um potencial reservatório de

atividade enzimática.

Já a microbiota sob a cobertura Sabiá, apresentou uma maior população de fungos totais no solo e nas frações de agregados, apresentando a fração MIC mais próxima da variável fungos totais associada ao CP2, o que pode estar relacionado com a capacidade da leguminosa de associar-se a fungos micorrízicos, favorecendo a estabilização dos agregados do solo, aumentando a biomassa fúngica, através da preservação do micélio fúngico, além de melhor acesso a nutrientes e condições microclimáticas favoráveis aos fungos nos agregados (Sae – Tun et al., 2022).

A análise de componentes principais (ACP) corroborou, portanto com os resultados discutidos acima e revelou dissimilaridades entre a floresta, a pastagem e o Sabiá. Faustino et al. (2022) em estudo em algumas das áreas do presente trabalho também observaram dissimilaridade das leguminosas arbóreas (*Acacia auriculiformis*, *Mimosa caesalpinifolia* e *Inga edulis*) em relação às coberturas de referência (floresta e pastagem), o que foi relacionado ao fato da leguminosa promover grande deposição de serapilheira, favorecendo a formação de diferentes proporções de compostos de C no solo via decomposição e, conseqüentemente, um acúmulo de C orgânico no solo com diferentes níveis de labilidade ao longo do perfil.

Vale ressaltar, que tanto a distribuição da comunidade microbiana e sua atividade foram similares entre as frações de agregados, principalmente na pastagem. Já na floresta, houve baixa similaridade entre as frações de macroagregados (MMA e MME) e os microagregados. No Sabiá já se observou uma maior dispersão entre as frações. A posição das frações de agregados do Sabiá mais próximas daquelas da floresta, assim como dos atributos microbiológicos mais associados a CP1, sugerem que a introdução da leguminosas estaria favorecendo a microbiota do solo e sua atividade, semelhante ao observado na floresta.

Corroborando, a fração MMA no Sabiá foi a que apresentou menor dissimilaridade entre a floresta natural, o que pode ser relacionado aos teores de nutrientes observados nessa fração, que apresentaram valores próximos à floresta natural (Figura 7). Esse resultado pode ser explicado pela maior deposição de serapilheira nesses sistemas. De acordo com Faustino et al. (2022) a deposição contínua de resíduos vegetais 13 anos após a conversão da

pastagem degradada em leguminosas favoreceu a formação e acumulação de compostos de C orgânico do solo com diferentes níveis de labilidade.

Gama-Rodrigues et al. (2008) 10 anos após a introdução das leguminosas, nas mesmas áreas do presente trabalho, observaram que a pastagem, naquela época, ainda apresentava maior nível de fertilidade e de C orgânico do solo, comparado às plantações com leguminosas. Os resultados desta pesquisa indicam que 24 anos após a introdução das leguminosas, em decorrência do maior aporte de serapilheira, os teores de matéria orgânica e os atributos microbiológicos nestes solos alcançaram ou até mesmo superaram os valores encontrados no pasto e ficaram mais próximos dos observados na floresta.

Os resultados apresentados foram responsivos a abordagem do tipo de cobertura vegetal e tamanho dos agregados no solo, indicando que os sistemas floresta natural e Sabiá mostram dissimilaridade em relação à pastagem. Isso pode ser explicado por maior complexidade desses sistemas pela presença do componente arbóreo, que favorece o acúmulo de serapilheira, refletindo em maior aporte de resíduos orgânicos, condicionando o estabelecimento da biomassa microbiana e da atividade enzimática (Bastos et al., 2023). Estudos mostram que sistemas com espécies leguminosas proporcionam aumentos na atividade microbiana do solo devido à alta taxa de decomposição da serapilheira, que libera nutrientes rapidamente (Sen Oli et al., 2018). O que demonstra que o sistema Sabiá pode desempenhar um papel mais efetivo na melhoria ou manutenção da qualidade do solo, gerando um microambiente específico mais favorável ao desenvolvimento de microrganismos, o que não está relacionado apenas à presença do componente arbóreo, mas também a sua grande capacidade de associar-se a FMAs, favorecendo a agregação que atuam como ambiente favorável para a comunidade microbiana do solo.

6. CONCLUSÕES

Vinte e quatro anos após a introdução da leguminosa os teores de matéria orgânica e os atributos microbiológicos alcançaram ou até mesmo superaram os valores encontrados no pasto e ficaram mais próximos aos observados na floresta natural.

O plantio de Sabiá favoreceu a atividade enzimática nos agregados do solo em relação à pastagem, pela capacidade do componente arbóreo de acumular resíduos orgânicos. Além de contribuir para formação de microagregados, proporcionando um ambiente mais favorável para manutenção e atividade dos microrganismos na camada de 0 - 10 cm do solo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Adetunji, A.T., Lewum F.B., Mulidzi, R., Neube, B. (2017) The biological activities of β -glucosidase, phosphatase and urease as soil quality indicators: a review. *Journal of soil science and plant nutrition*, 17(3):794-807.
- Aleixo, S., Gama-Rodrigues, A.C., Gama-rodriques, E.F., Campello, E.F.C., Silva, E.C., Schripsema, J. (2020) Can soil phosphorus availability in tropical forest systems be increased by nitrogen-fixing leguminous trees? *Science of the Total Environment*, 712:356-405.
- Andreote, F.D., Cardoso, E.J.B.N. (2016) *Microbiologia do solo*. 2. ed. Piracicaba, SP: ESALQ., 221p.
- Azevedo, R.L., Ribeiro, G.T., Azevedo, C.L.L. (2007) Feijão Guandu: Uma Planta Multiuso. *Revista da Fapese*, 3 (2):81-86.
- Barreto, P.A.B., Gama-rodriques, E.F., Gama-Rodrigues, A.C., Barros, N.F., Fonseca, A.S. (2008) Atividade Microbiana, carbono e nitrogênio da biomassa Microbiana em plantações de eucalipto, em sequência de idades. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 32:611-619.
- Bastos, T.R.S., Barreto-Garcia, A.B., Mendes, I.C., Monroe, P.H.M., Carvalho,

- F.F. (2023) Response of soil microbial biomass and enzyme activity in coffee-based agroforestry systems in a high-altitude tropical climate region of Brazil. *Catena*, 230:107249.
- Bayer, C., Mielniczuk, J. (2008) Dinâmica e Função da Matéria Orgânica. In: Santos, G. de A., Silva, L.S. da, Canellas, L.P., Camargo, F. de O. (eds.) *Fundamentos da matéria orgânica do solo: ecossistemas tropicais e subtropicais*. 2. ed. Porto Alegre: Metropole, p.7-18.
- Busto, M. D., Mateos, M. P. (2000) Characterization of β -D-glucosidase extracted from soil fractions. *European Journal of soil Science*, 51:153-200.
- Camelo, D., Dubeux Jr, J.C.B., Santos, M.V.F., Lira, M.A., Fracetto, G.G.M., Fraetto, F.J.C., Cunha, M.V., Freitas, E.V. (2021) Soil Microbial Activity and Biomass in semiarid Agroforestry Systems Integrating Forage Cactus and Tree Legumes *Agronomy*. 11(8):1558.
- Cruz, C.D., Regazzi, A.J., Carneiro, P.C.S. (2004) *Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético*. 4. ed. Viçosa: Editora da Universidade Federal de Viçosa, 480p.
- Dharmakeerthi, R.S., Thenabadu, M.W. (1996) Urease activity in soils: A. Review. *Journal of the National Science Foundation of Sri Lanka*, 24(3):159–195.
- Diniz, A.R., Silva, C.F., Pereira, M.G, Balieiro, F.C., Silva, E.V., Santos, F.M. (2020) Biomassa microbiana e atividade enzimática do solo sob plantação de seringueira clonal. *Revista Floresta e Ambiente*, 27(3): e20171138.
- Dorodnikov, M., Blagodatskaya, E., Blagodatsky, S., Marhan, S., Fangmeier, A., Kuzyakov, Y. (2009) Stimulation of microbial extracellular enzyme activities by elevated CO₂ depends on soil aggregate size. *Global Change Biology*, 15:1603–1614.
- Dutra, V.F., Morales, M.; Jordão, L.S.B.; Borges, L.M.; Silveira, F.S., Simon, M.F.,

Santos-Silva, J., Nascimento, J.G.A.; Ribas, O.D.S. (2022) Mimosa in Flora e Funga do Brasil: <https://floradobrasil.jbrj.gov.br/FB18776> em 18/11/2022 pagina mantida pelo Jardim Botânico do Rio de Janeiro.

Eivazi, F., Tabatabai, M.A., (1988) Glucosidases and Galactosidases in Soils. *Soil Biology & Biochemistry*, 20:601-606.

Teixeira, P.C., Donagema, G.K., Fontana, A., Teixeira, W.G. (eds) (2017) *Manual de métodos de análise de solo*. 3. ed. Brasília, DF: Embrapa, 574p.

FAO (2015) Status of the world's soil resources. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations, 607p.

Faustino, L.L., Marciano, C.R., Alves, M.C., (2020) Morphometry and size distribution of aggregates from a Typic Hapludult soil under natural secondary forest, implanted leguminous trees and degraded pasture in the Atlantic coast of Brazil. *Geoderma Regional*, 23: e00350.

Faustino, L.L., Gama-rodrigues, E.F., Gama-Rodrigues, A.C., Barreto, P.A.B. (2022) Frações de carbono orgânico oxidável em solos sob leguminosas arbóreas fixadoras de nitrogênio em pastagem degradada. *Revista Ciência Rural*, Santa Maria, 52(12):e20210488.

Ferreira, R.L.C., Lira Junior, M.A., Rocha, M.S., Santos, M.V.F., Lira, M.A., Barreto, L.P. (2007) Deposição e acúmulo de matéria seca e nutrientes em serapilheira em um bosque de Sabiá (*Mimosa caesalpiniiifolia* Benth.). *Revista Árvore*, 31(1):7-12.

Gama-Rodrigues, E.F., Barros, N.F., Gama-Rodrigues, A.C., Santos, G.A. (2005) Nitrogênio, carbono e atividade da biomassa microbiana do solo em plantações de eucalipto. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 29:898-901.

Gama-Rodrigues, E.F., Gama-Rodrigues, A.C., Paulino, G.M., Franco, A.A. (2008) Atributos químicos e microbiológicos de solos sob diferentes coberturas

vegetais no Norte do estado do Rio de Janeiro. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 32:1521-1530.

Gautam, A., Sekaran, U., Guzman, J., Kovacs, P., Hernandez, J. L. G., Kumar, S. (2020) Responses of soil microbial community structure and enzymatic activities to long-term application of mineral fertilizer and beef manure. *Environmental and Sustainability Indicators*, 8:100073.

Ghosh, A., Singh, A.B., Kumar, R.V., Mannas, M.C., Bhattacharyya, R., Rahman, M.M., Sharma, P., Rajput, P.A.S., Misra, S. (2020) Soil enzymes and microbial elemental stoichiometry as bio-indicators of soil quality in diverse cropping systems and nutrient management practices of Indian Vertisols. *Applied Soil Ecology*, 145:103304.

Gomes, D.S. (2009) *Estoque de carbono e nitrogênio em classes de agregados e solos sob diferentes sistemas florestais e pasto no Norte Fluminense*. Monografia (Graduação em Agronomia) - Campos dos Goytacazes-RJ, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro – UENF, 48p.

Gupta, V. V. S. R.; Germida, J. J. (1988) Distribution of microbial biomass and its activity in different soil aggregation size classes as affected by cultivation. *Soil Biology and Biochemistry*, 20:777-786.

Harza, K.K., Nath, C.P., Singh, U., Praharaj, C.S., Kumar, N., Singh, S.S., Singh, N.P. (2019) Diversification of maize-wheat Cropping system with legumes and integrated nutrient management increases soil aggregation and carbon sequestration. *Geoderma*, 353:308-319.

Kandele, E., Murer, E. (1993) Aggregate stability and soil microbial processes in a soil with different cultivation. *Geoderma*, 56:503–513.

Kandeler, E., Gerber, H. (1988) Short-term assay of soil urease activity using colorimetric determination of ammonium. *Biology and Fertility of Soils*, Berlin, 6(1):68-72.

- Kay, B.D. (1998) Soil structure and Organic carbon: A Review. In: Lal, R., Kimble, J.M., Follett, R.F., Stewart, B.A. (eds.), *Soil Processes and the Carbon Cycle*. Boca Raton: *CRC Press*, 169–197.
- Kemper, W.D., Rosenau, R.C. (1986) Aggregat Stability and Size Distribution. Part 1: *Physical and Mineralogical Methods*. 2. Ed. Madison, Wisconsin: Agronomy Monograph 9, 425–442.
- Klose, S., Tabatabai, M.A. (2000) Urease activity of microbial biomass in soils as affected by cropping systems. *Biology and Fertility Soils*, 31:191–199.
- Leifheit, E.F., Veresoglou, S.D., Lehmann, A., Morris, E.K. & Rillig, M.C. (2013) Multiple factors influence the role of arbuscular mycorrhizal fungi in soil aggregation – a meta-analysis. *Plant and Soil*, 374:523–537.
- Li, J., Cooper, J.M., Lin, Z., Li, Y., Yang, X., Zhao, B. (2015) Soil microbial Community structure and function are significantly affected by long-term organic and mineral fertilization regimes in the North China Plain. *Applied Soil Ecology*, 96:75-87.
- Liu, Y., Dong, L., Zhang, H., Deng, Y., Hu, B., Wang, W. (2023) Distinct roles of bacteria and fungi in mediating soil extracellular enzymes under long-term nitrogen deposition in temperate plantations. *Forest Ecology and Management*, 529:120658.
- Lv, Y., Wang, C., Wang, F., Zhao, G., Pu, G., Ma, X., Tian, X. (2013) Effects of nitrogen addition on litter decomposition, soil microbial biomass, and enzyme activities between leguminous and non-leguminous forests. *Ecological Research*, 28:793–800.
- Manhães, C.M.C., Gama-Rodrigues, E.F., Moço, M.K.S., Gama-Rodrigues, A.C. (2013) Meso-and macrofauna in the soil and litter of leguminous trees in a degraded pasture in Brazil. *Agroforest System*, 87 (5):993-1004.

- Martin, J.P. (1950) Use of acid, rose Bengal, and streptomycin in the plate method for estimating soil fungi. *Soil Science*, 69:215-232.
- Melo, W.J., Melo, G.M.P., Ademir, S.F.A., Melo, V.P. (2010) Avaliação de atividade enzimática no solo. In: Figueiredo, M.V.B., Burity, H.A., Oliveira, J.P., Santos, C.E.R.S., Satmford, N.P. (eds.) *Biotechnologia aplicada à agricultura*. 2. ed. Brasília: EMBRAPA, p. 153-187.
- Mendes, I.C., Souza, L.V., Resck, D.V.S., Gomes, A.C. (2003) Propriedades Biológicas em agregados de um Latossolo vermelho-escuro sob Plantio convencional e direto no Cerrado. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 27:435-443.
- Mendes, I.C., Souza, L.M., Sousa, D.M.G., Lopes, A.A.C., Reis Júnior, F.B., Lacerda, M.P.C., Malaquias, P.C. (2019) Critical limits for microbial indicators in tropical Oxisols at post-harvest: The FERTBIO soil sample concept. *Applied Soil Ecology*, 139:85-93.
- Mendes, I.C., Chaer, G.M., Sousa, D.M.G., Reis Júnior, T.B., Dantas, O.D., Oliveira, M.I.L., Lopes, A.A.C., Souza, L.M. (2020) Bioanálise de solo: A mais nova aliada para sustentabilidade agrícola. *Jornal Informações Agrônomicas*, 8:1-11.
- Mendes, I.C., Souza, Sousa, D.M.G., Dantas, O.D., Lopes, A.A.C., Júnior Reis, F.B., Oliveira, M.I., Chaer, G.M. (2021) Soil quality and grain yield: A win-win combination in clayey tropical oxisols. *Geoderma*, 388:114880.
- Moreira, F.M.S., Siqueira, J.O. (2006) *Microbiologia e Bioquímica do solo*. 2. ed. Lavras: Editora Universidade Federal de Lavras, 730p.
- Oades, J.M., (1984) Soil organic matter and structural stability: mechanisms and implications for management. *Plant and Soil*, 76: 319-337.

- Peng, Z., Wu, Y., Guo, L., Yang, L., Wang, B., Wang, X., Liu, W., Su, Y., Wu, J., Liu, L. (2023) Foliar nutrient resorption stoichiometry and microbial phosphatase catalytic efficiency together alleviate the relative phosphorus limitation in forest ecosystems. *New Phytologist*, 238(3):1033-1044.
- Perin, A., Guerra, J.G.M., Teixeira, M.G., Pereira, M.G., Fontana, A. (2002) Efeito da Cobertura Viva com Leguminosas herbáceas perenes na agregação de um argissolo. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 26:713-720.
- Pflug W., (1982) Effect of clay minerals on the activity of polysaccharide cleaving soil enzymes. *Zeitschrift für Pflanzenernährung und Bodenkunde*, 145:493-502.
- Png, G.K., Turner, B.L., Albornoz, F.E., Hayes, P.E., Lambers, H., Laliberté, H. (2017) Greater root phosphatase activity in nitrogen-fixing rhizobial but not actinorhizal plants with declining phosphorus availability. *Journal of Ecology*, 105:1246-1255.
- Pomianoski, D.J.W., Dedecek, R.A., Vilcahuaman, L.J.M. (2006) Efeito do fogo nas características químicas e biológicas do solo no sistema Agroflorestal da Bracatinga. *Pesquisa Florestal Brasileira*, 52:93-118.
- Prendergast-Miller, M. T., de Menezes, A. B., Macdonald, L. M., Toscas, P., Bissett, A., Baker, G., Farrell, M., Richardson, A. E., Wark, T., Thrall, P. H. (2017) Wildfire impact: Natural experiment reveals differential short-term changes in soil microbial communities. *Soil Biology and Biochemistry*, 109:1-13.
- Primieri, S., Santos, J.C.P., Antunes, P.M. (2021). Nodule-Associated bacteria alter the mutualism between arbuscular mycorrhizal fungi and N₂ fixing bacteria. *Soil Biology and Biochemistry*, 154:108149.
- Ribaski, J., Lima, P.C.F., Oliveira, V. R., Drumond, M.A. (2003) Comunicado Técnico 104: Sabiá (*Mimosa caesalpiniaefolia*) Árvore de Múltiplo uso no

Brasil. Colombo: EMBRAPA, 4p.

- Sanaei, A., Yuan, Z., Ali, A., Loreau, M., Mori, A.S., Reich, P.B., Jucker, T., Lin, F., Ye, J., Fang, S., Hao, Z., Wang, X. (2021) Tree species diversity enhances plant soil interactions in a temperate forest in Northeast China. *Forest Ecology and Management*, 491:119160.
- Sae-Tun, O., Bodner, G., Rosinger, C., Zechmeister-Boltenstern, S., Mentler, A., Keiblinger, K. (2022) Fungal biomass and microbial necromass facilitate soil carbon sequestration and aggregate stability under different soil tillage intensities. *Applied Soil Ecology*, 179:104599.
- Sangoi, L., Ernani, P. R., Lech, V. A. (2003) Volatilização de N-NH₃ em decorrência da forma de aplicação de ureia, manejo de resíduos e tipo de solo, em laboratório. *Ciência Rural*, 33(4): 687-692.
- Santos, H.G., Jacomine, P.K.T., Anjos L.H.C. dos, Oliveira, V.A. de, Lumbreras, J.F., Coelho, M.R., Almeida, J.A. de, Araújo Filho, J.C. de, Oliveira, J.B. de, Cunha, T.J.F. (2018) Sistema brasileiro de classificação de solos. 5, ed. Brasília: Embrapa, 356p.
- Santos, A., Silva, C.F., Gama-Rodrigues, E.F., Gama-Rodrigues, A.C., Sales, M., Faustino, L.L., Barreto-Garcia, P. A. B. (2020) Glomalin in soil aggregates under different forest and pasture systems in the North of Rio de Janeiro State, Brazil. *Environmental and Sustainability Indicators*, 8:100088.
- Sen Oli, P.S., Mandal, T., Adhikari, U. (2018) Effect of leaf litter treatment on soil microbial biomass. *Open Journal Soil Science*, 8:175–185.
- Silva, C.F. da, Loss, A., Carmo, E.R.do, Silva, E.M. R. da, Martins, M.A. (2015) Fertilidade do solo e substâncias húmicas em área de cava de extração de argila revegetada com eucalipto e leguminosas no Norte Fluminense. *Ciência Florestal*. 25:547-561.

- Six, J., Elliott, E., Paustian, K. (2000) Soil macroaggregate turnover and microaggregate formation: a mechanism for C sequestration under no-tillage agriculture. *Soil Biology Biochemistry*, 32:2099–2103.
- Six, J., Bossuyt, H., Degryze, S., Deneff, K. (2004) A history of research on the link between (micro) aggregates, soil biota and soil organic matter dynamics. *Soil and Tillage Research*, 79:7–31.
- Six, J., Frey, S.D., Thiet, R.K., Batten, K.M. (2006) Bacterial and Fungal Contributions to Carbon Sequestration in Agroecosystems. *Soil Science Society of America Journal*, 70(2):555-569.
- Sollins, P., Homann, P., Caldwell, B.A. (1996) Stabilization and destabilization of soil organic matter: mechanisms and controls. *Geoderma*, 74: 65-105.
- SOS Mata Atlântica (2021). Relatório Anual. São Paulo, 46p.
- SOS Mata Atlântica e INPE (2016) Atlas da evolução dos remanescentes florestais e ecossistemas associados ao domínio da Mata Atlântica. São Paulo: Fundação SOS Mata Atlântica/INPE, 70p.
- Souza, J.M. de. (2010) *Dinâmica de atributos físicos e químicos de um Argissolo vermelho Amarelo em topossequência de pastagem cultivada no brejo paraibano*. Dissertação (Mestrado em Manejo do Solo) – Areia – PB, Universidade Federal da Paraíba, 72p.
- Tabatabai, M.A. (1994) Soil enzymes. *In: Weaver, R.W.; Angle, S., Bottomley, P.J. Methods of soil analysis, Part 2: Microbiological and biochemical properties*. 5. ed. Madison: Soil Science Society of America, p.775-833.
- Tasca, F.A., Ernani, P.R., Rogeri, D.A., Gatiboni, L.C., Cassol, P.C. (2011) Volatilização De Amônia do solo após a aplicação de ureia convencional ou com inibidor de urease. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 35(2):493–509.

- Tisdall, JM, Oades, JM. (1982) Organic matter and water-stable aggregates in solos. *Journal of Soil Science*, 33:141-163.
- Vicente, L.C., Gama-Rodrigues, E.F., Gama-Rodrigues, A.C. Marciano, C.R. (2019) Organic carbon within soil aggregates under forestry systems and pasture in a southeast region of Brazil. *Catena*, 182:104139.
- Wallenstern, M.D., Burns, R.G. (2011) Ecology of Extracellular Enzyme Activities and Organic Matter Degradation in Soil: A Complex Community-Driven Process. In: Dick, R.P. (ed.) *Methods of Soil Enzymology*. Madison, WI: Soil Science Society of America, p. 35-55.
- Wang, R., Filley, T.R., Xu, Z., Wang, X., Li, M.H., Zhang, Y., Luo, W., Jiang, Y. (2014) Coupled response of soil carbon and nitrogen pools and enzyme activities to nitrogen and water addition in a semi-arid grassland of Inner Mongolia. *Plant and Soil*, 381:323-336.
- Wang Li, J., Cooper, J.M., Lin, Z., Li, Y., Yang, X., Zhao, B. (2015) Soil microbial Community structure and function are significantly affected by long-term organic and mineral fertilization regimes in the North China Plain. *Applied Soil Ecology*, 96:75-87.
- Yang, B., Qi, K., Bhusal, D.R., Huang, J., Chen, W., Wu, Q., Hussain, A., Pang, X. (2020) Soil microbial community and enzymatic activity in soil particle-size fractions of spruce plantation and secondary birch forest. *European Journal of Soil Biology*, 99:103196.
- Yudina, A.V., Fomin, D.S., Kotelnikova, A.D., Milanovskii, E.Y. (2018) From the notion of elementary soil particle to the particle-size and microaggregate-size distribution analyses: A Review. *Eurasian Soil Science*, 51:1326-1347.
- Zaia, F.C., Gama-Rodrigues, A.C., Gama-rodrigues, E.F., Machado, R.C.R. (2008) Fósforo orgânico em solos sob agrossistemas de cacau. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 32:1987-1995.

Zhang, Qi-C., Shamsi, I.H., Xu, Dan-T., Wang, Guang-H., Lin, Xian-Y., Jilani, G., Hussain, N., Chaudhry, A.N. (2012) Chemical fertilizer and organic manure inputs in soil exhibit a vice versa pattern of microbial community structure. *Applied Soil Ecology*, 57:1-8.