Universidade de São Paulo

Centro de Energia Nuclear na Agricultura

Maristela Calvente Morais

Efeito da remoção de quantidades de palha de cana-de-açúcar na biomassa e na comunidade microbiana do solo

Piracicaba

2016

MARISTELA CALVENTE MORAIS

Efeito da remoção de quantidades de palha de cana-de-açúcar na biomassa e na comunidade microbiana do solo

Dissertação apresentada ao Centro de Energia Nuclear na Agricultura da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestra em Ciências

Área de Concentração: Química na Agricultura e no Ambiente

Orientador: Profa. Dra. Brigitte Josefine Feigl

Piracicaba
2016

AUTORIZO A 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 (CIP)
Seção Técnica de Biblioteca - CENA/USP

Morais, Maristela Calvente
Efeito da remoção de quantidades de palha de cana-de-açúcar na biomassa e na comunidade microbiana do solo / Maristela Calvente Morais; orientadora Brigitte Josefine Feigl. - - Piracicaba, 2016.
98 p. : il.

Dissertação (Mestrado – Programa de Pós-Graduação em Ciências. Área de Concentração: Química na Agricultura e no Ambiente) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura da Universidade de São Paulo.

1. Biocombustíveis 2. Carbono 3. Ecossistemas agrícolas 4. Etanol 5. Matéria orgânica do solo 6. Microbiologia do solo 7. Nitrogênio 8. Palhada 9. Resíduos agrícolas I. Título

CDU 633.61 (631.417.1 + 631.416.1)

Ofereço
para meu sobrinho e afilhado, Francisco.
Mal posso esperar conhecê-lo.

Dedico aos meus pais, Neide e Douglas, e à minha irmã, Lívia, por todo AMOR dedicado a mim.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por tudo. "*Em verdes prados ele me faz repousar. Conduz-me junto às águas refrescantes, restaura as forças da minha alma*".

A minha querida orientadora Dra. Brigitte Josefine Feigl, por me acolher, aceitar me orientar, por todo suporte para realização deste trabalho e, principalmente, por acreditar em mim. Serei sempre grata.

Aos estimados professores Dr. Carlos Clemente Cerri e Dr. Carlos Eduardo Pellegrino Cerri pelo auxílio, incentivo e cuidado com a pesquisa.

A professora Dra. Tsai Siu Mui e ao Laboratório de Biologia Molecular, pela contribuição na realização de parte deste trabalho. Agradeço especialmente à Dra. Beatriz Ferrari pela grande ajuda.

Aos estagiários que tornaram cada trabalho de campo e laboratório mais doce.

Aos funcionários do Laboratório de Biogeoquímica Ambiental, por toda dedicação e comprometimento profissional e principalmente pelo carinho atribuído a mim.

Aos colegas do Laboratório, pela amizade construída.

Aos pós-doutores Dr. Marcos Siqueira, Dr. André Mazzetto e Dr. Maurício Cherubin e Dra. Bruna de Oliveira, por todo tempo disponibilizado em ensinamentos que tanto contribuíram para o desenvolvimento deste trabalho.

A CAPES e ao BNDES, pelo apoio financeiro.

Ao CENA-USP, pela excelência em ensino e pesquisa.

Aos funcionários da Secretaria de Pós-Graduação pelo suporte e auxílio nos processos burocráticos.

A bibliotecária Marília Henyei, por sempre me atender com muita atenção e gentileza.

Ao Grupo de Oração Universitário (GOU) Água Viva, pelas orações, terços e missas, em meio às tribulações.

As Irmãs do Cenáculo Nossa Senhora de Lourdes, por proporcionarem um lar tão abençoado em Piracicaba.

As Meninas da Casa por estarem ao meu lado sempre que precisei e por me lembrarem como a vida é bela.

Aos verdadeiros amigos, que mesmo longe estiveram perto e torceram pelo meu bem.

E por fim, mas, não menos importante agradeço a minha família, pelos mais preciosos valores, amor incondicional e alegrias. E por ser exemplo para nunca desistir e seguir lutando pelo o que acredito.

"A fé e a razão (fides et ratio) constituem como que as duas asas pelas quais o espírito humano se eleva para a contemplação da verdade".

São João Paulo II

RESUMO

MORAIS, M. C. **Efeito da remoção de quantidades de palha de cana-de-açúcar na biomassa e na comunidade microbiana do solo.** 2016. 98 p. Dissertação (Mestrado) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2016.

O esforço global em diversificar a matriz mundial de combustíveis líquidos, busca substituir as fontes fósseis por renováveis. A produção de bioenergia derivada da biomassa assume importante papel neste cenário. A biomassa gerada após a colheita da cana-de-açúcar ganha destaque como matéria prima pela grande quantidade de material que pode ser usado para geração direta (queima) e indireta (biocombustíveis) de bioenergia. No entanto, ainda pouco se sabe sobre os efeitos da remoção de quantidades de palha de cana-de-açúcar voltado à produção de bioenergia sobre os atributos biológicos do solo. Assim, o objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da remoção da palha de cana-de-açúcar no carbono e nitrogênio microbiano e na comunidade microbiana do solo. O estudo foi conduzido em duas áreas cultivadas com cana-de-açúcar (*Saccharum* spp. L.) nos municípios de Capivari, SP (Usina Bom Retiro) e Valparaíso, SP (Usina Univalem). Em Bom Retiro o experimento foi instalado em um Latossolo Vermelho distrófico típico de textura franco-argilo-arenosa e, em Univalem foi um Argissolo Vermelho-Amarelo distrófico de textura arenosa. Em ambos locais, o delineamento experimental utilizado foi blocos casualizados, com cinco tratamentos e quatro repetições. Os tratamentos testados corresponderam a diferentes intensidades de remoção de palha de cana-de-açúcar (*i.e.*, 100%; 75%; 50%; 0 de remoção; e aleiramento da quantidade remanescente na área após colheita), sendo 0; 3,4; 7,8; 16,6; 15,6 Mg ha^{-1} de palha em massa de matéria seca na Usina Bom Retiro e 0; 4,2; 8,7; 18,9; 23,3 Mg ha^{-1} na Usina Univalem. Um ano após a instalação do experimento, foram coletadas amostras de palha e de solo na camada 0-10 cm e, passados quatro meses após o segundo manejo de remoção da palha nos tratamentos foram coletadas amostras de palha e de solo nas camadas 0-5 e 5-10 cm. Os atributos avaliados foram: carbono e nitrogênio total da palha e do solo, fração mais oxidável do carbono do solo, carbono e nitrogênio da biomassa microbiana da palha e do solo e, quantificação de genes microbianos no solo. Os resultados mostraram que as quantidades de C e N totais no solo não apresentaram resposta em função das quantidades de palha, no entanto, a fração de C mais facilmente oxidável e o C e N microbiano apresentaram tendência de redução em função de maiores níveis de remoções de palha, sendo a resposta da biomassa microbiana mais expressiva no solo de textura arenosa (*i.e.*, Univalem). Da mesma forma, as comunidades microbianas foram mais sensíveis às diferentes remoções de palha, apresentando maior abundância com menor remoção de palha. Desta forma, a remoção de elevadas quantidades da palha de cana-de-açúcar do campo, ao alterar a microbiologia do solo, pode ter consequências nas específicas funções exercidas por este compartimento, que garantem o bom funcionamento do solo e podem prevenir contra a degradação. Estes resultados podem servir de base para avaliações mais amplas que buscam uma estratégia sustentável de manejo da palha de cana-de-açúcar que garanta o bom funcionamento do solo.

Palavras-chave: Manejo de resíduos culturais. Bioenergia. qPCR. C microbiano. N microbiano.

ABSTRACT

MORAIS, M. C. **Sugarcane removal straw effects on soil biomass and microbial community.** 2016. 98 p. Dissertação (Mestrado) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2016.

The global effort to diversify the global matrix of liquid fuels seeks to replace fossil sources by renewable ones. Bioenergy production derived from biomass plays an important role in this scenario. The biomass generated after the harvest of sugarcane stands out by the large amounts of straw that can be used for direct generation (burning) and indirect (biofuels) of bioenergy. However, little is know about the effects of sugarcane straw removal to bioenergy production on biological soil properties. The objective of this study was to evaluate the effect of the straw removal on soil microbial carbon and nitrogen as well as on soil microbial community. The experiments were conducted in two areas cultivated with sugarcane (*Saccharum* spp. L.) in Capivari, SP (Bom Retiro) and Valparaíso, SP (Univalem). The soils studied were an Oxisoil with clay texture in Bom Retiro and an Ultisoil with sandy texture in Univalem. In both sites, the experimental designer was a randomized blocks with five treatments and four replications. The treatments tested were decreasing intensities of sugarcane straw harvest (*i.e.*, 100%; 75%; 50%; 0 removing of the original straw deposition) : i) Bom Retiro: 0; 3,4; 7,8; 16,6; 15,6 Mg ha^{-1} of dry matter of straw kept on soil surface; ii) Univalem: 0; 4,2; 8,7; 18,9; 23,3 Mg ha^{-1} of dry matter of straw kept on the soil surface. One year after experiment installation, straw and soil (0-10 cm layer) samples were collected. A new sugarcane straw and soil (0-5 and 5-10 cm) sampling was performed four months from the second deposition of sugarcane straw on the field. The attributes evaluated were: total and microbial C and N of straw and soil, soil easily-oxidizable C, straw and soil microbial genes quantification using *q*PCR method. Our results showed that soil C and N contents were not impacted by sugarcane straw removal. However, the fraction of easily-oxidizable C and microbial C and N tended to decrease due to increased straw removal, with a more significant microbial biomass response for the sandy soil site (Univalem). Likewise, microbial communities were also sensitive to straw management, resulting in a significant decrease in the number of gene copies with increasing intensities of sugarcane straw harvest. Therefore, we can concluded that the large amounts of sugarcane straw removal from field as affects soil microbiology, may have consequences in specific functions performed by microorganisms, which ensure the soil functioning and can prevent soil degradation. These results can serve as a basis for more comprehensive assessments that seek a sustainable crop residue management strategy for sugarcane, to ensure the proper functioning of the soil.

Keywords: Crop residue management. Bioenergy. qPCR. Microbial C. Microbial N.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - As barras representam as temperaturas máximas e mínimas e a linha representa a precipitação mensal de (a) Usina Bom Retiro (SP) e (b) Usina Univalem (SP). Os dados são referentes aos ano de 2015 e 2016 (Fonte: CANACAP, 2016; estação UFSCar, 2016)

Figura 2 - Esquema representando o ciclo da cana-de-açúcar no período de condução do estudo e as datas de coleta das amostras nas Usinas Bom Retiro e Univalem

Figura 3 - Estoques de carbono e nitrogênio total do solo sob cultivo de cana-de-açúcar, em função das quantidades de palha obtidos na primeira amostragem, na camada 0-10 cm, (a) Estoque de C do solo em Bom Retiro, (b) Estoque de N do solo em Bom Retiro, (c) Estoque de C do solo em Univalem, (d) Estoque de N do solo em Univalem. Média (n=4) ± erro padrão. Médias de mesma letra não diferem dentro de cada gráfico (Tukey 5%). ns = não significativo

Figura 4 - Estoques de carbono lábil do solo sob cultivo de cana-de-açúcar em função das quantidades de palha obtidos na primeira amostragem, na camada 0-10 cm, (a) Estoque de C lábil do solo em Bom Retiro, (b) Estoque de C lábil do solo em Univalem. Média (n=4) ± erro padrão. ns = não significativo (Tukey 5%)

Figura 5 - Estoques de carbono e nitrogênio microbiano do solo sob cultivo de cana-de-açúcar em função das quantidades de palha obtidos na primeira amostragem, na camada 0-10 cm, (a) Estoque de C microbiano em Bom Retiro, (b) Estoque de N microbiano em Bom Retiro, (c) Estoque de C microbiano em Univalem, (d) Estoque de N microbiano em Univalem. * Média (n=4) ± erro padrão. Médias de mesma letra não diferem dentro de cada gráfico (Tukey 5%); ns = não significativo

Figura 6 - Box-plot do número de cópias de Bactéria (A), Archaea (B) e Fungo (C) no solo sob cultivo de cana-de-açúcar em função das quantidades de palha obtidos na primeira amostragem, nas camadas 0-5 cm e 5-10 cm, nas Usinas Bom Retiro e Univalem. Médias da mesma cor e letra não diferem dentro de cada gráfico para os tratamentos (Tukey 5%); ns = não significativo

Figura 7 - Estoques de carbono e nitrogênio totais do solo sob cultivo de cana-de-açúcar em função das quantidades de palha obtidos na segunda amostragem, nas camadas 0-5 cm e 5-10 cm, (a) Estoque de C do solo em Bom Retiro, (b) Estoque de N do solo em Bom Retiro, (c) Estoque de C do solo em Univalem, (d) Estoque de N do solo em Univalem. Média (n=4) ± erro padrão

Figura 8 - Estoques de carbono lábil do solo sob cultivo de cana-de-açúcar em função das quantidades de palha obtidos na segunda amostragem, nas camadas 0-5 cm e 5-10, (a) Estoque de C lábil do solo em Bom Retiro, (b) Estoque de C lábil do solo em Univalem. *[1] Média (n=4) ± erro padrão para a camada 0-10 cm. Médias de mesma letra não diferem dentro de cada gráfico (Tukey 5%); ns = não significativo

Figura 9 - Estoques de carbono e nitrogênio microbiano do solo sob cultivo de cana-de-açúcar em função das quantidades de palha obtidos na segunda amostragem, nas camadas 0-5 cm e 5-10 cm, (a) Estoque de C microbiano do solo em Bom Retiro, (b) Estoque de N microbiano do solo em Bom Retiro, (c) Estoque de C microbiano do solo em Univalem, (d) Estoque de N microbiano do solo em Univalem. *[1] Média (n=4) ± erro padrão para a camada 0-10 cm. Médias de mesma letra não diferem dentro de cada gráfico (Tukey 5%); ns = não significativo

Figura 10 - Box-plot do número de cópias de Bacteria (A), Archaea (B) e Fungo (C) no solo sob cultivo de cana-de-açúcar em função das quantidades de palha obtidos na segunda amostragem, nas camadas 0-5 cm e 5-10 cm, nas Usinas Bom retiro e Univalem. Médias da mesma cor e letra não diferem dentro de cada gráfico para os tratamentos (Tukey 5%); ns = não significativo

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Localização geográfica e classificação climática das áreas selecionadas para a instalação dos experimentos

Tabela 2 – Tratamentos propostos e seus valores efetivamente alcançados de remoção expressos em % e a resultante quantidade remanescente de palha em massa de matéria seca inicial (Mg ha^{-1})

Tabela 3 – Quantidade de palha correspondente aos tratamentos na segunda amostragem (Mg ha^{-1})

Tabela 4 – Caracterização física e química do solo

Tabela 5 - Primers utilizados para a amplificação dos genes 16S rRNA de *Bacteria*, *Archaea* e 18S rRNA de Fungo

Tabela 6 - Teores de C total (C_T), N total (N_T) na palha de cana-de-açúcar remanescente em função das quantidades obtidos na primeira amostragem nas Usinas Bom Retiro e Univalem

Tabela 7 – Teores de carbono da biomassa microbiana (CBM), nitrogênio da biomassa microbiana (NBM), relações carbono da biomassa microbiana:nitrogênio da biomassa microbiana (CBM:NBM), carbono da biomassa microbiana:carbono total (CBM:C_T) e nitrogênio da biomassa microbiana:nitrogênio total (NBM:N_T) na palha de cana-de-açúcar em função das quantidades obtidos na primeira amostragem nas Usinas Bom Retiro e Univalem

Tabela 8 – Teores de C total (C_T), N total (N_T) e relação C:N no solo sob cultivo de cana-de-açúcar em função das quantidades de palha obtidos na primeira amostragem, na camada 0-10 cm, nas Usinas Bom Retiro e Univalem

Tabela 9 – Teores de carbono lábil (C_L), de carbono da biomassa microbiana (CBM) e nitrogênio da biomassa microbiana (NBM) no solo sob cultivo de cana-de-açúcar em função das quantidades de palha obtidos na primeira amostragem, na camada 0-10 cm, nas Usinas Bom Retiro e Univalem

Tabela 10 – Valores das relações carbono lábil:carbono total (C_L:C_T), carbono da biomassa microbiana:carbono lábil (CBM:C_L), relações CBM:C_T, NBM:N_T e C:N microbiana (CBM:NBM) do solo sob cultivo de cana-de-açúcar em função das quantidades de palha obtidos na primeira amostragem, na camada 0-10 cm, nas Usinas Bom Retiro e Univalem

Tabela 11 – Teores de C total (C_T), N total (N_T) na palha de cana-de-açúcar em função das quantidades, obtidos na segunda amostragem nas Usinas Bom Retiro e Univalem

Tabela 12 – Teores de carbono da biomassa microbiana (CBM) e nitrogênio da biomassa microbiana (NBM), relações CBM:C_T, NBM:N_T e C:N microbiana, respiração basal (RB) e quociente metabólico (qCO_2 = quantidade de C-CO_2 evoluído por unidade de C-microbiano por dia) na palha de cana-de-açúcar em função das quantidades na segunda amostragem nas Usina Bom Retiro e Univalem

Tabela 13 – Teores de C total (C_T), N total (N_T) e relação C:N no solo sob cultivo de cana-de-açúcar em função das quantidades de palha obtidos na segunda amostragem, nas camadas 0-5; 5-10 cm na Usinas Bom Retiro e Univalem

Tabela 14 – Teores de carbono lábil (C_L), carbono da biomassa microbiana (CBM) e nitrogênio da biomassa microbiana (NBM) no solo sob cultivo de cana-de-açúcar em função das quantidades de palha obtidos na segunda amostragem, nas camadas 0-5, 5-10 cm, nas Usinas Bom Retiro e Univalem

Tabela 15 – Valores das relações carbono lábil: carbono total (C_L:C_T), carbono da biomassa microbiana: carbono total (CBM:C_L), carbono da biomassa microbiana: carbono total (CBM:C_T), nitrogênio da biomassa microbiana: nitrogênio total (NBM:N_T) e carbono da biomassa microbiana: nitrogênio da biomassa microbiana (CBM:NBM), respiração basal (RB) e quociente metabólico (qCO_2 = quantidade de C-CO_2 evoluído por unidade de C-microbiano por dia) no solo sob cultivo de cana-de-açúcar em função das quantidades de palha obtidos na segunda amostragem, nas camada 0-5, 5-10 cm, nas Usina Bom Retiro e Univalem

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO 19

2. REVISÃO DE LITERATURA 22

2.1 Bioenergia 22

2.2 Palha da cana-de-açúcar e atributos do solo 26

2.3 Carbono do solo 29

2.4 Fração oxidável do C do solo 32

2.5 Biomassa microbiana e parâmetros microbiológicos do solo 33

2.6 Estudo da comunidade microbiana do solo 36

3. MATERIAL E MÉTODOS 38

3.1 Localização e caracterização da área de estudo 38

3.2 Delineamento experimental e tratamentos 40

3.3 Coletas e análises das amostras 43

3.4 Caracterização física e química do solo 44

3.5 Determinação de Carbono e Nitrogênio Totais 45

3.6 Estimativa do C e N da biomassa microbiana da palha e do solo 45

3.7 Respiração basal e determinação do Quociente Metabólico (qCO_2) 47

3.8 Extração de DNA total do solo 47

3.9 Análises estatísticas 49

4. RESULTADOS 50

4.1. Resultados da primeira amostragem - efeito das quantidades remanescentes de palha 50

4.1.1 C_T e N_T na palha remanescente no solo 50

4.1.2 Efeito da remoção de quantidades de palha sobre carbono e nitrogênio no solo 52

4.1.3 Quantificação de genes microbianos no solo 58

4.2. Resultados da segunda amostragem – efeito das quantidades remanescentes de palha 60

4.2.1 C_T e N_T na palha remanescente no solo 61

4.2.2 Efeito da remoção de quantidades de palha sobre o carbono e nitrogênio no solo 64

4.2.3 Quantificação de genes microbianos no solo 72

5. DISCUSSÃO 74

5.1 Decomposição da palha e os efeitos na mineralização de C e N 74

5.2 Efeito da remoção de palha sobre frações de C e N no solo 75

5.3 Efeito da remoção da palha na biomassa microbiana do solo 76

5.4 Efeito da remoção da palha na comunidade microbiana do solo 78

CONCLUSÕES 81

REFERÊNCIAS 83

1. INTRODUÇÃO

A substituição de fontes de energia fósseis por renováveis tem sido buscada a fim de diversificar o suprimento de energia ao redor do mundo (HILL et al., 2006). Nesse sentido as culturas energéticas assumem um papel importante na produção de bioenergia, seja de forma direta (queima de biomassa) ou na provisão de matéria prima para a produção de biocombustíveis (*i.e.*, biodiesel, bioetanol, biogás, etc.).

O Brasil é o segundo maior produtor de bioetanol derivado de biomassa e, líder na produção de bioetanol derivado de cana-de-açúcar. O etanol proveniente da cana-de-açúcar é um biocombustível de elevada competitividade no mercado que ganha importância ambiental por reduzir as emissões de gases do efeito estufa (toneladas de CO_2 equivalente) e materiais particulados que causam a poluição do ar (MACEDO et al., 2008). A rápida expansão da produção de etanol prevista no Brasil têm levantado preocupações a respeito da sustentabilidade e os possíveis impactos gerados pelas mudanças de uso da terra (GOLDEMBERG et al., 2008) e as alterações no solo (CHERUBIN et al., 2016a; CHERUBIN et al., 2016b).

Atualmente, a cana-de-açúcar é produzida em aproximadamente 120 países, e sua produção mundial atingiu 1,7 bilhões de toneladas em 2011 (FAOSTAT, 2013). Ainda assim, a demanda mundial por biocombustíveis requer o aumento de produção, seja pela expansão de áreas de cultivo, seja pela maximização da produtividade da cultura. As projeções mostram que, somente no Brasil, seriam necessários mais 6,4 Mha de área até 2021 (GOLDEMBERG et al., 2014). Devido a razões ambientais e econômicas, existe um interesse mundial na mudança do uso de terras para cana-de-açúcar (GALDOS; CERRI; CERRI, 2009) que no Brasil é limitada pela qualidade do solo, por condições topográficas e climáticas favoráveis a cultura. Além disso, existe ainda a competição pelo uso da terra para a produção de alimento.

Diante disso, cada vez mais tem se pensado em utilizar a biomassa (palha) proveniente da colheita da cana-de-açúcar como matéria-prima para geração de bioenergia, tanto pela queima quanto pela produção de biocombustíveis. Além disso, a incipiente tecnologia do etanol celulósico de segunda geração (2G) também visa a palha da cana como matéria prima, o que contribuiria no futuro com o aumento da produtividade do setor de biocombustíveis. Dentre as diferentes biomassas lignocelulósicas, a palha da cana-de-açúcar se destaca como matéria prima para produção de etanol de segunda geração, uma vez que apresenta grande potencial - quantidade de biomassa - para produção do biocombustível e por isso muitos trabalhos têm estudado as vias que para este processo (SANTOS et al., 2012a).

A partir do Decreto Federal n.2.661/98 e da Lei Estadual n.11.241, que estabelecem o fim gradativo da queima da cana, uma grande quantidade de palha permanece depositada na superfície do solo (*i.e.*, 10-20 Mg ha^{-1}), de maneira que, pela grande quantidade de material gerado, poderia ser utilizada para a produção de bioenergia. Assim, a agroindústria do etanol pretender utilizar o máximo possível de palha proveniente da colheita como matéria prima para produção de energia.

No entanto, o acúmulo da palha sobre a superfície do solo favorece o maior conteúdo de matéria orgânica, a atividade microbiana e a estabilidade dos agregados, contribuindo para preservação do solo (GRAHAM; HAYNES, 2006), do ponto de vista agrícola e ambiental. E, ainda não se sabe plenamente quais os impactos da remoção da palha para o agrossistema da cana-de-açúcar, principalmente com relação aos atributos físicos, químicos e biológicos do solo.

Os atributos biológicos do solo são considerados mais sensíveis e apresentam uma resposta mais rápida e ampla comparado aos atributos físicos ou químicos (BASTIDA et al., 2008; SOUZA et al., 2012). Os organismos do solo são responsáveis por uma gama de processos essenciais para a manutenção da ciclagem de nutrientes e fertilidade do solo, atuando sobre a regulação da dinâmica da matéria orgânica do solo e a disponibilização de nutrientes para as plantas.

Os microrganismos do solo e os processos microbiológicos a eles associados são considerados altamente sensíveis a qualquer tipo de alteração ocasionada por mudanças de manejo ao qual o solo possa ser submetido. A cobertura de material orgânico, como a palha da cana-de-açúcar, serve como condicionador do bom funcionamento do solo pelo aumento da matéria orgânica do solo e da disponibilidade de nutrientes.

Indicadores como a estimativa da biomassa microbiana, a respiração basal da biomassa microbiana, a atividade enzimática, a diversidade catabólica, e a mineralização e a imobilização de nutrientes são alguns dos atributos que podem ser utilizados para avaliação de alterações no solo. Indicadores referentes à diversidade microbiana também tem sido considerados, pois estão intimamente relacionados à comunidade e suas funções no solo.

A biomassa microbiana do solo (BMS) é a fração viva da matéria orgânica do solo e contém, em média, entre 2 e 5% do carbono total e, entre 1 a 5% do nitrogênio total do solo. Além disso, a diversidade microbiana é considerada um parâmetro essencial para caracterização das estruturas e funções de comunidades microbianas em função das alterações no sistema (DINI-ANDREOTE et al., 2010).

Estudar a diversidade microbiana do solo e identificar os genes funcionais relacionados aos grupos microbianos de interesse pode trazer novos avanços para entender os efeitos da agricultura sobre a microbiota do solo. Os métodos moleculares baseados no uso de ácidos nucléicos (DNA e RNA) podem auxiliar na identificação e qualificação da biomassa microbiana do solo.

Contudo, ainda são poucos os estudos que mostram os efeitos de diferentes intensidades de remoção da palha sobre o solo nos parâmetro microbiológicos do solo (e.g., RACHID et al., 2016), portanto, existe a necessidade de mais pesquisas nesta área para se entender melhor tal relação.

Diante disto, nossa hipótese é que com o aumento da intensidade da remoção da palha da cana-de-açúcar para fins energéticos reduz a fração mais oxidável do C e altera a comunidade microbiana, podendo levar à redução dos estoques de C e N do solo ao longo do tempo.

Para testar essa hipótese foram conduzidos dois experimentos com diferentes intensidades de remoção de palha na principal região produtora de cana-de-açúcar do Brasil, com os seguintes objetivos: i) quantificação do C e N imobilizado na biomassa microbiana e do C mais facilmente oxidável, bem como suas contribuições nos teores totais destes elementos no solo; ii) quantificação dos principais grupos (Bacteria, Archaea, e Fungo) que compõem a comunidade microbiana do solo.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Bioenergia

As recentes constatações das mudanças climáticas tem encorajado a busca pelo desenvolvimento e utilização de energia renovável, tal como a bioenergia, em substituição as fontes não renováveis. Bioenergia é a energia proveniente de processos que possuem como fonte de matéria-prima biomassa de diferentes origens, como materiais vegetais. É esperado que em 2050 a bioenergia chegue a prover 30% da demanda global por energia (GUO et al., 2015). Na humanidade as primeiras fontes de energia utilizadas para atender as demandas domésticas eram predominantemente bioenergia e biocombustíveis (SHIMELMITZ et al., 2014). Porém, atualmente, os combustíveis fósseis atendem a mais de 80% da demanda energética mundial (IEA, 2015).

Entre os tipos de energia renovável, a bioenergia é promissora pela grande disponibilidade de biomassas, pelas tecnologias e infraestrutura de produção de biomassa já existentes, e pelo fato da biomassa ser a única matéria-prima para a geração de combustíveis líquidos (GUO et al., 2015). Os biocombustíveis se referem ao uso de biomassa vegetal e de seus produtos refinados que sofrem combustão para produção de calor e luz, e podem ser sólido (lenha), líquido (e. g. bioetanol) ou gasoso (e. g. biogás) (GUO et al., 2015). A demanda global por biocombustíveis líquidos têm aumentado ao longo dos anos mostrando uma tendência em usar combustíveis derivados de matéria-prima vegetal (SIMS et al., 2010). No entanto, a substituição da gasolina pelo etanol é proporcionalmente pequena, representando 40% da gasolina no Brasil e 3 % da gasolina no mundo (GOLDEMBERG, 2008; LORA; ANDRADE, 2009).

O Brasil é um país em desenvolvimento com abundantes recursos de biomassa, cuja agroindústria do milho, cana-de-açúcar, arroz, cassava, trigo e citrus gera coletivamente quase 600 milhões de toneladas de resíduos por ano (FERREIRA-LEITAO et al., 2010). Atualmente, no Brasil, a geração de energia a partir da biomassa é responsável por cerca de 8% da energia gerada e apresenta uma oferta potencial que pode aumentar ao longo do tempo, sendo o bagaço da cana-de-açúcar a principal biomassa empregada para tal fim (EPE, 2016). Em 2014, a bioeletricidade somou 44,7 TWh de energia, gerada pelo bagaço da cana (32,3 TWh), seguida da lixívia (10,5 TWh) e lenha (1,9 TWh), sendo que outras biomassas representam menos que 4% do insumo (EPE, 2016).

A biomassa de cana-de-açúcar ganha destaque por ser decorrente de produtos de enorme mercado (açúcar e etanol). Em 2015 a cana teve uma produção de 658,4 milhões de toneladas (Mt) com produção de 102,1 Mt de toneladas de ponta e palha, sendo que a participação destes materiais na geração de energia tende a ser mais significativa (EPE, 2016).

O desenvolvimento de tecnologias de segunda geração em resposta à crescente demanda por combustíveis líquidos têm se tornado significante por questões que envolvem segurança energética, conservação ambiental, mitigação de gases do efeito estufa, além dos aspectos sociais e geográficos (SIMS et al., 2010). Portanto, o aprimoramento de tecnologias de produção de combustíveis renováveis tais como o etanol, metanol, butanol e diesel, assim como, o biogás se tornam fundamentais e diferentes materiais, como açúcares, amido, lignocelulose, óleos vegetais entre outros, podem ser alvo para obtenção destes produtos (FERREIRA-LEITAO et al., 2010).

No Brasil o etanol de cana-de-açúcar começou a ser produzido pela necessidade de amenizar as crises do setor açucareiro e pela busca de reduzir a dependência do petróleo importado. No início do século XX iniciou a introdução do etanol na matriz energética brasileira. Em 1925, o Brasil teve sua primeira experiência com o etanol combustível. Em 1933, o governo de Getúlio Vargas criou o Instituto do Açúcar e do Álcool – IAA e, pela Lei nº 737, tornou obrigatória a mistura de etanol na gasolina. Em 1975, com o Decreto nº 76.593, foi instituído o Programa Nacional do Álcool (Pro-Álcool), com o objetivo de desenvolver a produção do etanol e diminuir a dependência da importação petróleo. A partir de 1980 a produção de nacional de etanol ganhou maiores dimensões.

O Brasil é o maior produtor de etanol de cana-de-açúcar do mundo e, possui a liderança na tecnologia de produção. A área colhida no Brasil de cana-de-açúcar destinada à atividade sucroalcooleira deve ser de 8,9 milhões de hectares (CONAB, 2016). A produção de cana-de-açúcar na safra 2016 terá um acréscimo de 3,8% em relação a 2015, em números absolutos isto representa uma produção de quase 690 mil toneladas de cana (CONAB, 2016). O estado de São Paulo, maior produtor nacional, terá um aumento de 14 mil toneladas. Com isso, a produção brasileira de etanol deve se manter acima de 27,5 bilhões de litros, dos quais, cerca de 60% concentra-se na Região Sudeste (CONAB, 2016). As projeções do governo brasileiro preveem que a produção de etanol deverá ter um crescimento de 140%, alcançando 65 bilhões de litros em 2050 (EPE, 2016).

Entretanto, para atender a demanda por bioenergia e biocombustíveis provenientes da cana será necessário o aumento da sua produção, que pode ser alcançado por meio do aumento da produtividade da cultura ou pela expansão da área de cultivo. As projeções

mostram que seriam necessários mais 6,4 milhões de hectares de área adicional para alcançar a produção de cana-de-açúcar estimada para 2021 (GOLDEMBERG et al., 2014).

A intensificação da mudança de uso da terra provocada pelas culturas energéticas tem implicações sobre as propriedades do solo e com consequências para o funcionamento do ecossistema. Os impactos na qualidade/saúde do solo associados à mudança de uso da terra pela expansão da cana-de-açúcar representam uma limitação para a continuação desta prática (CHERUBIN et al., 2016). Além disso, a expansão da produção de biocombustíveis esbarra na demanda da crescente população mundial por áreas para a produção de alimentos (CHARLES; GODFRAY, 2010).

Diante disso, pesquisas recentes tem estudado o etanol celulósico de segunda geração (E2G) como uma alternativa viável para aumentar a produtividade do setor de biocombustiveis (PEREIRA et al., 2015; KHATIWADA et al., 2016; PEREIRA et al., 2016). O E2G é produzido a partir de material lignocelulósico proveniente da biomassa, entre estes materiais estão palha de milho, de trigo e de arroz, resíduos de cana-de-açúcar, gramíneas, resíduos florestais entre outros. No Brasil, a cana-de-açúcar tem sido o foco dos principais estudos para a produção de E2G, por ser matéria-prima predominante na produção do etanol de primeira geração (MILANEZ et al., 2015).

Embora seja uma tecnologia incipiente, o E2G representa uma possibilidade viável de ser competitivo em termos econômico, em ganho energético e tem maior potencial para redução dos impactos ambientais comparado a outros combustíveis fósseis (DIAS et al., 2012). O ciclo de vida do E2G apresenta menores impactos ambientais, como a redução da emissão de gases do efeito estufa, e um balanço energético positivo quando comparado ao etanol de primeira geração e outros combustíveis tradicionalmente existentes (MORALES et al., 2015).

Nos EUA, foi criado um programa federal de apoio aos biocombustíveis celulósicos, denominado Renewable Fuel Standard (RFS), cujo objetivo principal é garantir o consumo mínimo de combustíveis renováveis. Este programa deu origem ao RFS2, que determina que devem ser consumidos não apenas biocombustíveis convencionais, mas também os celulósicos e o diesel de biomassa, propiciando a redução em 60% das emissões de gases do efeito estufa (GEE). Dessa forma, é estimado que em 2022 deverão ser consumidos sessenta bilhões de litros de biocombustíveis celulósicos neste país, mais de 10% do total de gasolina consumida atualmente (MILANEZ et al., 2015).

No Brasil, em 2011, o BNDES (Banco Nacional de Desenvolvimento Econômico e Social) e a FINEP (Financiadora de Estudos e Projetos) lançaram o PAISS (Plano Conjunto BNDES-Finep de Apoio à Inovação Tecnológica Industrial dos Setores Sucroenergéticos e Sucroquímico), que é um plano para fomentar novas iniciativas empresariais de P&D em temas relacionados à conversão da biomassa da cana-de-açúcar em E2G e outros produtos (BNDES, 2016). Por conta deste projeto, o Brasil tem atualmente capacidade instalada de produção de E2G de cerca de 140 milhões de litros por ano, que pode ser considerado pequeno quando comparado à demanda interna de combustíveis (MILANEZ et al., 2015). Apesar do apoio ao E2G, falta a complementação de outras políticas de incentivo à inovação para fortalecer a demanda, como ocorre nos EUA (NYKO, 2013).

As pesquisas relacionadas à tecnologia do E2G buscam estudar o potencial energético e comercial (custo-efetivo) do uso da biomassa residual proveniente dos agrossistemas como uma fonte renovável de produção de combustível (BANERJEE et al., 2010; AMORIM et al., 2011). Para a produção do E2G há uma variedade de possibilidades de matérias primas que podem ser usadas, assim, se faz necessário conhecer os impactos que podem ocorrer sobre a cultura selecionada, assim como, na qualidade/saúde do solo, com a retirada de uma importante fonte de matéria orgânica e nutrientes (ORR et al., 2015). Os efeitos do manejo de diversificadas culturas energéticas sobre as propriedades do solo têm sido estudados a fim de conhecer os impactos da produção de bioenergia sobre o funcionamento do solo (LIANG et al., 2012; CATTANEO et al., 2014; HEDENEC et al., 2014; ORR et al., 2015).

Muitos estudos têm mostrado os efeitos do manejo da cana-de-açúcar manual (sem palha) ou mecânico (com palha) sobre as propriedades do solo (BLAIR, 2000; GRAHAM; HAYNES, 2006; ROBERTSON; THORBURN, 2007b; PINHEIRO et al., 2010; CERRI et al., 2011; SOUZA et al., 2012; THORBURN et al., 2012a; RACHID et al., 2013). Estes estudos demonstram como a conversão do manejo sem palha para o manejo com palha pode influenciar no aumento do estoque de C, nas frações de C, na estabilidade dos agregados, na ciclagem de C e N, no incremento da biomassa microbiana do solo, podendo também alterar a estrutura de comunidades bacterianas, indicando que o sistema de cultivo mais sustentável pode ser aquele com a mínima retenção de palha.

2.2 Palha da cana-de-açúcar e atributos do solo

A cana-de-açúcar (*Saccharum* ssp. L.) é uma planta perene originária da Ásia e é amplamente adaptada e cultivada para climas tropicais e subtropicais do planeta. É pertencente ao grupo de plantas denominadas Angiospermae ou Divisão Magnoliphyta. A cana-de açúcar pertence ao clado das monocotiledôneas (monocots), do grupo monofilético das comelinídeas (commelinidis) da Ordem Poales, Família *Poaceae* e Gênero *Saccharum*.

No Brasil, a colheita da cana-de-açúcar era tradicionalmente precedida pela queima das folhas a fim de facilitar a colheita manual, deixando o solo praticamente descoberto. Atualmente a colheita vem sendo realizada de forma mecanizada, ou seja, não ocorre a queima e os resíduos culturais são deixados na superfície do solo formando uma cobertura de palha. Com o Decreto Federal n.2.661/98, que estabelece o fim gradativo da queima da cana-de-açúcar, o aumento da quantidade de palha remanescente na superfície do solo, que pode utilizada como matéria prima, pode favorecer ainda mais a produção de bioenergia proveniente da palha. Como resultado de legislações na região Centro-Sul, mais de 90% da cana já é colhida de forma mecanizada.

A palha deixada sobre o solo após a colheita apresenta benefícios como o sequestro de carbono (C) e a ciclagem de nutrientes pelo aporte de matéria seca adicionada no solo anualmente (FORTES et al., 2012). Entre outros benefícios do sistema de colheita sem queima estão: melhoria nos atributos físicos do solo, maior infiltração de água no solo, redução da densidade do solo e, além disso, a liberação gradual pela decomposição da palha favorece os processos de renovação do canavial (SIGNOR et al., 2014).

A palha da cana-de-açúcar apresenta concentração variável de nutrientes que retornam para o solo: 0,46-0,54% de nitrogênio (N); 0,47-0,66% de potássio (K); 0,09-0,17% de magnésio (Mg); 0,18-0,41% de cálcio (Ca); 0,06-0,17% de enxofre (S); 0,05-0,09% de fósforo (P) (ROBERTSON; THORBURN, 2007a; FORTES et al., 2012).

A dinâmica de C e N no solo é predominantemente influenciada pela massa de resíduo cultural que retorna ao solo após a colheita e pela taxa de decomposição deste resíduo, sendo estes fatores relacionados aos conteúdos de C e N e sua relação C:N (ROBERTSON; THORBURN, 2007a). O conteúdo mineral da palha da cana representa entre 10 a 80 g kg^{-1} sendo 35-45% de C e relação C:N média de 100:1 (FORTES et al., 2012). Com relação aos carboidratos estruturais, a palha é constituída em média por 7-20% de lignina, 45-48% de celulose e 26-31% de hemicelulose, que variam de acordo com a variedade da planta e as práticas de manejo da cultura (FORTES et al., 2012).

A manutenção dos resíduos culturais da cana-de-açúcar pode propiciar a redução das perdas de solo por erosão, assim como controlar a perda de água e de matéria orgânica e nutrientes, que são essenciais para a produção agrícola (DA SILVA et al., 2012). A cobertura de palha atua como condicionador do bom funcionamento do solo devido a manutenção da umidade, controle de temperatura, controle de erosão e infiltração de água, compactação e, principalmente manutenção e acúmulo de matéria orgânica, entre outros (WOOD, 1991). A manutenção da palha da cana no solo ainda pode contribuir para o aumento da matéria orgânica do solo e da disponibilidade de nutrientes, além de melhorar a umidade e aumentar o pH do solo, levando à melhora nas propriedades físico-químicas do solo (LIAO et al., 2014).

A manutenção da palha sobre o solo resulta em maior acumulo de C total no solo comparado ao sistema de manejo sem palha, sendo que a taxa de acúmulo é maior em solos argilosos (2,0 Mg ha^{-1} ano^{-1}) em relação a solos arenosos (0,7 Mg ha^{-1} ano^{-1}), este efeito favorece o aumento do estoque de C do solo (CERRI et al., 2011). O aumento do estoque de C do solo em função da retenção de palha está relacionado com a entrada significativa de material orgânico no solo, que corresponde a um conteúdo entre 5-10 Mg de C deixado sobre a superfície do solo (CERRI et al., 2010). Na Austrália o conteúdo de C orgânico no solo aumentou em 20% na camada 0-10 cm do solo em áreas com manejo de palha comparado ao manejo sem palha (WOOD, 1991). O retorno dos resíduos culturais para o solo seja de maneira incorporada ou colocada na superfície do solo, favorecem o aumento do C orgânico do solo (LADD et al., 1994). A correlação positiva entre a manutenção da palha sobre o solo e o conteúdo de matéria orgânica no solo pode ter influência de fatores como o tempo de adoção do manejo e a textura do solo (CERRI et al., 2011), além disso, as frações mais oxidáveis de C do solo, tais como, o C lábil e C microbiano podem ser mais responsivos às alterações de manejo da palha dentro de um curto período de tempo (GALDOS et al., 2009).

A manutenção da palha da cana resulta em um aumento na fração do C lábil comparado ao manejo sem palha, indicando que a palha favorece a liberação de C lábil mais ativo (BLAIR, 2000). No Brasil em solo arenoso a retenção da palha de cana ao longo de 12 meses não apresentou efeito sobre o carbono total e mostrou favorecer incremento de carbono lábil comparado ao solo descoberto (BLAIR et al., 1998), da mesma forma, na Austrália o solo sem retenção de palha apresentou maiores perdas de carbono total e carbono lábil comparado ao manejo com palha (BLAIR et al., 1998). Em um Vertissolo na África do Sul, o cultivo de cana-de-açúcar com retenção da palha comparada ao sistema sem palha mostrou ser mais efetivo em aumentar o conteúdo de matéria orgânica no solo, sobretudo na camada 0-10 cm, contribuindo também para o aumento da concentração nas frações mais

lábeis da matéria orgânica até uma profundidade de 30 cm (GRAHAM; HAYNES; MEYER., 2002b).

A retenção da palha da cana-de-açúcar sobre o solo tem influência sobre as propriedades microbiológicas do solo, de maneira que a biomassa microbiana, a população de nematoides, a atividade enzimática e microbiana, e a estrutura e diversidade da comunidade microbiana apresentam significativa resposta em função do manejo da palha (GRAHAM; HAYNES, 2006; STIRLING et al., 2010; RACHID et al., 2012; SOUZA et al., 2012).

A prática intensiva da monocultura da cana-de-açúcar por períodos extensivos (mais de 20 anos) causa uma redução de 34 a 60% na biomassa microbiana do solo comparado com áreas de cultivo de cana com menos de dois anos, este declínio na biomassa microbiana do solo tem influência direta na disponibilidade de nutrientes, no balanço das poluções de fungos e bactérias e também na estrutura do solo (HOLT; MAYER, 1998). Por outro lado, a incorporação ou retenção de resíduos culturais no solo favorecem o incremento da biomassa microbiana C do solo (LADD et al., 1994). Em solo com 8 anos de adoção da prática de manejo que mantém a palha no campo favoreceu o aumento do carbono microbiano (2,5 vezes) e o carbono da matéria orgânica particulada (3,8 vezes), sendo este aumento foi proporcionalmente maior do que o que ocorreu no conteúdo de C total (GALDOS; CERRI; CERRI, 2009).

O incremento do C microbiano como resultado da manutenção da palha de cana, comparado à sua remoção, sobre o solo foi encontrado em diferentes tipos de solo, sendo que a palha propicia a predominância de carbono imobilizado na biomassa microbiana sobretudo nos primeiros 5 cm superficiais do solo (GRAHAM; HAYNES; MEYER, 2002b; GRAHAM; HAYNES, 2006; SOUZA et al., 2012). A manutenção da palha também favorece o aumento do N microbiano, indicando que a imobilização de N é favorecida sobre esta condição (GRAHAM; HAYNES; MEYER, 2002b; SOUZA et al., 2012). A adoção (5 a 7 anos) do sistema de cultivo com retenção de palha propicia o aumento da população de nematoides de vida-livre, favorecendo a proporção de nematoides fungívoros em relação aos nematoides bacteriófagos, indicando uma melhora na propriedade biológica do solo (STIRLING et al., 2010).

Em resposta à ausência de material orgânico a atividade microbiana decai enquanto que o quociente metabólico aumenta, refletindo uma condição de estresse (GRAHAM; HAYNES, 2006). O sistema de manejo com manutenção da palha da cana favorece o aumento significativo da fração de C microbiano no C total (quociente microbiano), indicando

maior disponibilidade de substratos para os microrganismos, com influência no aumento da biomassa microbiana (SOUZA et al., 2012).

A manutenção da palha de cana-de-açúcar tem efeitos positivos na matéria orgânica do solo e consequentemente nas comunidades microbianas do solo, sobretudo em camadas mais superficiais (LIAO et al., 2014; PAREDES et al., 2015). No Brasil, em um Latossolo o manejo da cana com retenção de palha tem menor impacto na estrutura de comunidades microbianas do solo, sobretudo na diversidade bacteriana (RACHID et al., 2013), o mesmo foi observado em um solo argiloso na China, em que a manutenção da palha propiciou ainda o aumento no número total de colônias de bactérias, fungos e actinomicetos em 2,4, 1,8 e 2,7 vezes comparado ao número de colônias existentes em um sistema de plantio convencional de cana (LIAO et al., 2014). Um recente estudo mostrou que a diferentes quantidades de aporte de palha não teve efeito significativo sobre a comunidade bacteriana do solo, no entanto, a comunidade de fungos mostrou ser mais sensível ao impacto, apresentando uma estrutura diferente em função do manejo de palha (RACHID et al., 2016).

A melhora na qualidade da matéria orgânica em função da retenção da palha no solo pode influenciar propriedades e processos do solo, como a melhora nos agregados e na estrutura do solo, no fornecimento de N para as plantas e na atividade microbiana do solo (GRAHAM; HAYNES; MEYER, 2002b). A presença da palha propicia melhoras no funcionamento do solo, e em longo prazo pode contribuir significativamente para um modelo de sistema de cultivo cada vez mais sustentável (GRAHAM; HAYNES, 2006).

2.3 Carbono do solo

A matéria orgânica do solo (MOS) e seus diferentes compartimentos tem papel fundamental em otimizar a produção agrícola, minimizar os impactos ambientais e melhorar a qualidade do solo (FREIXO et al., 2002), além disso, tem importante relação com sistemas agrícolas sustentáveis (JOHNSTON et al., 2009). A MOS é um material complexo e em constante transformação formada por diversos tipos de materiais orgânicos que ao serem depositados no solo são transformados na sua superfície ou incorporados no perfil do solo (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006). A porção viva da matéria orgânica varia de 1 a 5% da MOS, dessa fração, aproximadamente 80% é composta por microrganismos, os responsáveis por grande parte da atividade biológica que ocorre no solo (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006).

As mudanças de uso da terra como a conversão de ecossistemas naturais para agroecossistemas tem o potencial de alterar a dinâmica da matéria orgânica do solo (FEIGL et

al., 1995). Alterações na MOS pode causar influencias nas propriedades do solo, tais como na capacidade de troca catiônica dos solos (PAVAN et al., 1985) e na estabilidade dos agregados e na matéria orgânica particulada (LEHMANN et al., 2001).

Entre os fatores que afetam o acúmulo e a qualidade da matéria orgânica do solo estão a textura do solo e a mineralogia, atribuído ao efeito de capacidade de retenção de água no solo, as condições climáticas, como umidade e temperatura (BUSCHIAZZO et al., 2004), as frações de micro e macroagregados no solo, pela proteção física que conferem (SIX; PAUSTIAN, 2014) e os tipos de sistema de cultivo e manejo do solo (AMADO et al., 2006).

O manejo do solo pode causar a liberação do carbono orgânico do solo para atmosfera na forma de CO_2, por meio da mineralização da MOS, contribuindo com os efeitos adversos da emissão de gases do efeito estufa (LAL, 1997). O cultivo convencional com práticas de gradagem e aração, por exemplo, levam à exposição da matéria orgânica protegida nos agregados à ação microbiana, acelerando a oxidação do C orgânico e sua perda na forma de CO_2, sendo que o cultivo reduzido pode agir como importante mecanismo de proteção da MOS (BEARE et al., 1994; BOSSUYT et al., 2002), reduzindo a degradação do solo e podendo aumentar o acúmulo de C no solo pelo sequestro de carbono como resultado da entrada de material orgânico no solo (SIX et al., 2002).

A quantidade de MOS depende da entrada de material orgânico, da sua taxa de decomposição e da taxa de mineralização da matéria orgânica existente no solo (JOHNSTON et al., 2009). A incorporação de grandes quantidades de material orgânico no solo pelo retorno de resíduos culturais da cana-de-açúcar aumenta proporcionalmente os compartimentos mais lábeis da matéria orgânica do solo em relação ao conteúdo total da MOS (GRAHAM; HAYNES; MEYER, 2002a).

De acordo com Duxbury et al. (1989), os compartimentos da MOS são divididos em:
i) compartimento ativo, ou lábil – constituído por componentes facilmente oxidáveis;
ii) compartimento lentamente oxidável – ligado à formação dos macroagregados;
iii) compartimento muito lentamente oxidável – ligado à formação de microagregados, que são estáveis em água; e
iv) compartimento passivo, ou recalcitrante – ligado ao C associado às partículas primárias do solo, onde o C é reduzido a formas elementares.

A MOS é o maior estoque de C da biosfera continental, com aproximadamente 1550 Pg, que vem se acumulando no solo ao longo de milhares de ano (LAL, 2003). O carbono (C) armazenado no solo representa uma quantidade três vezes maior em relação ao

C presente na atmosfera (LAL, 2008), assim, o solo exerce importante papel no ciclo do C. O solo é um reservatório heterogêneo de C, que difere em origem, composição e dinâmica (CARTER, 2001), de maneira que pode agir como fonte ou dreno de dióxido de carbono (CO_2) atmosférico. Em agroecossistemas, a origem do C orgânico do solo pode ser proveniente da vegetação nativa previamente existente ou do remanescente da cultura e do processo de decomposição dos resíduos culturais (BERNOUX et al., 1998).

O carbono do solo é o atributo mais estudado em experimentos de longa duração e é apontado como o indicador de maior importância de qualidade do solo e de sustentabilidade agrícola, devido ao seu impacto nos outros parâmetros físicos, químicos e biológicos (REEVES, 1997). O C do solo serve como fonte de energia para os processos microbianos, respiração do solo e estoque de nutrientes (REEVES, 1997).

A mudança de uso da terra para produção agrícola tem reduzido o estoque de C no solo, aumentando a liberação do C para a atmosfera. No entanto, há possibilidades de evitar a perda do C por meio do adequado manejo do solo (BATJES; SOMBROEK, 1997). A retenção de resíduos culturais é favorável ao aumento das concentrações de C no solo, apesar disso, a mudança nestes teores depende das variações locais influenciadas por fatores como tipo de solo, clima, prática de manejo e fauna do solo (THORBURN et al., 2012b).

A intensificação da expansão da cana-de-açúcar tem resultado em perdas do estoque de C do solo, seja pela conversão de pastos ou de ecossistemas nativos (FARGIONE et al., 2008; MELLO et al., 2014). Após 20 anos de cultivo de cana-de-açúcar foram encontradas perdas de 40 e 35% dos estoques de C e N do solo, resultando em emissão de C em 1,3 Mg ha^{-1} ano^{-1} causada pela respiração da MOS (FRANCO et al., 2015). Porém, a substituição da colheita realizada após a queima das folhas pela colheita sem queima favorece o aumento do estoque de C no solo pela redução das emissão de gases do efeito estufa (FELLER; BERNOUX, 2008). O efeito da colheita da cana-de-açúcar sem queima mostra ser eficiente no aumento da quantidade de C no solo a longo prazo (GALDOS; CERRI; CERRI, 2009; CANELLAS et al., 2010).

A prática de cultivo mínimo da cana-de-açúcar (plantio direto e manutenção dos resíduos culturais sobre a superfície do solo) por um longo período de tempo pode permitir a recuperação do carbono orgânico do solo, de maneira que o efeito do cultivo sobre os estoques de C e N do dependem da entrada de matéria orgânica no solo e da estabilização da MOS (ANAYA; HUBER-SANNWALD, 2015).

2.4 Fração oxidável do C do solo

Uma maneira de estudar a dinâmica da matéria orgânica no solo é usar a facilidade de oxidação da matéria orgânica (BLAIR et al., 1995), este estudo se baseia na suposição de que a ação oxidativa do permanganato de potássio sobre a matéria orgânica do solo em condições neutras seja comparável à ação das enzimas microbianas do solo. Assim, o carbono que é oxidado é considerado como fração lábil do carbono orgânico do solo e as alterações que ocorrem nesta fração podem ser usadas para compreender a dinâmica do C no solo (CONTEH et al., 1997).

Embora a fração de C lábil no solo seja definida por diferentes pontos de vistas, existe um consenso entre os autores de que o C lábil é a fração da matéria orgânica do solo mais sensível à alterações de manejo do solo (CONTEH et al., 1997). Alguns autores consideram que a fração do carbono lábil refere-se aos componentes da matéria orgânica do solo que pode ser extraída pela água (GARCIA et al., 1992), enquanto que outros consideram que o carbono da biomassa microbiana representa a fração de carbono lábil (DEGENS; SPARLING, 1996). Apesar disso, a fração de C lábil pode ser considerada como sendo o componente da matéria orgânica que é prontamente oxidável por um agente oxidante moderado (CONTEH et al., 1997).

O efeito do manejo agrícola no solo sobre a matéria orgânica do solo é mais evidente e prévio na fração de C mais lábil comparado ao C total, em que a perda ou o incremento na quantidade C_L mostra ser mais rápido do que no conteúdo de C_T (WHITBREAD et al., 1998; BLAIR et al., 2006). Da mesma forma, a quantidade e a atividade da comunidade microbiana no solo também é mais sensível às alterações de manejo no solo em relação ao conteúdo de C total (GRAHAM et al., 2006).

A fração do carbono lábil é considerada como os compostos orgânicos mais prontamente mineralizáveis pelos microrganismos do solo, sendo considerada sensível indicador da dinâmica do C no sistema, refletindo a qualidade do sistema em função do manejo (BLAIR et al., 1995).

A manutenção das frações lábeis do estoque de carbono é importante, pois, este compartimento contribui para sustentar os sistemas de produção (BLAIR, 2000). A fração de carbono lábil prove energia para os organismos do solo e estimula a atividade dos mesmos, contribuindo para a ciclagem de nutrientes e para a síntese de substânicas húmicas que afetam a fertilidade do solo (BLAIR, 2000).

2.5 Biomassa microbiana e parâmetros microbiológicos do solo

Os atributos biológicos do solo, sobretudo os microrganismos do solo e os processos microbiológicos, são considerados altamente sensíveis devido à capacidade de responder rapidamente às mudanças naturais, de uso e manejo do solo em comparação aos atributos físicos e químicos (BASTIDA et al., 2008; KASCHUK et al., 2011; SOUZA et al., 2012).

Entre os parâmetros biológicos do solo que podem ser usados como instrumentos de predição dos efeitos de uso e manejo do solo estão os indicadores microbiológicos, tais como a biomassa microbiana, respiração do solo, quociente metabólico (qCO_2), grupos funcionais microbianos, e o uso de técnicas moleculares tais como PCR-DGGE e o rastreamento de fosfolipídios (PLFA) para o estudar a diversidade de grupos funcionais (CARDOSO et al., 2013).

A biomassa microbiana do solo é definida como a fração da matéria orgânica constituída por organismos vivos com volume menor que 5×10^3 mm^3 e engloba, principalmente, os organismos dos Reinos Archaea, Bacteria, Fungi e Protoctista, incluindo ainda alguns organismos do Reino Animalia, tais como os nematoides (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006). A biomassa microbiana do solo atua nos processos de decomposição da matéria orgânica, ciclagem de nutrientes, degradação de compostos xenobióticos e poluentes, estruturação do solo, armazenamento de matéria orgânica, entre outros, sendo considerado um parâmetro de diagnóstico de alterações no solo (HUNGRIA et al., 2009).

A biomassa microbiana funciona como um reservatório de nutrientes para as plantas, pois, pertence ao componente lábil da matéria orgânica do solo (BALOTA et al., 1998). O tempo de reciclagem da biomassa microbiana é da ordem de 0,2 a 0,6 anos, proporcionando dessa forma um fluxo de C e nutrientes no solo, esta taxa de reciclagem é em média 200 vezes mais rápida comparada a biomassa vegetal, evidenciando a importância dos processos microbianos do solo no fluxo de C (energia) e dos elementos absorvidos pelas plantas e animais nos ecossistemas (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006). Em solos tropicais a ciclagem de nutrientes e da biomassa microbiana ocorre mais rapidamente do que em regiões temperadas (HUNGRIA et al., 2009).

Por ser reservatório lábil de nutrientes que se recicla rapidamente e por representar uma pequena parte do C e N do solo e atuar diretamente no ciclo destes elementos, a biomassa microbiana do solo é considerado bom indicador prévio de mudanças na matéria orgânica total do solo, respondendo às mudanças nos padrões de entrada e taxas de

decomposição da MOS antes que alterações no C e N total sejam detectadas (POWLSON et al., 1987a; BALOTA et al., 1998; HUNGRIA et al., 2009).

O carbono e o nitrogênio proveniente das células da biomassa microbiana podem ser utilizados para estimar a biomassa microbiana do solo (BROOKES et al., 1985b; VANCE et al., 1987a). A análise do carbono microbiano se tornou um método padrão para caracterização do solo (WU et al., 1990), pois, o carbono imobilizado na biomassa microbiana é um parâmetro que responde prontamente às alterações ambientais (FRANCHINI et al., 2007; HUNGRIA et al., 2009). O nitrogênio da biomassa microbiana, embora represente pequena fração da biomassa microbiana (1 a 5%) é associada a reserva lábil e a ciclagem desse nutriente, assim como, a decomposição do material orgânico e o fluxo de energia (JENKINSON; LADD, 1981).

A biomassa microbiana do solo é influenciada pela deposição de resíduo vegetal na superfície do solo, sendo uma porcentagem do C e N microbiano formada a partir da decomposição deste material (LADD et al., 1981).

A relação C:N da biomassa microbiana descreve a estrutura e as condições da comunidade microbiana (MOORE et al., 2000). Esta relação indica o potencial de mineralização do N e, de maneira genérica, refletem as alterações que ocorrem na composição microbiana, quando tal relação apresenta valores acima de 10 e, isto indica a predominância de fungo, e abaixo de 10 indica a predominância de bactérias (LI; ALLEN, H. L; WOLLUM, 2004). A biomassa microbiana, a taxa de mineralização do N, e a atividade microbiana sofrem influência das características e dos compostos do solo (relação C:N, C e N dissolvido), da temperatura e umidade do solo (HERAI et al., 2006) e dos diferentes usos do solo (GOVAERTS et al., 2007; HUNGRIA et al., 2009).

A relação carbono da biomassa microbiana: carbono total (CBM:C_T) é denominada de quociente microbiano e reflete o quanto de C orgânico está imobilizado na biomassa microbiana, mostrando o potencial de reserva desse elemento no solo (ANDERSON; DOMSCH, 1993). As alterações na relação CBM:C_T refletem o padrão de entrada de matéria orgânica no solo, a eficiência na conversão do carbono microbiano e a estabilização do carbono pela fração mineral do solo, indicando se ocorre perdas de carbono do solo (SPARLING, 1992). Esta relação fornece indício sobre a diminuição ou acumulo de carbono no solo (BALOTA et al., 1998). A biomassa microbiana representa de 1 a 5% do C total do solo (SPARLING, 1992). No entanto, a relação CBM:C_T pode ter uma variação de 0,2 a 7,0% (POWLSON et al., 1987a; ANDERSON; DOMSCH, 1989; ANDERSON; DOMSCH, 1993),

sendo tal variação relacionada com os diferentes tipos, textura e com as formas de uso e manejo do solo (POWLSON et al., 1987a; BALOTA et al., 1998).

A relação nitrogênio da biomassa microbiana:nitrogênio total (NBM:N_T) também indica a dinâmica da matéria orgânica do solo, representando a quantidade e disponibilidade deste nutriente no substrato (POWLSON et al., 1987a). Esta relação representa a quantidade de nitrogênio que está sendo imobilizada pela biomassa do solo (SPARLING, 1992). Os aumentos dessas taxas podem ser transientes (ANDERSON; DOMSCH, 1989). A biomassa microbiana contribui para o fluxo de N no solo, pois parte do N mineralizado no solo é proveniente da biomassa microbiana N de organismos que morreram, e uma fração do que foi mineralizado por ser re-imobilizado para formar a nova biomassa (MARUMOTO et al., 1982). Estas relações entre os atributos do solo têm sido usadas como parâmetros no estudo de processos de ciclagem e transformação de nutrientes (BROOKES et al., 1985b; ANDERSON; DOMSCH, 1993), podendo ser utilizadas para indicar padrões de alterações no solo. Tais relações são influenciadas pelo tipo de vegetação, teor e mineralogia da fração argila (SPARLING, 1992).

A respiração do solo representa o consumo de O_2 e a emissão de CO_2, pela biomassa microbiana do solo, esta medida mostra quanto a biomassa microbiana é eficiente em utilizar os recursos do sistema, ou seja, quanto menor é a quantidade de CO_2 perdida pelo processo de respiração, representa uma maior proporção de C incorporado na biomassa microbiana (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006). A respiração do solo é um dos parâmetros mais utilizados para quantificar a atividade microbiana do solo

Os valores de respiração do solo juntamente com o conteúdo de biomassa microbiana fornecem a quantidade de CO_2 evoluída por unidade de C microbiano, denominada o quociente metabólico (qCO_2). Este índice indica a eficiência da biomassa microbiana em utilizar o C disponível para mineralização (BASTIDA et al., 2008). E, este parâmetro pode ser considerado como índice da atividade microbiana (SUGIHARA et al., 2010). Assim, é um parâmetro que tem sido utilizado como bom indicador de alterações que ocorrem no solo (BALOTA et al., 1998).

As variáveis microbianas variam significativamente em função do uso da terra, sendo que de maneira geral a biomassa microbiana e sua atividade são maiores em áreas de vegetação nativa do que em áreas de cultivo agrícola, como em cultivo convencional de cana-de-açúcar (DA SILVA, D. K. A. et al., 2012). Apesar da dinâmica e da função da comunidade microbiana em solos agrícolas ser significativamente alterada pela conversão do ecossistema

original, o manejo dos resíduos culturais (adição de palha) pode favorecer o incremento da biomassa microbiana e aumentar a atividade enzimática (BRACKIN et al., 2013).

Em cultivo da cana-de-açúcar, a resposta de parâmetros microbiológicos, tais como biomassa microbiana, respiração basal e quociente metabólico também apresentam variação de acordo com o manejo da palha e a distância da linha da cana, apresentando maiores valores na linha do que na entre-linha, com efeito pronunciado quando ocorre deposição de palha no solo (GRAHAM; HAYNES, 2006).

2.6 Estudo da comunidade microbiana do solo

A biodiversidade encontrada no ecossistema solo é constituída, principalmente, por organismos dos Domínios Archaea e Bacteria (TORSVIK; OVREAS, 2002). Estima-se que um grama de solo pode conter até 10 bilhões de microrganismos em milhares de espécies, sendo que apenas 1% dos microrganismos pode ser observado ao microscópio, cultivados e caracterizados (TORSVIK; OVREAS, 2002). Dentre os microrganismos do solo, as bactérias são o grupo mais estudado (SILVA et al., 2012) e, representam aproximadamente 10^{10} a 10^{11} células (HORNER-DEVINE et al., 2003) e entre 6.000 e 50.000 espécies (CURTIS et al., 2002) por grama de solo.

A rizosfera - que é definida como a região de interface entre o solo e as raízes - é uma área biologicamente ativa, onde as raízes das plantas e os microrganismos interagem (HINSINGER et al., 2009). Nessa região, as funções desempenhadas pela microbiota do solo têm efeito direto e indireto sobre a vigor e crescimento das plantas, incidência de doenças, processos biogeoquímicos, decomposição da matéria orgânica e na sustentabilidade da produtividade do solo. Eles podem ainda determinar a resistência e a resiliência do agroecossistema em resposta as perturbações abióticas e ao estresse que ocorrem no ambiente (BRUSSAARD; DE RUITER; BROWN, 2007), seja natural ou antropizado.

O padrão espacial da microbiota do solo está frequentemente associado com as espécies de plantas, riqueza e biomassa presente no ambiente (HOOPER et al., 2000). Outro fator importante para caracterização das estruturas das comunidades do solo, são às alterações que ocorrem no ambiente (PAUNGFOO-LONHIENNE et al., 2015), principalmente associadas as práticas de manejo agrícola como a rotação de culturas, fertilização, irrigação, que promovem alterações nas características físico-química do solo (SINGH et al., 2011), e podem afetar os microrganismos do solo (JIMENEZ-BUENO et al., 2016).

A grande diversidade de microrganismos propiciou o desenvolvimento de métodos independentes de cultivo, empregando ferramentas poderosas baseadas na análise do DNA total extraído da microbiota do solo. Com as técnicas moleculares obtêm-se informações sobre a diversidade genética total de uma determinada comunidade bacteriana presente no solo (TORSVIK et al., 1998). Essas técnicas podem contribuir para buscar a diversidade funcional de comunidades microbianas envolvidas nos principais processos do solo, tais como transformação de nutrientes, crescimento das plantas, desnitrificação, entre outros, e assim entender como estes influenciam no funcionamento dos sistemas agrícolas (GILLER et al., 1997; BRAKER; TIEDJE, 2003).

Dentre as técnicas moleculares, a PCR em Tempo Real (*Real-time polymerase chain reaction*) tem sido muito utilizada em amostras ambientais pois estima o número de cópias de um gene de interesse (HIGUCHI et al., 1993; DOLKEN et al., 1998; NAVARRETE et al., 2015). Essa técnica é considerada precisa e de maior reprodutibilidade (HIGUCHI et al., 1993). Por meio da qPCR é possível a quantificação de genes taxonômicos ou funcionais presente numa comunidade, permitindo ainda a quantificação de espécies individuais (SMITH; OSBORN, 2009).

O estudo da diversidade microbiana do solo e a identificação dos genes funcionais relacionados aos grupos microbianos de interesse podem trazer novos avanços na compreensão de como as células microbianas são reguladas sob condições variáveis no ambiente (TORSVIK; OVREAS, 2002).

Os microrganismos associados às plantas exercem importantes papéis para saúde, desenvolvimento e crescimento das plantas (HARDOIM et al., 2008). Sendo que aproximadamente 90% de todas as Unidades Taxonômicas Operacionais (UTO) de bactérias (24000) e fungos (1200) que estão associadas a diferentes compartimentos da planta cana-de-açúcar são provenientes de comunidades microbianas originárias do solo nativo ao redor das plantas que colonizam as partes aéreas em padrões distintos e representam diferentes porcentagens da abundância e riqueza microbiana total (DE SOUZA et al., 2016). Assim, a comunidade microbiana do solo e sua atividade é um importante componente que deve ser estudado pelos benefícios que promovem ao sistema de produção da cana-de-açúcar (OLIVEIRA et al., 2009; PISA et al., 2011; LIAO et al., 2014).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Localização e caracterização da área de estudo

A seleção das áreas foi realizada para atender um estudo mais abrangente da qual este trabalho faz parte e, tem como objetivo principal a tomada de decisão sobre a quantidade de palha a ser removida para a produção de etanol celulósico e bioenergia em relação à quantidade que deve ser mantida no campo para manter a qualidade e as funções do solo, assim como, a produtividade da cultura.

As localizações geográficas e as características climáticas das áreas estão apresentadas na Tabela 1. Os dados de precipitação e temperaturas médias máximas e mínimas do período em que se realizou o experimento encontram-se na Figura 1.

Tabela 1 - Localização geográfica e classificação climática das áreas selecionadas para a instalação dos experimentos

Município	Unidade	Solo*[1]	Localização geográfica	Características climáticas		
				Tipo*[2]	T. média (° C)	Precipitação (mm/Ano)
Capivari (São Paulo)	Usina Bom Retiro (BR)	Latossolo Vermelho distrófico típico	22º 59’ 22” S, 47º 30’ 28” O	Cwa: Subtropical úmido, Inverno seco e Verão quente	20-21	1200-1300
Valparaíso (São Paulo)	Usina Univalem (UV)	Argissolo Vermelho-Amarelo distrófico	21º 13’ 40” S, 50º 52’ 04” O	Aw: Tropical úmido, Inverno seco e Verão quente	22-23	1000-1100

*[1] Segundo Sistema Brasileiro de Classificação dos solos. *[2] Classificação climática segundo Köppen

Na Usina Bom Retiro a precipitação mensal, no período em que o experimento foi realizado, variou de 9,2 mm - observado no mês de junho a 200,8 mm - observado no mês de setembro, com uma precipitação acumulada de 1253,2 mm em 2015. A temperatura média mínima variou de 10,3 a 20,8 ºC e a máxima de 25,5 a 34,0 °C. Na Usina Univalem a precipitação mensal teve uma variação de 10,2 mm - observado no mês de junho a 236,2 mm - observado no mês de fevereiro, com acumulado de 1696,2 mm em 2015. A temperatura média mínima teve uma variação de 7,1 a 21,6 ºC, e a máxima foi de 12,3 a 35,3 ºC.

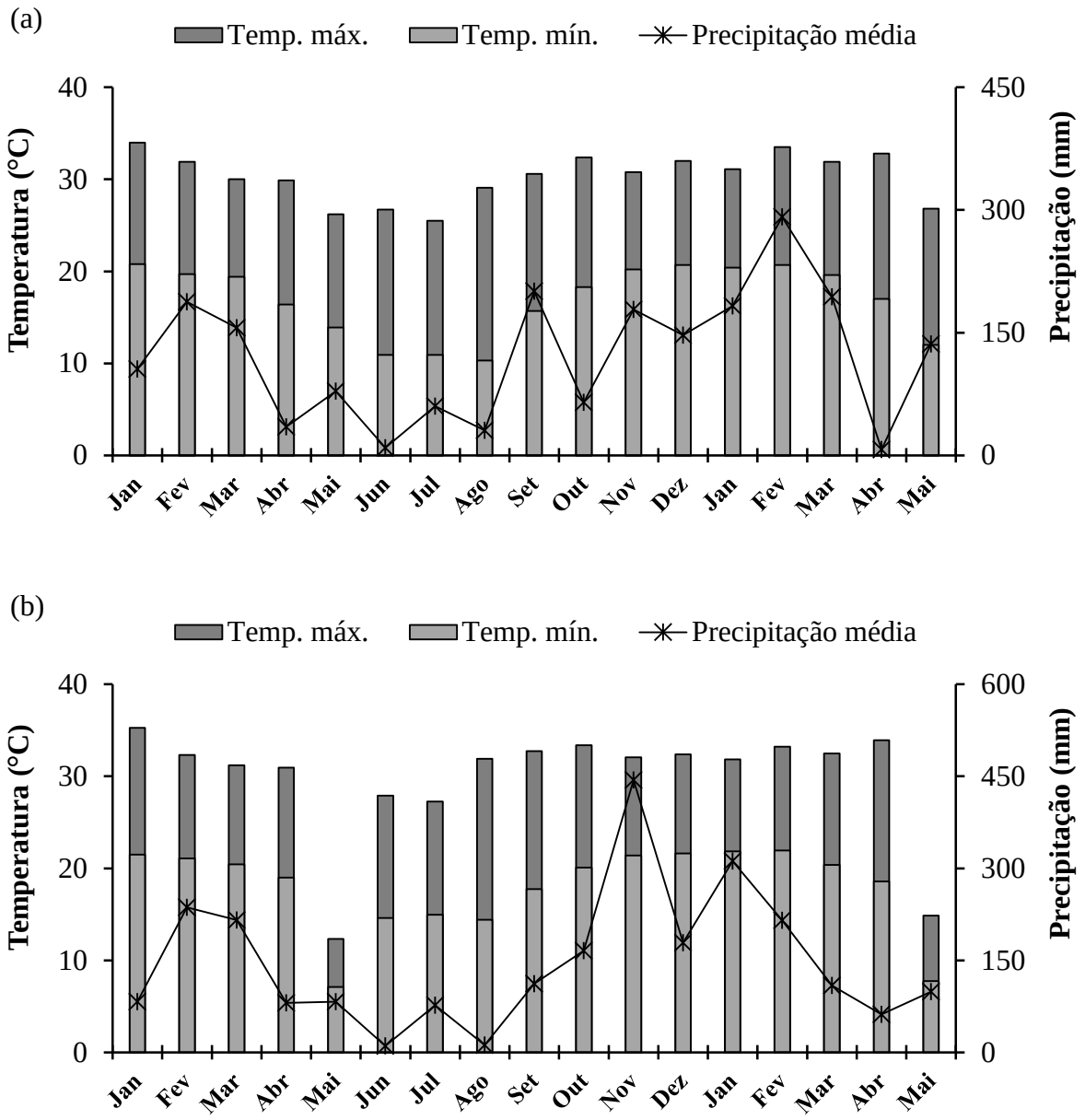

Figura 1 – As barras representam as temperaturas máximas e mínimas e a linha representa a precipitação mensal de (a) Usina Bom Retiro (SP) e (b) Usina Univalem (SP). Os dados são referentes aos ano de 2015 e 2016 (Fonte: CANACAP, 2016; estação UFSCar, 2016)

Segundo o Sistema Brasileiro de Classificação de Solo (EMBRAPA, 2013), o solo da Usina Bom Retiro foi classificado como um Latossolo Vermelho distrófico típico, que apresenta cor vermelha acentuada, devido aos teores mais altos e à natureza dos óxidos de ferro presentes no material originário em ambientes bem drenados, e o caráter distrófico indica que apresenta baixa fertilidade natural. O solo da Usina Univalem foi classificado como um Argissolo Vermelho-Amarelo distrófico, este tipo de solo apresenta horizonte de

acumulação de argila, denominado de B textural (Bt), com cores vermelho-amareladas devido à presença da mistura dos óxidos de ferro hematita e goethita. Geralmente são solos com muito baixa a média fertilidade natural (EMBRAPA, 2013).

A Usina Bom Retiro em Capivari localiza-se na Bacia do Paraná (Grupo Itararé) e pertence à formação geológica Capivari. É predominantemente constituída por depósitos finos e secundariamente por arenitos e diamictitos (rocha de origem sedimentar). E apresenta os seguintes valores de teor de argila, silte e areia: 332; 67 e 601 g kg^{-1}, respectivamente, correspondendo a classificação textural franco-argilo-arenoso.

A Usina Univalem em Valparaíso localiza-se na Bacia do Paraná (Grupo Bauru) e pertence à formação geológica Adamantina. O material de origem é o arenito (rocha sedimentar) com intercalações de argilito, siltito e conglomerados. E apresenta um teor de argila de 119 g kg^{-1}, silte de 23 g kg^{-1} e areia de 858 g kg^{-1}, correspondendo a classificação textural areia franca.

3.2 Delineamento experimental e tratamentos

O delineamento experimental da pesquisa completa corresponde a cinco tratamentos e quatro repetições compondo 24 parcelas de 1000 m^2 (50 x 20 m) dispostos em blocos completos casualizados, totalizando uma área de 24000 m^2 (300 x 80 m) em cada unidade produtora. O espaçamento da cultura é do tipo duplo alternado em que os espaçamentos entre as linhas de plantio são de 0,9 e 1,5 m.

Na Usina Bom Retiro foi cultivada a variedade de cana-de-açúcar CTC 14, caracterizada por alta produtividade, tolerância a regiões mais quentes e secas, e por ter bom desempenho agronômico em solos de menor fertilidade. A Usina Univalem foi cultivada com a variedade de cana-de-açúcar RB 86-7515, caracterizada pela boa produtividade em açúcar, tolerância às doenças a ferrugem da cana e por apresentar bom desempenho agronômico em solos de textura arenosa.

Nas duas áreas experimentais, o plantio da cana-de-açúcar foi feito em fevereiro de 2013, a primeira colheita (corte) da cana-de-açúcar com a primeira deposição da palha sobre o solo ocorreu em outubro de 2014 e, desta forma, procedeu-se a instalação dos experimentos. Os tratamentos corresponderam às diferentes quantidades de palha deixadas na superfície do solo resultantes das diferentes porcentagens de remoção concomitantemente à colheita da “cana-planta” (primeiro corte após a reforma do canavial). As quantidades de palha para cada tratamento foram previamente determinadas considerando a massa total de palha que

permanece sobre o solo após o corte mecanizado menos a quantidade de palha que deve ser retirada representar cada tratamento.

As quantidades de palha no solo em cada tratamento foi realizada com uma colhedora, na qual a regulagem de rotação dos extratores primário e secundário promoveu a deposição da quantidade de palha que deve ser resultante das diferentes intensidades de remoção pretendidas. Em cada local de experimento, a colhedora foi programada para manter aproximadamente as seguintes proporções de remoção de palha no campo após a colheita: 100%, 75%, 50%, e 0 e, ainda um sexto tratamento que após a deposição da palha, a mesma foi manejada de forma a concentrar-se sobre a entrelinha de 1,50 m. Este manejo tem sido comum nas unidades produtoras de cana-de-açúcar e é denominado “aleiramento da palha” ou simplesmente “aleirado”.

Uma vez que diferentes variedades de cana-de-açúcar produzem diferentes quantidades de palha (LEAL et al., 2013), para certificar a eficácia dos extratores da colhedora em depositar a quantidade estipulada de palha na superfície do solo em relação às porcentagens teóricas de palha pré-estabelecidas foi realizada a averiguação por meio amostragens da massa de palha depositada. Para isso, utilizou-se um quadro de 1 x 1 m no qual toda a palha contida na parte interna foi recolhida e enviada para o laboratório.

Em laboratório, foram determinadas as quantidades de palha em massa de matéria seca (MS) correspondentes de cada tratamento. Desta forma, confirmou-se que as variedades de cana-de-açúcar (CTC-14 e RB 86-7515) apresentam valores distintos de produção de palha, assim os tratamentos foram atribuídos de acordo com a variedade de cana que compõe cada local de estudo.

Assim, a quantidade inicial de palha efetiva em massa de MS correspondente a cada tratamento não foi à mesma para cada unidade de estudo. Na Usina Bom Retiro as quantidades iniciais variaram de 3,4 (75% de remoção de palha) a 16,6 Mg ha^{-1} de MS (0 remoção de palha), enquanto que na Usina Univalem as quantidades variam de 4,2 (75% de remoção de palha) à 23,3 Mg ha^{-1} de MS (Aleirado) na primeira colheita da cana-de-açúcar. Os valores em porcentagem de remoção teórica para cada tratamento, os correspondentes valores em porcentagem realizada e a designação dada aos respectivos tratamentos para cada local são apresentados abaixo, assim como os teores totais de C e N iniciais (Tabela 2).

Tabela 2 – Tratamentos propostos e seus valores efetivamente alcançados de remoção expressos em % e a resultante quantidade remanescente de palha em massa de matéria seca inicial (Mg ha^{-1})

Usina	Variedade	Tratamentos			Teor		
		Proposto	Efetivo	Designação	Matéria seca	C	N
		----------%---------			----------Mg ha^{-1}----------		
Bom Retiro (BR)	CTC 14	100	100	BR1	-	-	-
		75	80	BR2	3,4	1,6	0,014
		50	53	BR3	7,8	3,7	0,033
		0	0	BR4	16,6	7,9	0,071
		Aleirada	94	BR5	15,6	7,4	0,067
Univalem (UV)	RB 86-7515	100	100	UV1	-	-	-
		75	78	UV2	4,2	2,0	0,013
		50	54	UV3	8,7	4,2	0,029
		0	0	UV4	18,9	9,1	0,060
		Aleirada	123	UV5	23,3	11,2	0,075

Um ano após a instalação do experimento e o desenvolvimento da primeira rebrota (soca) da cana-de-açúcar ocorreu a segunda colheita em outubro de 2015 e, com isso a segunda a deposição de palha sobre os tratamentos, ou seja, palha "nova" sobre a palha remanescente do ano anterior. E assim como na instalação inicial do experimento, procedeu-se a remoção das quantidades de palha referente a cada tratamento por meio do mesmo procedimento dos extratores da colhedora, com o adicional da palha remanescente proveniente da primeira colheita. As quantidades de palha remanescente do primeiro ano e as quantidades referentes a cada tratamento estão apresentadas em seguida, assim como os teores totais de C e N iniciais (Tabela 3).

Tabela 3 – Quantidade de palha correspondente aos tratamentos na segunda amostragem (Mg ha^{-1})

Usina	Variedade	Tratamentos					
		Designação	Remanescente	Depositado	Total	C	N
		Mg ha^{-1}					
Bom Retiro (BR)	CTC 14	BR1	0	0	-	-	-
		BR2	1,0	4,0	5,0	2,4	0,018
		BR3	4,5	4,9	9,4	4,5	0,034
		BR4	7,8	10,8	18,6	9,0	0,067
		BR5	5,1	12,9	18,0	8,7	0,065
Univalem (UV)	RB 86-7515	UV1	0	0	-	-	-
		UV2	2,8	4,0	6,8	3,3	0,024
		UV3	4,0	9,4	13,4	6,5	0,047
		UV4	6,2	13,9	20,1	9,7	0,071
		UV5	6,0	13,5	19,5	9,4	0,069

3.3 Coletas e análises das amostras

Para avaliar o efeito da quantidade de palha de cana-de-açúcar sobre a biomassa microbiana do solo foram realizadas duas amostragens em momentos diferentes do ciclo da cana-de-açúcar. A primeira amostragem foi realizada um ano após a primeira colheita, e a segunda amostragem foi realizada quatro meses após a segunda colheita, em que houve a permanência de palha proveniente da primeira colheita e a adição de palha nova proveniente do segundo corte da cana-de-açúcar ao longo de quatro meses (Figura 2).

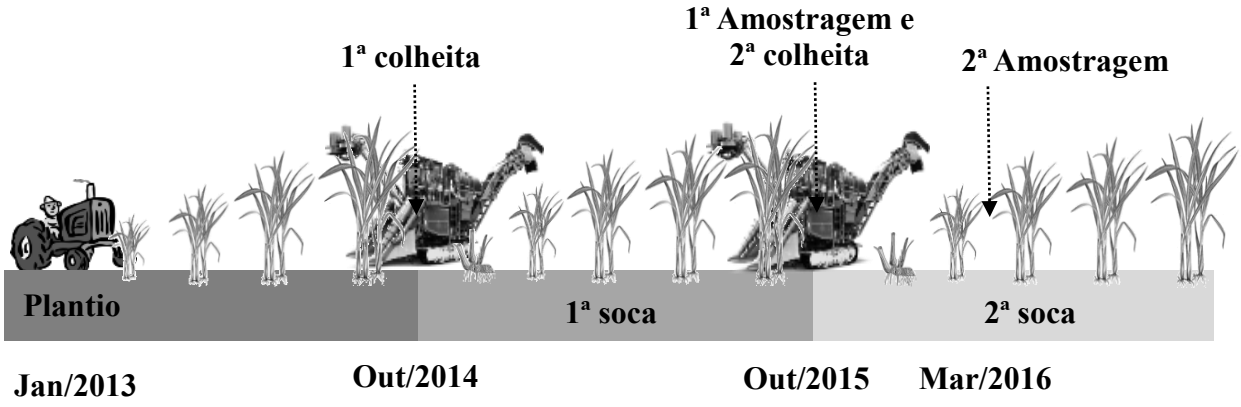

Figura 2 – Esquema representando o ciclo da cana-de-açúcar no período de condução do estudo e as datas de coleta das amostras nas Usinas Bom Retiro e Univalem

A primeira amostragem foi realizada em outubro de 2015, período correspondente a aproximadamente um ano após a deposição da palha por ocasião do primeiro corte. Naquela ocasião foram coletadas amostras da palha de cana-de-açúcar para a determinação dos teores de C e N totais e a estimativa da biomassa microbiana, bem como amostras do solo nas entrelinhas de 90 cm para determinação dos teores de C e N totais, carbono lábil, estimativa da biomassa microbiana (camada 0-10 cm) e a abundância da comunidade microbiana.

A segunda amostragem foi realizada em março de 2016, período correspondente a aproximadamente quatro meses após a deposição da palha decorrente do segundo ano de corte. Foram coletadas amostras de palha de cana-de-açúcar para determinação dos teores de C e N totais e a estimativa da biomassa microbiana, e foram coletadas amostras de solo nas estrelinhas de 90 cm para determinação dos teores de C e N totais, estimativa da biomassa microbiana, respiração basal, quociente metabólico (camada 0-10 cm) e a abundância de genes de Bacteria, Archaea e Fungo da comunidade microbiana do solo (camadas 0-5 e 5-10 cm). Nesta amostragem, para as análises da palha e do solo foram utilizados os

tratamentos com 100% (somente para o solo), 50% e 0 de remoção da palha, ou seja, BR1 e UV1, BR3 e UV3 e BR4 e UV4.

A amostragem da palha foi feita recolhendo todo material presente sobre o solo em diferentes graus de decomposição. Utilizou-se um gabarito cilíndrico de 10 cm de diâmetro para coletar cinco subamostras que compuseram uma amostra composta. O procedimento foi aplicado às quatro repetições de cada tratamento.

Para a coleta das amostras de solo foram abertas mini-trincheiras e com o auxílio de espátulas foram retirados monólitos nas profundidades medidas com régua. Foram coletadas cinco subamostras que compuseram uma amostra composta nas quatro repetições de cada tratamento.

As amostras de palha e solo para as análises dos teores de C e N totais, biomassa microbiana e respiração basal do solo foram acondicionadas em sacos plásticos com respiro de papel para permitir as trocas gasosas com a atmosfera e armazenadas em condições de temperatura ambiente.

3.4 Caracterização física e química do solo

As análises para caracterização física e química do solo foram realizadas nas áreas previamente à instalação do experimento (setembro de 2014) em amostras coletadas nas camadas 0-10 e 10-20 cm, com três pontos de amostragem em cada parcela. Os resultados obtidos para caracterização física e química dos solos são apresentados abaixo (Tabela 4).

Tabela 4 – Caracterização física e química do solo

Camada	pH	Ds[1]	Argila	P-disp.[2]	SB[3]	CTC[4]	V%[5]
(cm)	(H_2O)	(g cm^{-3})	(g kg^{-1})	(mg dm^{-3})	($mmol_c$ dm^{-3})		(%)
			Usina Bom Retiro				
0-10	5,2 ± 0,2	1,32 ± 0,0	325 ± 21	29,3 ± 1,9	43,2 ± 4,8	62,6 ± 5,8	69,0 ± 3,4
10-20	4,9 ± 0,2	1,37 ± 0,1	326 ± 22	24,9 ± 2,6	30,1 ± 4,3	54,7 ± 6,3	55,0 ± 6,6
			Usina Univalem				
0-10	5,2 ± 0,2	1,51 ± 0,1	106 ± 20	17,4 ± 2,2	15,6 ± 3,9	30,2 ± 3,8	51,6 ± 5,7
10-20	4,8 ± 0,2	1,62 ± 0,1	123 ± 22	14,1 ±1,5	9,0 ± 1,7	25,8 ± 1,5	34,8 ± 5,4

[1]Ds = densidade do solo; [2] P-disp. = fósforo disponível; [3]SB = soma de bases; [4] CTC = capacidade de troca de cátions potencial e [5] V% = saturação por bases

3.5 Determinação de Carbono e Nitrogênio Totais

As determinações de C e N totais foram realizadas para todos os tratamentos, nas camadas 0-10 e 10-20 cm, em Bom Retiro e Univalem. As amostras de solo foram secas ao ar, homogeneizadas, destorroadas, peneiradas a 2 mm, em seguida foram tamisadas e passadas em peneira de malha 100 mesh (0,15 mm). As amostras de palha foram secas, homogeneizadas e passadas em moinho com malha de 20 mesh. As concentrações de C e N total foram obtidas por combustão a seco, com analisador elementar CN-2000 (Leco, Michigan, MI, EUA) no Laboratório de Biogeoquímica Ambiental (CENA-USP).

Os estoques de C e N do solo, para as camadas 0-10 e 10-20 cm, foram calculados utilizando a Equação 1.

$$E = (C \text{ ou } N) \times ds \times h/10 \qquad (1)$$

Em que: E = estoque de carbono ou nitrogênio total do solo (kg m^{-2}); (C ou N) = teor de carbono ou nitrogênio total do solo (%); ds = densidade do solo (g cm^{-3}); h = espessura da camada amostrada (cm);

3.6 Estimativa do C e N da biomassa microbiana da palha e do solo

As amostras de solo foram destorroadas e passadas em peneira de 1,68 mm de malha, homogeneizadas, retirando-se as raízes e resíduos visíveis de plantas e animais do solo. As amostras foram incubadas por um dia e após este período, a umidade foi corrigida e padronizada para 55% da capacidade máxima de retenção de água do solo quando necessário. Para obtenção da massa da matéria seca de cada amostra, 5 g de solo e 10 g de palha foram levados à estufa por 24 horas a 105°C.

A biomassa microbiana das amostras de palha e de solo foi extraída utilizando o método de fumigação-extração (VANCE et al., 1987b). O método tem como princípio o procedimento de fumigação, esterilização parcial, que provoca a lise da membrana plasmática e da parede celular dos microrganismos presentes nas amostras com clorofórmio sem afetar a matéria orgânica não viva.

As amostras de campo foram separadas em amostras fumigadas e não-fumigadas, 25 g para solo e 2 g para palha, em triplicatas. As amostras fumigadas foram incubadas por 24h a 0,03 MPa com clorofórmio purificado. Posteriormente amostras fumigadas e não-fumigadas foram agitadas por 30 minutos a 150 rpm com 100 mL de solução de K_2SO_4 (0,5 mol L^{-1}) para a extração do C e N, e, depois deixadas em repouso para decantação e

posterior filtragem em sistemas de seringas de com filtro tratado previamente com K_2SO_4 0,5 M.

Os teores de C e N do solo e da palha foram determinados no equipamento TOC Shimadzu-5000 (Quioto, Japão). O C e N da biomassa microbiana foram calculados pela diferença entre os valores obtidos nas amostras fumigadas e as não fumigadas, usando os fatores de correção K_{EC} = 0,33 para C (SPARLING; WEST, 1988) e K_{EC} = 0,54 para N (BROOKES et al., 1985a) (Equações 2 e 3). O C extraído por K_2SO_4 das amostras não fumigadas do solo foi usado como medida para o C mais facilmente oxidável (BECK et al., 1997; GRAHAM; HAYNES, 2006; SUGIHARA et al., 2010), denominado neste trabalho como C lábil (C_L).

As determinações foram realizadas no Laboratório de Biogeoquímica Ambiental do Centro de Energia Nuclear da Agricultura (CENA/USP). Os dados foram expressos em μg C g^{-1} e μg N g^{-1} de solo seco. O quociente microbiano também foi calculado usando a fórmula (CBM/C_T) x 100 (ANDERSON; DOMSCH, 1989), adicionalmente foi calculado a taxa de NBM na fração de N_T (NBM/N_T).

$$CBM = (C_F - C_{NF})/K_C \quad (2)$$

Em que: CBM = carbono da biomassa microbiana do solo (mg kg^{-1} TSFA); C_F e C_{NF} = carbono das amostras fumigadas e não fumigadas; K_C = fator de correção 0,33 (SPARLING; WEST, 1988).

$$NBM = (N_F - N_{NF})/K_N \quad (3)$$

Em que: NBM = nitrogênio da biomassa microbiana do solo (mg kg^{-1} TSFA); N_F e N_{NF} = nitrogênio das amostras fumigadas e não fumigadas; K_N = fator de correção 0,54 (BROOKES et al., 1985b).

Os estoque de C e N microbiano foram calculados a partir dos teores de C e N da biomassa microbiana, densidade do solo e espessura da camada (BERNOUX et al., 1998), os resultados finais foram expressos em kg ha^{-1}, de acordo com a Equação 4:

$$E = ds \times h \times (C\text{-}BM \text{ ou } N\text{-}BM)/10 \quad (4)$$

Em que: E = estoque de carbono ou nitrogênio total do solo (kg ha^{-1}); d = densidade do solo (g cm^{-3}); h = espessura da camada amostrada (cm); C ou N = valor de carbono ou nitrogênio microbiano do solo (µg g^{-1}).

3.7 Respiração basal e determinação do Quociente Metabólico (*q*CO_2)

A respiração basal é o valor obtido da medição de gás carbônico (CO_2) evoluído das amostras não fumigadas durante o período de incubação que reflete a atividade microbiana. O quociente metabólico (*q*CO_2) representa a combinação das medidas da biomassa microbiana e respiração basal do solo definindo a quantidade de CO_2 liberado por unidade de biomassa microbiana em determinado tempo. O quociente metabólico é amplamente usado como indicador de alterações no solo, servindo para avaliar o desenvolvimento e o distúrbio em um sistema (BASTIDA et al., 2008).

Para determinação do fluxo de gás carbônico (CO_2) emitido pela palha e pelo solo foi corrigida a umidade das amostras para aproximadamente 55% da capacidade de campo. As determinações foram feitas em amostras de 100g de solo e 10g de palha incubadas por 4 horas em frascos hermeticamente fechados. O gás CO_2 produzido foi determinado por cromatografia gasosa (SHIMADZU, GC-2014; Quioto, Japão). Os fluxos foram calculados pela alteração linear da concentração do gás com o tempo de incubação. Para o cálculo do quociente metabólico foi feita a divisão da respiração basal (µg CO_2 g $solo^{-1}$) pelo carbono microbiano, os dados obtidos foram representados em µg CO_2 µg C_{mic}^{-1} h^{-1}.

3.8 Extração de DNA total do solo

O DNA genômico do solo coletado de cada ponto foi extraído usando o *Kit Power Soillyzer DNA Extraction*^{TM} (MoBio Laboratories, Carlsbad, CA), seguindo as instruções do fabricante, e armazenado a -20 °C até o uso. A qualidade e quantidade aproximada de DNA foram conferidas em gel de agarose 1% (SAMBROOK et al., 1989). Para retirar as impurezas (DNA puro tem uma razão A_{260}/A_{280}=1,7–2,2), as amostras de DNA foram purificadas pelo kit comercial UltraCleanSoil até uma pureza satisfatória ser obtida.

3.8.1 Construção da curva dos genes 16S rRNA de *Bacteria* e *Archaea* e 18S de Fungo

Foram desenvolvidas curvas padronizadas para quantificar os genes 16S rRNA de *Bacteria* e *Archaea* e 18S de Fungo, na comunidade microbiana do solo. Para isso, primeiramente, o gene de cada grupo foi amplificado por PCR em termociclador *GeneAmp PCR System 9700* (Applied Biosystems).

O PCR de cada amostra foi preparado contendo 2,5 µL de 10X PCR Buffer; 1,5 mM de $MgCl_2$; 0,5 mM de cada dNTP; 5 pmol de cada *primer* para os genes 16S rRNA de *Bacteria*, 16S rRNA de *Archaea* e 18S de Fungo, 0,2 µL de *Platinum Taq DNA Polymerase* (Life Technologies); 1 µL de DNA e H_2O ultrapura esterilizada para um volume final de 25 µL. As condições de amplificação de cada gene estão descritas na Tabela 5.

A qualidade e quantidade aproximada dos produtos de PCR foram conferidas em gel de agarose 1%, corado com brometo de etídio, em TSB. Foi utilizado o marcador de peso molecular *Low mass DNA Ladder* (Life Technologies). O gel foi submetido a um campo elétrico de 100 V por aproximadamente 45 minutos e, posteriormente, foto-documentado.

Os produtos de PCR de ambos os genes foram purificados com o uso do *GFX PCR DNA and Gel Band Kit* (GE Healthcare), de acordo com instruções do fabricante. Posteriormente, os produtos purificados foram quantificados em espectrofotômetro *Nanodrop 2000c* (Thermo Fisher Scientific) com densidade ótica adotada de 260 nm. A partir de cada produto, foram desenvolvidas curvas com 10^2 a 10^8 cópias para os genes 16S rRNA de *Bacteria* (FIERER et al., 2005), 16S rRNA de *Archaea* (YU et al., 2005) e 18S de Fungo (VAN ELSAS et al., 2000) descritos (Tabela 5).

O termociclador StepOnePlus™ (Applied Biosystems), existente no Laboratório de Biologia Celular e Molecular do CENA/USP, foi utilizado para a detecção quantitativa por PCR fluorescente em tempo real (qPCR) com SYBR Green I como corante fluorescente. A reação em um volume final de 10 µL, contendo 5 µL do *SYBR Green ROX qPCR Master Mix* (Thermo Scientific), 5 pmol de cada *primers forward* e *reverse*, 1 µL de DNA da amostra teste e água ultrapura esterilizada.

Os dados do qPCR foram obtidos pelo StepOne Software 2.2.2 (Applied Biosystems), deste foram exportados para a o programa Excel (Microsoft) onde foram calculadas as quantidades de cópias do gene para cada grama de solo. A partir desses dados foram realizadas as análises estatísticas utilizando o pacote ‘agricolae’ no R. Os dados foram submetidos à ANOVA e suas médias contrastadas pelo teste de Tukey $p<0,05$.

Tabela 5 - Primers utilizados para a amplificação dos genes 16S rRNA de *Bacteria*, *Archaea* e 18S rRNA de Fungo

Genes alvo	***Primers***	**Sequência (5'- 3')**	**Tamanho fragmento (pb)**	**Referência**	**Condições de amplificação**
16S rRNA *Bacteria*	Eub 338f Eub 518r	ACTCCTACGGGAGGCAGCAG ATTACCGCGGCTGCTGG	180	Fierer et al. (2005)	95ºC - 10 min; 40 ciclos, 94ºC – 15 s, 56ºC - 30 s e 72 ºC - 45 s
16S rRNA *Archaea*	ARC1059r RC787f	ATTAGATACCCSBGTAGTCC GCCATGCACCWCCTC T)	273	Yu et al. (2005)	95ºC - 10 min; 40 ciclos, 95ºC - 15 s, 57ºC - 20 s e 72ºC - 30 s.
18S Fungo	EF4f FUNG5r	GGAAGGG[G/A]TGTATTTATTAG GTA AAA GTC CTG GTT CCC	530	Van Elsas et al. (2000)	95ºC - 5 min; 40 ciclos, 95 ºC – 15 s, 51ºC - 30 s e 72ºC – 1 min e 72º C – 1 min

3.9 Análises estatísticas

Os resultados foram submetidos ao teste de normalidade Shapiro-Wilk ($p < 0,05$). Após verificar a normalidade foi feita a análise de variância (ANOVA) e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). As análises estatísticas foram realizadas com programa SAS versão 9.3 (SAS Inc., Cary, USA).

4. RESULTADOS

Os resultados serão apresentados em duas seções referentes aos dados obtidos na primeira e na segunda amostragem que foram realizadas neste trabalho. Inicialmente serão apresentados os resultados da primeira amostragem referentes ao efeito de um ano de remoção da palha de cana-de-açúcar. Em seguida, serão apresentados os resultados da segunda amostragem, referentes ao efeito da remoção da palha proveniente da segunda colheita, sendo que nesta situação há o remanescente de palha da primeira colheita no solo.

Considerando as datas da coleta que foram realizadas em outubro de 2015 e março de 2016, o acumulado de precipitação referente aos meses de janeiro à outubro de 2015 foi 928 mm em Bom Retiro e, 1073,4 mm em Univalem. O acumulado de precipitação referente aos meses de janeiro, fevereiro e março de 2016 foi de 668 mm em Bom Retiro e, 636 mm em Univalem.

4.1. Resultados da primeira amostragem - efeito das quantidades remanescentes de palha

Na primeira amostragem os tratamentos correspondem às seguintes quantidades de palha em massa de matéria seca inicial: BR1 (sem palha), BR2 (3,4 Mg ha^{-1}), BR3 (7,8 Mg ha^{-1}) e BR4 (16,6 Mg ha^{-1}) na Usina Bom Retiro; e UV1 (sem palha), UV2 (4,2 Mg ha^{-1}), UV3 (8,7 Mg ha^{-1}) e UV4 (18,9 Mg ha^{-1}) na Usina Univalem. Serão apresentados os resultados de carbono total (C_T), nitrogênio total (N_T), carbono da biomassa microbiana (CBM) e nitrogênio da biomassa microbiana (NBM) da palha. E, serão apresentados os resultados de carbono total (C_T), nitrogênio total (N_T), e seus estoques do solo, relação C:N, carbono lábil (C_L), carbono da biomassa microbiana (CBM) e nitrogênio da biomassa microbiana (NBM) e seus estoques na camada 0-10 cm do solo. Ainda serão apresentados resultados do número de cópias de genes de Bacteria, Archaea e Fungo da comunidade microbiana do solo nas camadas 0-5 e 5-10 cm.

4.1.1 C_T e N_T na palha remanescente no solo

Após um ano da remoção de diferentes quantidades de palha de cana-de-açúcar, em Bom Retiro as quantidades de palha remanescente no campo foram de 1,0; 4,5 e 7,8 Mg ha^{-1}, respectivamente nos tratamentos BR2, BR3 e BR4. Em Univalem as quantidades de palha

remanescente foram de 2,8; 4,0 e 6,2 Mg ha^{-1}, respectivamente nos tratamentos UV2, UV3 e UV4. Os teores de C_T e N_T avaliados nesta palha não apresentaram diferença entre os tratamentos ($p > 0,05$) e, em Bom Retiro foram de 43% de C e 0,6% de N com uma relação C:N de 66,1, enquanto que para Univalem apresentou 47% de C; 0,6% de N e relação C:N de 74,6. As quantidades remanescente de C_T e N_T na palha em cada tratamento estão apresentadas abaixo (Tabela 6).

Tabela 6 - Teores de C total (C_T), N total (N_T) na palha de cana-de-açúcar remanescente em função das quantidades obtidos na primeira amostragem nas Usinas Bom Retiro e Univalem

Tratamentos	**C_T**	**N_T**
	---------- Mg ha^{-1} ----------	
Bom Retiro		
BR2 (3,4)	0,43	0,01
BR3 (7,8)	1,94	0,03
BR4 (16,6)	3,35	0,05
Univalem		
UV2 (4,2)	1,32	0,02
UV3 (8,7)	1,88	0,03
UV4 (18,9)	2,91	0,04

Com relação à biomassa microbiana na palha, não foi observada diferença significativas em função dos tratamentos para os valores dos teores de C e N da biomassa microbiana na palha ($p > 0,05$) em Bom Retiro. Para o CBM, em BR2 foi verificado o menor valor, sendo este 48% menor comparado ao tratamento BR4, isto pode ser explicado pelo menor aporte de material orgânico que permaneceu disponível a microbiota em BR2. O NBM apresentou o menor valor em BR3, e o maior valor foi encontrado em BR4. A relação carbono microbiano: nitrogênio microbiano (CBM:NBM) foi menor no tratamento BR2 e apresentou o maior valor no tratamento BR4.

A relação carbono da biomassa microbiana: carbono total (CBM:C_T) não apresentou diferença em função das quantidades de palha ($p > 0,05$), e o valor média desta relações foi 1,0%, da mesma forma, não houve diferença para a relação nitrogênio da biomassa microbiana: nitrogênio total (NBM:N_T), cujo valor médio foi 3,9% (Tabela 7).

Tabela 7 - Teores de carbono da biomassa microbiana (CBM), nitrogênio da biomassa microbiana (NBM), relações carbono da biomassa microbiana:nitrogênio da biomassa microbiana (CBM:NBM), carbono da biomassa microbiana:carbono total (CBM:C_T) e nitrogênio da biomassa microbiana:nitrogênio total (NBM:N_T) na palha de cana-de-açúcar em função das quantidades obtidos na primeira amostragem nas Usinas Bom Retiro e Univalem

Tratamentos	CBM	NBM	CBM:NBM	CBM:C_T	NBM:N_T
	mg g^{-1}				
Bom Retiro					
BR2 (3,4)	34,9 ± 15,1 ^{ns}	2,8 ± 0,9 ^{ns}	14,0 ± 8,1 ^{ns}	0,8 ± 0,4 ^{ns}	4,6 ± 1,5 ^{ns}
BR3 (7,8)	43,1 ± 10,4	1,9 ± 1,0	29,8 ± 19,7	1,0 ± 0,2	3,1 ± 1,6
BR4 (16,6)	51,5 ± 13,2	3,6 ± 1,3	31,5 ± 8,2	1,4 ± 0,3	3,2 ± 1,0
dms	27,7	2,1	27,9	1,2	6,2
CV%	27,9	40,1	54,8	26,9	66,5
Univalem					
UV2 (4,2)	40,9 ± 9,6 b*	3,5 ± 3,5 ^{ns}	19,6 ± 10,7 ^{ns}	0,9 ± 0,2 ^{ns}	5,8 ± 5,9 ^{ns}
UV3 (8,7)	58,2 ± 2,4 a	3,4 ± 1,0	18,4 ± 5,8	1,2 ± 0,1	5,7 ± 1,6
UV4 (18,9)	58,2 ± 13,9 a	2,6 ± 1,2	24,1 ± 6,5	1,2 ± 0,3	4,4 ± 1,9
dms	26,4	4,6	19,7	1,9	20,4
CV%	20,29	62,82	40,7	20,3	6,27

*Média (n=4) ± desvio padrão. Médias de mesma letra nas colunas não diferem dentro de cada local (Tukey 5%); ns = não significativo; dms= diferença mínima significativa; CV% = coeficiente de variação

Na Usina Univalem, houve diferença significativa nos valores de CBM na palha em função das quantidades de palha ($p < 0,05$), em que o tratamento UV2 apresentou teor de carbono microbiano 65% menor comparado aos tratamentos UV3 e UV4, isto pode ser explicado pelo menor aporte de material orgânico ter efeito mais expressivo em solo arenoso, que responde mais prontamente às alterações. Não houve diferença nos valores de NBM em função dos tratamentos ($p > 0,05$), apesar disso, em contraste ao CBM, os menores valores encontrados foram em UV4 seguido do UV3.

A relação CBM:NBM apresentou menor valor em UV2 e, o maior valor em UV4, contudo, sem apresentar diferenças significativas ($p > 0,05$). O valor médio da relação CBM:C_T foi de 1,2%, quanto maior o valor desta relação indica maior eficiência em utilizar o substrato. O valor média da relação NBM:N_T foi de 5,4%, os altos valores desta relação indicam maior capacidade da microbiota em imobilizar o nitrogênio disponível (Tabela 7).

4.1.2 Efeito da remoção de quantidades de palha sobre carbono e nitrogênio no solo

Os valores de umidade do solo na camada 0-10 cm foram de 22,5%, 26,1%, 24,9% e 22,7%, respectivamente nos tratamentos BR1, BR2, BR3 e BR4 na Usina Bom Retiro; e foram de 15,0%, 14,5%, 14,6% e 13,1%, respectivamente nos tratamentos UV1, UV2, UV3 e UV4 na Usina Univalem.

Na Usina Bom Retiro não houve diferença nos teores de C_T, N_T e na relação C:N em função da remoção de palha ($p < 0,05$). A relação C:N no tratamento BR4 foi duas vezes menor comparado ao tratamento BR2, isto pode ter ocorrido devido ao alto N_T encontrado em BR4 (Tabela 6).

Na Usina Univalem houve diferença em função dos tratamentos apenas para o C_T ($p < 0,05$) e, o tratamento UV1 foi 1,6 vezes menor comparado ao tratamento UV4. Os valores de N_T não apresentaram diferença significativa ($p > 0,05$), sendo que o valor médio encontrado nos tratamentos foi de 0,5 g kg^{-1}. O tratamento UV1 apresentou o menor valor de relação C:N do solo, isto pode ser explicado pelo baixo teor de carbono no solo (Tabela 8).

Tabela 8 - Teores de C total (C_T), N total (N_T) e relação C:N no solo sob cultivo de cana-de-açúcar em função das quantidades de palha obtidos na primeira amostragem, na camada 0-10 cm, nas Usinas Bom Retiro e Univalem

Tratamentos	**C_T**	**N_T**	**C:N**
	---------- g kg^{-1} ----------		
Bom Retiro			
BR1 (0)	14,5 ± 0,9 ^{ns}	0,6 ± 0,2 ^{ns}	28,4 ± 13,3 ^{ns}
BR2 (3,4)	15,1 ± 0,8	0,6 ± 0,1	31,9 ± 3,0
BR3 (7,8)	15,2 ± 0,5	0,7 ± 0,1	24,8 ± 2,4
BR4 (16,6)	14,6 ± 0,8	0,7 ± 0,2	10,3 ± 1,5
dms	0,9	0,3	10,4
CV%	2,7	18,6	22,2
Univalem			
UV1 (0)	5,2 ± 0,1 ^{ns}	0,6 ± 0,0 ^{ns}	7,20 ± 0,5 ^{ns}
UV2 (4,2)	5,3 ± 0,3	0,5 ± 0,2	12,81 ± 4,3
UV3 (8,7)	5,2 ± 0,6	0,5 ± 0,1	13,04 ± 4,4
UV4 (18,9)	6,0 ± 0,6	0,5 ± 0,2	14,11 ± 5,9
dms	0,9	0,2	2,6
CV%	7,9	19,6	14,1

Média (n=4) ± desvio padrão. Médias de mesma letra nas colunas não diferem dentro de cada local (Tukey 5%). ns = não significativo. dms= diferença mínima significativa. CV% = coeficiente de variação

Na Usina Bom Retiro, os valores de estoque de C e N do solo para a camada 0-10 cm foram 1,9; 2,0; 2,0 e 1,9 kg m^{-2} (CV% = 2,8) e, 0,1 kg m^{-2} (CV% = 17,2), para todos os tratamentos BR1, BR3, BR3 e BR4. Não houve diferença em função dos tratamentos para os estoques de C e N do solo ($p < 0,05$), assim como foi observado para os teores de C_T e N_T do solo (Figura 3).

Na Usina Univalem, os estoques de C do solo na camada 0-10 cm foram 0,8; 0,8; 0,8 e 0,9 kg m^{-2} (CV% = 7,9), respectivamente para os tratamentos UV1, UV2, UV3 e UV4 ($p < 0,05$), o estoque de N do solo na camada 0-10 cm apresentou valor médio de 0,1 kg m^{-2} (CV% = 19,7) em todos os tratamentos ($p > 0,05$) (Figura 3).

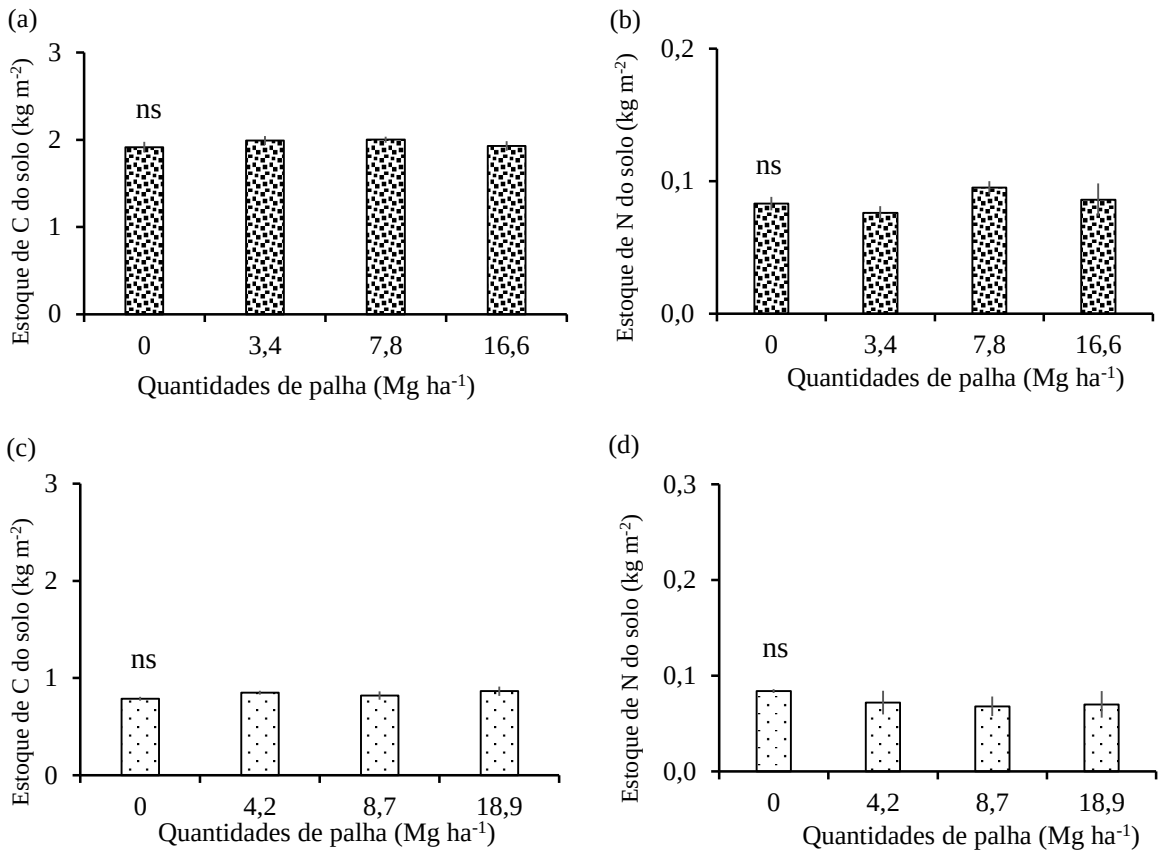

Figura 3 – Estoques de carbono e nitrogênio total do solo sob cultivo de cana-de-açúcar, em função das quantidades de palha obtidos na primeira amostragem, na camada 0-10 cm, (a) Estoque de C do solo em Bom Retiro, (b) Estoque de N do solo em Bom Retiro, (c) Estoque de C do solo em Univalem, (d) Estoque de N do solo em Univalem. Média (n=4) ± erro padrão. Médias de mesma letra não diferem dentro de cada gráfico (Tukey 5%). ns = não significativo

Em Bom Retiro, não houve diferença em função dos tratamentos ($p > 0,05$) para os valores do teor de carbono lábil (C_L), sendo que o menor valor foi observado em BR4 e o maior valor para BR3. Os teores de carbono da biomassa microbiana (CBM) e nitrogênio da biomassa microbiana (NBM) na camada 0-10 cm do solo não apresentaram diferença em função dos tratamentos ($p > 0,05$), sendo que o maior valor de CBM foi observado em BR3, e o maior valor de NBM foi encontrado em BR2. Normalmente, as frações de C_L, e de CBM e NBM são mais sensíveis às alterações de manejo, contudo, as ausências de diferenças significativas entre os tratamentos podem ser explicadas pelo curto período de implantação do experimento (Tabela 9).

Na Usina Univalem, os valores de C_L não diferiram significativamente em função dos tratamentos ($p > 0,05$), embora, o menor valor foi observado em UV1 e UV2, e o maior valor, em UV3. Os teores de CBM não diferiram significativamente ($p > 0,05$), no entanto, o tratamento UV1 apresentou valor 24% menor em relação ao encontrado em UV4.

Foi observado diferença em função dos tratamentos para os valores de NBM ($p < 0,05$). O valor de NBM do solo encontrado no tratamento UV1 foi duas vezes menor comparado ao tratamento UV4 (Tabela 9). Estas diferenças em função dos tratamentos podem sugerir que o solo arenoso se mostrou mais sensível ao aporte de material, apresentando resposta mais expressiva.

Tabela 9 - Teores de carbono lábil (C_L), de carbono da biomassa microbiana (CBM) e nitrogênio da biomassa microbiana (NBM) no solo sob cultivo de cana-de-açúcar em função das quantidades de palha obtidos na primeira amostragem, na camada 0-10 cm, nas Usinas Bom Retiro e Univalem

Tratamentos	**C_L**	**CBM**	**NBM**
	----------	**µg g^{-1}**	----------
Bom Retiro			
BR1 (0)	555,2 ± 15,7 ^{ns}	263,2 ± 51,4 ^{ns}	19,6 ± 1,4 ^{ns}
BR2 (3,4)	612,6 ± 35,4	275,0 ± 98,8	23,3 ± 10,3
BR3 (7,8)	627,4 ± 18,4	320,0 ± 54,0	21,7 ± 2,7
BR4 (16,6)	536,8 ±12,7	262,0 ± 25,6	20,3 ± 3,1
dms	60,5	129,5	12,7
CV%	10,4	20,9	27,0
Univalem			
UV1 (0)	373,5 ± 7,5 ^{ns}	161,8 ± 28,5 ^{ns}	7,7 ± 1,9 c
UV2 (4,2)	373,5 ± 9,4	160,9 ± 32,3	9,1 ± 3,0 bc
UV3 (8,7)	409,9 ± 11,2	196,0 ± 47,0	15,3 ± 3,2 ab
UV4 (18,9)	396,9 ± 11,3	201,0 ± 28,6	16,5 ± 4,8 a
dms	114,7	58,8	6,9
CV%	14,8	14,8	25,5

Média (n=4) ± desvio padrão. Médias de mesma letra nas colunas não diferem dentro de cada local (Tukey 5%); ns = não significativo; dms= diferença mínima significativa; CV% = coeficiente de variação

Em Bom Retiro, es valores de estoque de C_L do solo na camada 0-10 cm foram 73,3; 80,9; 82,8 e 70,9 g C m^{-2} de solo, respectivamente para BR1, BR2, BR3 e BR4, sendo que não houve diferença significativa em função dos tratamentos ($p > 0,05$) e, o maior valor foi encontrado em BR3. Em Univalem, para a mesma camada do solo, os valores de C_L foram 56,4; 48,8; 61,8 e 60,0 g C m^{-2} de solo, respectivamente para UV1, UV2, UV3 e UV4, também sem diferença significativa em função dos tratamentos ($p > 0,05$) (Figura 4).

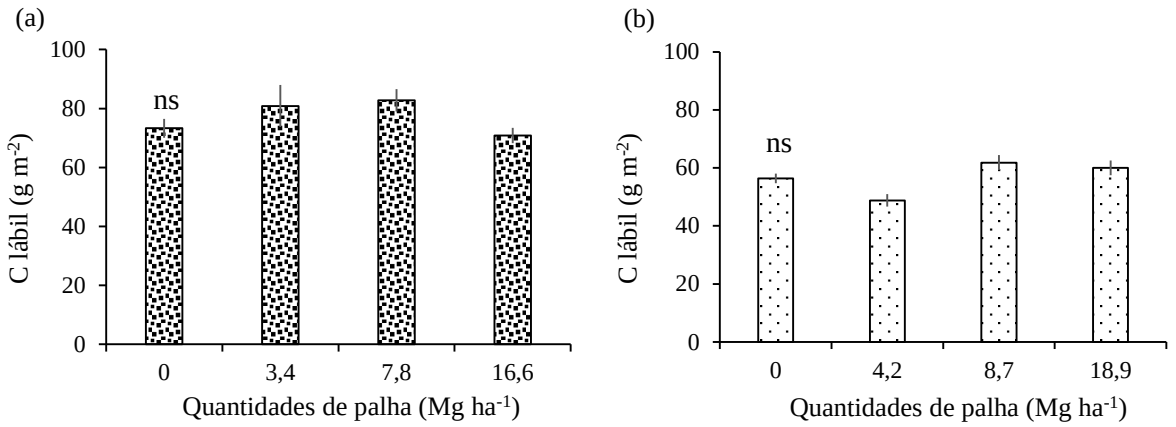

Figura 4 – Estoques de carbono lábil do solo sob cultivo de cana-de-açúcar em função das quantidades de palha obtidos na primeira amostragem, na camada 0-10 cm, (a) Estoque de C lábil do solo em Bom Retiro, (b) Estoque de C lábil do solo em Univalem. Média (n=4) ± erro padrão. ns = não significativo (Tukey 5%).

De maneira geral, na primeira amostragem a BMS não apresentou diferenças significativas em função das quantidades de palha ($p > 0,05$), os resultados mostraram apenas uma tendência de aumento da BMS em função do aumento da quantidade de palha.

Na Usina Bom Retiro, os valores do estoque de C microbiano do solo na camada 0-10 cm foram de 34,7; 36,3; 42,2 e 34,6 g m^{-2} (CV% = 20,9), e os valores do estoque de N microbiano foram de 2,6; 3,1; 2,9 e 2,7 g m^{-2} (CV% = 17,2), respectivamente para BR1, BR2, BR3 e BR4, sendo que não houve diferença em função dos tratamentos ($p > 0,05$). O maior valor de estoque de CBM foi encontrado em BR3, e o maior valor de NBM em BR2 (Figura 5).

Na Usina Univalem, os valores do estoque de CBM do solo na camada 0-10 cm não diferiram em função dos tratamentos ($p > 0,05$), os valores encontrados foram de 24,4; 24,3; 29,6 e 30,4 (CV% = 14,7), respectivamente para UV1, UV2, UV3 e UV4. Os valores do estoque de NBM foram de 1,2; 1,4; 2,3 e 2,5 (CV% = 25,6), respectivamente para UV1, UV2, UV3 e UV4, sendo que o valor do estoque de NBM do solo no tratamento UV1 foi duas vezes menor comparado ao tratamento UV5, acompanhando a redução observada no teor de NBM (Figura 5).

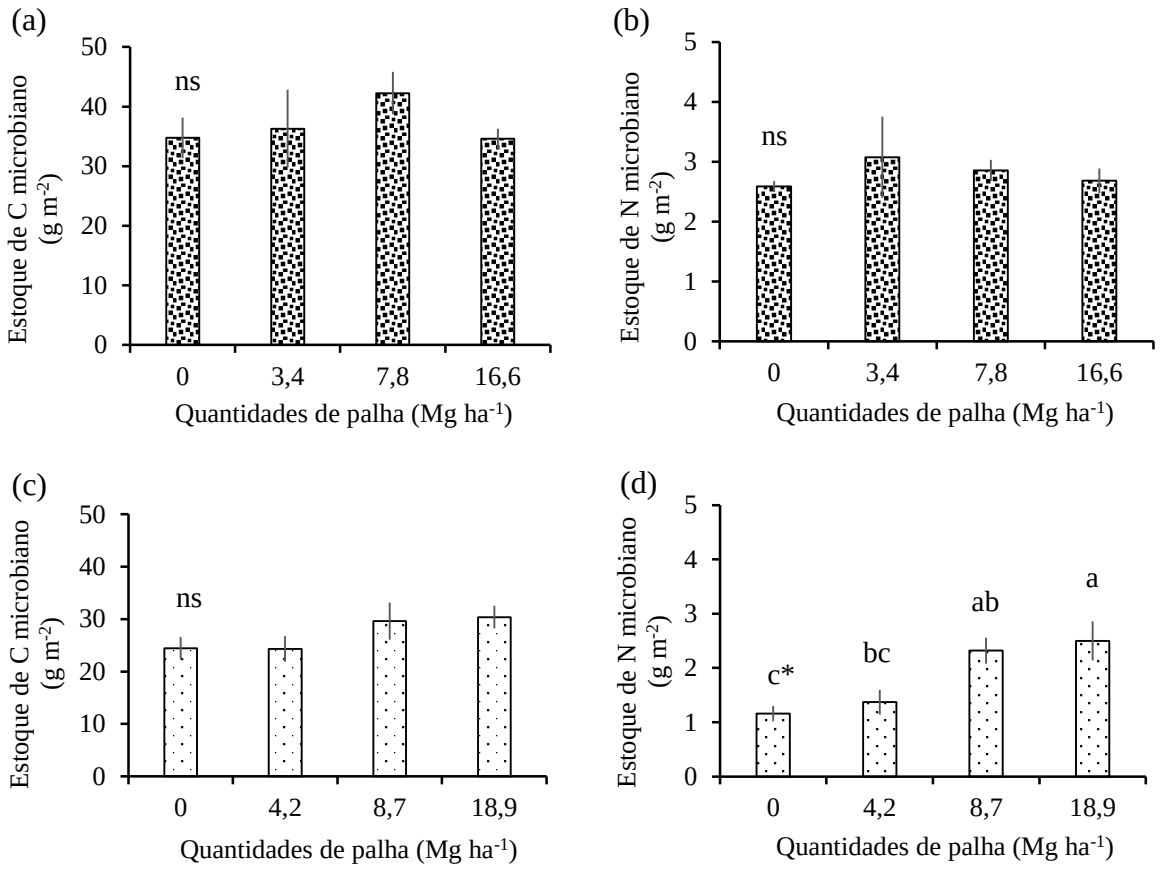

Figura 5 – Estoques de carbono e nitrogênio microbiano do solo sob cultivo de cana-de-açúcar em função das quantidades de palha obtidos na primeira amostragem, na camada 0-10 cm, (a) Estoque de C microbiano em Bom Retiro, (b) Estoque de N microbiano em Bom Retiro, (c) Estoque de C microbiano em Univalem, (d) Estoque de N microbiano em Univalem. * Média (n=4) ± erro padrão. Médias de mesma letra não diferem dentro de cada gráfico (Tukey 5%); ns = não significativo

A fração do C_L que corresponde ao C_T do solo (C_L:C) em Bom Retiro apresentou uma variação de 3,7 a 4,1%, e a fração do C microbiano que corresponde ao C_L (CBM:C_L) variou de 44,9 a 51,0%. Em Univalem, a fração C_L que corresponde ao C_T do solo apresentou variação de 5,8 a 7,6%, e a fração do C microbiano que corresponde ao C_L variou de 43,3 a 56,7%, sendo que não houve diferença entre os tratamentos ($p < 0,05$) (Tabela 10).

Na Usina Bom Retiro, os valores de CBM:C_T foram de 1,8 a 2,1 %, os valores de NBM:N_T foram de 3,0 a 4,0 % e, os valores da relação CBM:NBM foram de 12,2 a 15,0. Na Usina Univalem, os valores de CBM:C_T foram de 2,9 a 3,7 %, os valores de NBM:N_T foram de 1,4 a 3,9 %, e os valores da relação CBM:NBM foram de 12,3 a 21,3. A relação NBM:N_T no tratamento UV1 apresentou valor quase três vezes menor comparado ao tratamento UV4, e acompanhando esta redução, a relação C:N microbiana do tratamento UV1 foi 66% maior em relação ao tratamento UV4 (Tabela 10).

Tabela 10 – Valores das relações carbono lábil:carbono total (C_L:C_T), carbono da biomassa microbiana:carbono lábil (CBM:C_L), relações CBM:C_T, NBM:N_T e C:N microbiana (CBM:NBM) do solo sob cultivo de cana-de-açúcar em função das quantidades de palha obtidos na primeira amostragem, na camada 0-10 cm, nas Usinas Bom Retiro e Univalem

Tratamentos	C_L:C_T	CBM:C_L	CBM:C_T	NBM:N_T	CBM:NBM
	---------- % ----------				
Bom Retiro					
BR1 (0)	3,8 ± 0,4 ns	47,4 ± 5,8 ns	1,8 ± 0,4 ns	3,8 ± 0,4ns	13,4 ± 6,8 ns
BR2 (3,4)	4,1 ± 0,9	44,9 ± 7,2	1,9 ± 0,7	4,0 ± 1,3	12,2 ± 13,0
BR3 (7,8)	4,1 ± 0,3	51,0 ± 4,3	2,1 ± 0,3	3,0 ± 0,4	15,0 ± 7,1
BR4 (16,6)	3,7 ± 0,3	48,8 ± 4,5	1,8 ± 0,2	3,3 ± 1,2	13,0 ± 3,4
dms	1,0	12,6	0,9	4,2	5,3
CV%	12,0	11,9	22,5	56,1	18
Univalem					
UV1 (0)	7,2 ± 0,8 a*	43,3 ± 6,5 ns	3,1 ± 0,6 ns	1,4 ± 0,3 b	21,3 ± 4,3 a
UV2 (4,2)	5,8 ± 1,7 a	56,7 ± 33,5	2,9 ± 0,6	1,9 ± 0,2 b	18,7 ± 4,9 a
UV3 (8,7)	7,6 ± 1,1 a	47,3 ± 7,9	3,7 ± 1,1	3,5 ± 0,4 a	12,3 ± 7,1 b
UV4 (18,9)	7,0 ± 0,9 a	50,5 ± 4,3	3,5 ± 0,6	3,9 ± 1,3 a	12,8 ± 4,3 b
dms	2,2	37,9	4,4	1,3	7,7
CV%	15,3	34,8	19,6	21,4	21,3

* Média (n=4) ± desvio padrão. Médias de mesma letra nas colunas não diferem dentro de cada local (Tukey 5%); ns = não significativo; dms = diferença mínima significativa; CV% = coeficiente de variação

4.1.3 Quantificação de genes microbianos no solo

Na primeira amostragem na usina de Bom Retiro, o número de cópias do gene 16S de bactéria oscilou entre $3,78 \times 10^9$ e $1,10 \times 10^{10}$ por grama de solo obtidas na camada 0-5 cm do solo, apresentando maior abundância quando não houve remoção de palha (BR4). Na camada 5-10 cm de profundidade do solo a abundância do gene 16S de Bactéria oscilou entre $2,37 \times 10^9$ e $9,27 \times 10^9$ por grama de solo, sem efeito significativo em função da remoção de palha. Na usina Univalem, o número de cópias do gene 16S de bactéria foi significativamente maior quando deixado a palha sobre o solo, comparado ao solo onde a palha foi totalmente removida obtidos na camada 0-5 cm. Porém o número de cópias do gene 16S de bactéria não sofreu alteração na camada 5 -10 cm do solo (Figura 6A).

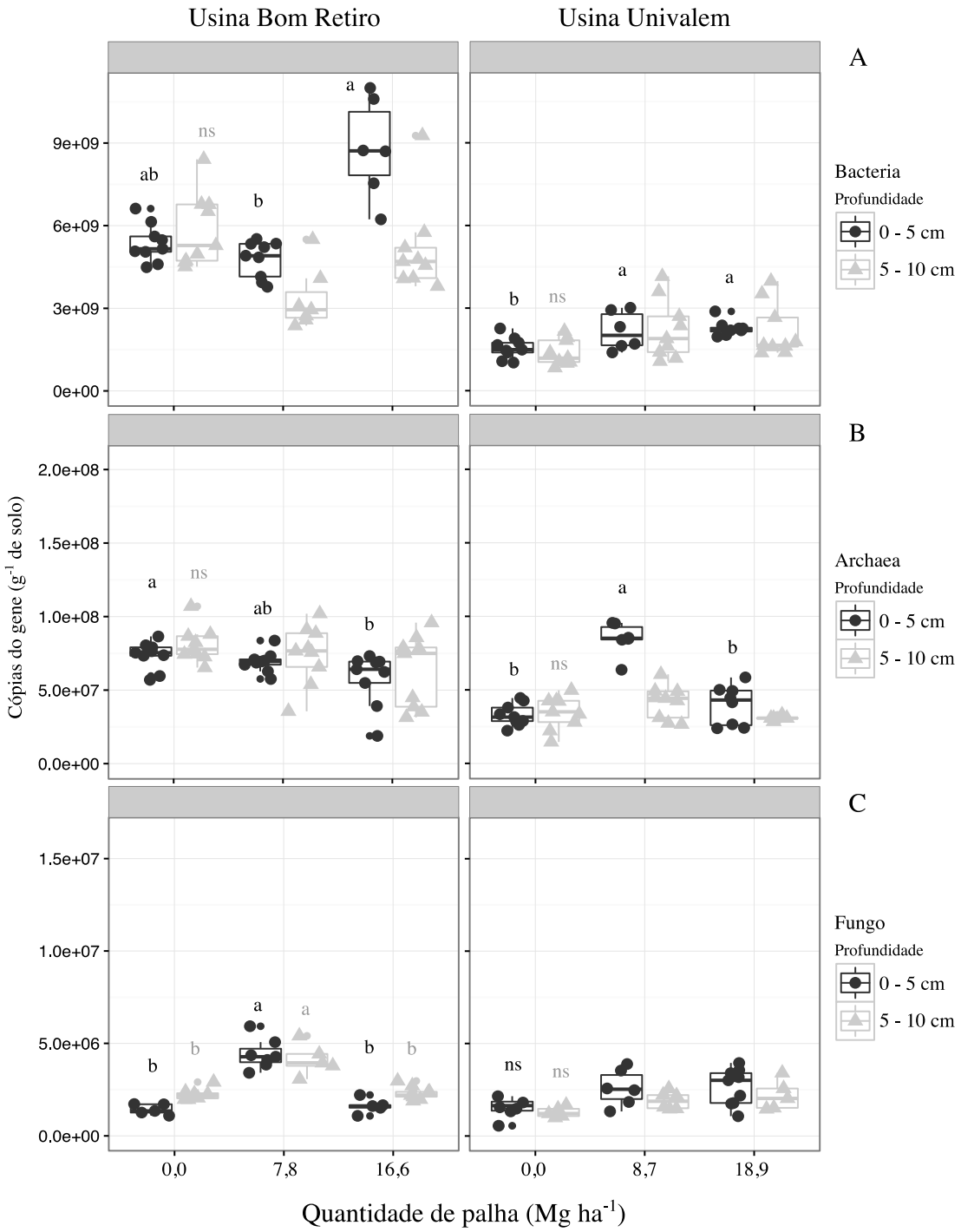

Figura 6 – Box-plot do número de cópias de Bactéria (A), Archaea (B) e Fungo (C) no solo sob cultivo de cana-de-açúcar em função das quantidades de palha obtidos na primeira amostragem, nas camadas 0-5 cm e 5-10 cm, nas Usinas Bom Retiro e Univalem. Médias da mesma cor e letra não diferem dentro de cada gráfico para os tratamentos (Tukey 5%); ns = não significativo

Na Usina Bom Retiro, o número de cópias do gene 16S de Archaea encontrado na camada 0-5 cm do solo oscilou entre $1,87 \times 10^7$ e $8,65 \times 10^7$ por g de solo^{-1} entre os tratamentos BR1, BR3 e BR4. Já na camada 0-10 cm, não foi observado efeito significativo ($p < 0,05$) em função dos tratamentos (Figura 6B). Resultado semelhante foi encontrado na Usina Univalem, onde foi observado maior abundância de Archaea na presença de maior quantidade de palha (UV3), porém sem efeito significativo ($p < 0,05$), para os tratamentos UV1 e UV4 (Figura 6B) na camada 0-5 m.

Em termos de fungos, na usina Bom Retiro, a abundância de cópias do gene 18S de fungos na camada 0-5 cm do solo foi de $1,08 \times 10^6$ e $5,93 \times 10^6$ por g de solo^{-1} obtidas, e na camada 5-10 cm, $1,89 \times 10^6$ e $5,41 \times 10^6$ por g de solo^{-1} obtidas, apresentando efeito significativo ($p < 0,05$) em função da quantidade de palha sobre o solo para ambas camadas. A maior abundância foi encontrada no tratamento BR3 nas camadas 0-5 e 5-10 cm do solo (Figura 6C). Na Usina Univalem, nenhum efeito significativo ($p < 0,05$) foi encontrado (Figura 6C).

4.2. Resultados da segunda amostragem – efeito das quantidades remanescentes de palha

Nesta segunda amostragem foram coletados os tratamentos com as seguintes quantidades de palha após a deposição de palha sobre palha: BR1 (0 Mg ha^{-1}), BR3 (9,4 Mg ha^{-1}) e BR4 (18,6 Mg ha^{-1}) na Usina Bom Retiro, e UV1 (0 Mg ha^{-1}), UV3 (13,4 Mg ha^{-1}) e UV4 (20,1 Mg ha^{-1}) na Usina Univalem. Serão apresentados os resultados de carbono total (C_T), nitrogênio total (N_T), carbono da biomassa microbiana (CBM), nitrogênio da biomassa microbiana (NBM), respiração basal (RB) e quociente metabólico (qCO_2) da palha. E, serão apresentados os resultados de carbono total (C_T), nitrogênio total (N_T), e seus estoques do solo, carbono lábil (C_L), carbono da biomassa microbiana (CBM) e nitrogênio da biomassa microbiana (NBM) e seus estoques, respiração basal (RB) e quociente metabólico (qCO_2) nas camadas 0-5 e 5-10 cm do solo. Ainda serão apresentados resultados do número de cópias de Bacteria, Archaea e Fungo da comunidade microbiana do solo nas camadas 0-5 e 5-10 cm.

4.2.1 C_T e N_T na palha remanescente no solo

Após quatro meses de deposição de palha nova sobre palha remanescente no solo, as quantidades de palha em massa de matéria seca verificadas na segunda amostragem foram de 5,4 e 8,2 Mg ha^{-1}, respectivamente nos tratamentos BR3 e BR4. E, em Univalem as quantidades de palha foram de 7,1 e 12,3 Mg ha^{-1}, respectivamente nos tratamentos UV3 e UV4. Os teores de carbono e nitrogênio na palha não apresentaram diferença em função do tempo de decomposição ($p > 0,05$) e, em Bom Retiro foram de 46 % de C e 0,7% de N com uma relação C:N de 63,0 enquanto que para Univalem apresentou 45% de C; 0,7% de N e relação C:N de 60,6. As quantidades remanescente de C_T e N_T na palha em cada tratamento estão apresentados abaixo (Tabela 11).

Na Usina Bom Retiro na segunda amostragem, os teores C e N totais na palha foram respectivamente, 0,7% e 17% maiores do que os teores encontrados na primeira amostragem. Na Usina Univalem, os teores de C e N totais na palha foram respectivamente, 0,4% menor e 17% maior do que os teores encontrados na primeira amostragem, isto pode ser explicado pela palha proveniente da segunda colheita ser mais "fresca" - composta de ponteiros e folhas verdes - em relação à palha que permaneceu por um ano no campo sofrendo ação dos agentes decompositores. A deposição de palha nova adicionada ao material que já estava remanescente no solo proporcionou um aumento destes elementos no material.

Tabela 11 - Teores de C total (C_T), N total (N_T) na palha de cana-de-açúcar em função das quantidades, na segunda amostragem nas Usinas Bom Retiro e Univalem

Tratamentos	**C_T**	**N_T**
	---------- Mg ha^{-1} ----------	
Bom Retiro		
BR3 (9,4)	2,50	0,039
BR4 (18,6)	3,79	0,060
Univalem		
UV3 (13,4)	3,25	0,053
UV4 (20,1)	5,61	0,092

Na Usina Bom Retiro os teores obtidos de carbono microbiano (CBM) e nitrogênio microbiano (NBM) na palha não apresentaram diferença em função das quantidades de palha ($p > 0,05$), apesar disso, o tratamento BR3 apresentou CBM 94% e NBM 63% menores comparado ao tratamento BR4 (Tabela 12). Também não houve diferença nos valores médios das relações CBM:C_T e NBM:N_T na palha em função das diferentes quantidades, e os menores valores destas relações foram encontrados nos tratamentos com menor aporte de

material. A média dos valores da relação CBM:NBM foi semelhante entre as quantidades de palha, e seu baixo valor pode indicar a prevalência de grupos de bactérias no período da amostragem.

Quanto à respiração basal (RB), o dióxido de carbono ($C\text{-}CO_2$) evoluído proveniente da palha não apresentou diferença em função dos tratamentos, e o menor valor de emissão foi encontrado no tratamento BR3, que pode estar relacionada com a menor massa de material disponível para a decomposição, além da menor quantidade microrganismos. Com isso, o quociente metabólico (qCO_2) apresentou um valor 17% maior no tratamento BR3 comparado ao tratamento BR4 (Tabela 12).

Na Usina Univalem houve diferença significativa em função das remoções de palha nos valores de CBM e NBM, assim como para as relações CBM:C_T, NBM:N_T e CBM:NBM na palha ($p < 0,05$). No tratamento UV3 foi encontrada uma redução de 39% e 33%, respectivamente para o CBM e NBM em relação ao tratamento UV4. Foi observada que UV3 apresentou redução de 37%, 33% e 5% respectivamente nos valores das relações CBM:C_T, NBM:N_T e C:N microbiana comparado ao tratamento UV4.

Tabela 12 - Teores de carbono da biomassa microbiana (CBM) e nitrogênio da biomassa microbiana (NBM), relações CBM:C_T, NBM:N_T e C:N microbiana, respiração basal (RB) e quociente metabólico (qCO_2 = quantidade de C-CO_2 evoluído por unidade de C-microbiano por dia) na palha de cana-de-açúcar em função das quantidades na segunda amostragem nas Usina Bom Retiro e Univalem

Tratamentos	CBM	NBM	CBM:C_T	NBM:N_T	CBM:NBM	RB C-CO_2 mg kg^{-1} d^{-1}	qCO_2 mg CO_2 mg CBM^{-1} d^{-1}
	---------- mg g^{-1} ----------		---------- % ----------				
Bom Retiro							
BR3 (9,4)	79,2 ± 27,9 ns	12,0 ± 5,7 ns	1,7 ± 0,6 ns	17,2 ± 8,2 ns	7,0 ± 2,2 ns	1726,4 ± 557,4 ns	0,177
BR4 (18,6)	153,9 ± 82,8	19,6 ± 8,8	3,4 ± 1,8	28,0 ± 12,6	7,7 ± 1,0	2329,3 ± 539,3	0,151
dms	169,8	19,9	4,0	27,9	4,7	1471,6	
CV%	64,7	55,9	64,6	55,8	28,5	32,2	
Univalem							
UV3 (13,4)	70,8 ± 26,7 b	4,0 ± 1,3 b	1,6 ± 0,6 b	5,7 ± 1,9 b	17,5 ± 1,1 b	121,2 ± 72,5 ns	0,017
UV4 (20,1)	98,7 ± 26,8 a	5,3 ± 1,1 a	2,2 ± 0,6 a	7,6 ± 1,7 a	18,4 ± 1,1 a	788,0 ± 1008,8	0,080
dms	16,0	1,1	0,45	4,0	0,6	1498,5	
CV%	8,4	10,2	8,3	10,2	1,4	146,5	

CBM:C_T: relação C-microbiano: C total da palha; NBM:N_T: relação N microbiano: N total da palha; CBM: NBM: relação C: N microbiana. Média (n=4) ± desvio padrão. Médias de mesma letra nas colunas não diferem dentro de cada local (Tukey 5%); ns = não significativo; dms= diferença mínima significativa; CV% = coeficiente de variação

Nos valores da relação NBM:N_T não foi encontrada diferença significativa em função das quantidades de palha (p > 0,05). Assim como observado na Usina Bom Retiro, os resultados obtidos em Univalem indicam que a redução da quantidade de palha causou redução no CBM e NBM na palha, e os baixos valores das relações CBM:C_T, NBM:N_T e CBM:NBM podem sugerir que a imobilização de C e N não foi favorecida pelo baixo aporte de palha. Os valores de RB na palha e do quociente metabólico foram maiores no tratamento com maior aporte de palha (UV4) em relação ao UV3. O qCO_2 em UV3 apresentou valor 4,7 vezes inferior comparado ao UV4 (Tabela 12).

De maneira geral, os resultados de biomassa microbiana mostraram que houve uma tendência de aumento numérico nos teores de C e N microbiano em função da remoção de menores quantidades de palha, indicando que a presença de microrganismos na palha pode ser otimizada pelo aporte de material sobre o solo, contudo, não foram encontradas diferenças estatísticas (p > 0,05), isto pode ter ocorrido devido a elevada variabilidade encontrada dentro dos tratamentos, consequentemente, elevado coeficiente de variação (CV%).

4.2.2 Efeito da remoção de quantidades de palha sobre o carbono e nitrogênio no solo

Na segunda amostragem, as umidades obtidas na camada 0-5 cm do solo foram: 14%, 17,5%, 20,2% na camada 0-5 cm do solo; e 15,3%, 17,4% e 16,7% na camada 0-5 cm do solo, respectivamente para os tratamentos BR1, BR3 e BR4. Em Univalem as umidades foram 16,9%, 14,3% e 12,7% na camada 0-5 cm do solo e, 14,5%, 15,3% e 16,5% na camada 5-10 cm do solo, respectivamente para os tratamentos UV1, UV3 e UV4.

Na Usina Bom Retiro com relação aos valores de C_T e N_T no solo, houve diferenças significativas em função das quantidades de palha apenas nos valores de N_T e da relação C:N na camada 0-5 cm (p < 0,05), sendo que o teor de N_T no tratamento BR1 foi 57% menor comparado ao tratamento BR4, e a relação C:N foi aproximadamente 1,3 vezes menor no tratamento BR1 comparado ao tratamento BR4. Já para a camada 5-10 cm do solo, não foram observadas diferenças significativas (p > 0,05) para o C_T, N_T e na relação C:N em função da remoção de quantidades de palha (Tabela 13). Na Usina Univalem, houve diferença em função das quantidades de palha apenas no valor de C_T no solo na camada 0-5 cm (p < 0,05), sendo que o tratamento UV1 apresentou teor de C 19% menor comparado ao tratamento UV4 (Tabela 13).

Tabela 13 – Teores de C total (C_T), N total (N_T) e relação C:N no solo sob cultivo de cana-de-açúcar em função das quantidades de palha obtidos na segunda amostragem, nas camadas 0-5; 5-10 cm na Usinas Bom Retiro e Univalem

Tratamento	C_T	N_T	C:N
	---------- g kg^{-1} ----------		
		0-5 cm	
Bom Retiro			
BR1 (0)	12,3 ± 0,4 ^{ns}	0,7 ± 0,1 ^{ns}	16,9 ± 3,2 a
BR3 (9,4)	13,0 ± 0,7	0,8 ± 0,1	16,6 ± 2,2 ba
BR5 (18,6)	14,7 ± 2,5	1,1 ± 0,2	13,4 ± 1,0 b
dms	3,5	0,3	3,4
CV%	12,2	14,0	10,1
Univalem			
UV1 (0)	5,8 ± 0,6 ^{ns}	0,4 ± 0,1 ^{ns}	13,8 ± 1,1 ^{ns}
UV3 (13,4)	5,4 ± 0,5	0,3 ± 0,1	17,6 ± 5,2
UV5 (20,1)	6,9 ± 0,3	0,4 ± 0,1	20,5 ± 4,5
dms	0,9	0,2	7,7
CV%	7,2	23,6	20,7
		5-10 cm	
Bom Retiro			
BR1 (0)	11,6 ± 0,5 ^{ns}	0,8 ± 0,1 ^{ns}	15,0 ± 2,0 ^{ns}
BR3 (9,4)	12,5 ± 0,9	0,8 ± 0,3	17,8 ± 9,0
BR5 (18,6)	12,5 ± 0,1	0,9 ± 0,0	13,9 ± 1,5
dms	1,6	0,4	12,1
CV%	6,0	23,5	35,7
Univalem			
UV1 (0)	5,9 ± 1,0 ^{ns}	0,4 ± 0,1 ^{ns}	16,9 ± 1,4 ^{ns}
UV3 (13,4)	7,0 ± 1,5	0,4 ± 0,1	18,3 ± 2,3
UV5 (20,1)	5,0 ± 0,4	0,3 ± 0,1	19,5 ± 6,2
dms	2,2	0,2	8,5
CV%	17,0	21,8	21,49

Média (n=4) ± desvio padrão. Médias de mesma letra nas colunas não diferem dentro de cada local e camada (Tukey 5%). ns = não significativo. dms= diferença mínima significativa. CV% = coeficiente de variação

Na Usina Bom Retiro não houve diferenças significativas em função dos tratamentos nos valores de estoque de C_T do solo ($p > 0,05$). Os valores médios do estoque de C_T do solo na camada 0-5 cm foram de 0,81; 0,86 e 0,97 kg C m^{-2} (CV% = 12,1), respectivamente nos tratamentos BR1, BR3 e BR4. E, para a camada 5-10 cm os valores foram de 0,76 kg C m^{-2} em BR1 e em 0,82 kg C m^{-2} (CV% = 6,0) em BR3 e BR4. Os valores do estoque de N_T do solo não apresentaram diferença significativa em função da remoção de quantidades de palha na camada 0-5 cm ($p < 0,05$). Na camada 0-5 cm os teores verificados foram de 0,05 kg N m^{-2} em BR1 e BR3 e 0,06 kg N m^{-2} (CV% = 13,2) em BR4. E, na camada 5-10 cm os estoques de N_T do solo foram de 0,05 kg N m^{-2} em BR1 e BR3 e 0,06 kg N m^{-2} (CV% = 23,0) (Figura 7).

Na Usina Univalem, não houve diferença em função da remoção de quantidades de palha nos valores do estoque de C_T do solo na camada 0-5 cm ($p < 0,05$). Os valores de estoque de C_T do solo encontrados foram de 0,45; 0,40 e 0,51 kg C m^{-2} (CV% = 7,0) na

camada 0-5 cm e foram de 0,44; 0,53 e 0,38 kg C m^{-2} (CV% = 17,0) na camada 5-10 cm, respectivamente nos tratamentos UV1, UV3 e U45, sendo que na camada 0-5 cm o tratamento UV1 apresentou valor de estoque de C_T 17% menor comparado ao tratamento UV4. Os valores médios do estoque de N_T do solo foram de 0,03; 0,02 e 0,03 kg N m^{-2} (CV% = 21,6) na camada 0-5 cm, e foram de 0,03; 0,03 e 0,02 kg N m^{-2} (CV% = 21,6) na camada 5-10 cm, respectivamente nos tratamentos UV1, UV3 e UV4, não foi encontrada diferença significativas ($p > 0,05$) em função dos tratamentos (Figura 7).

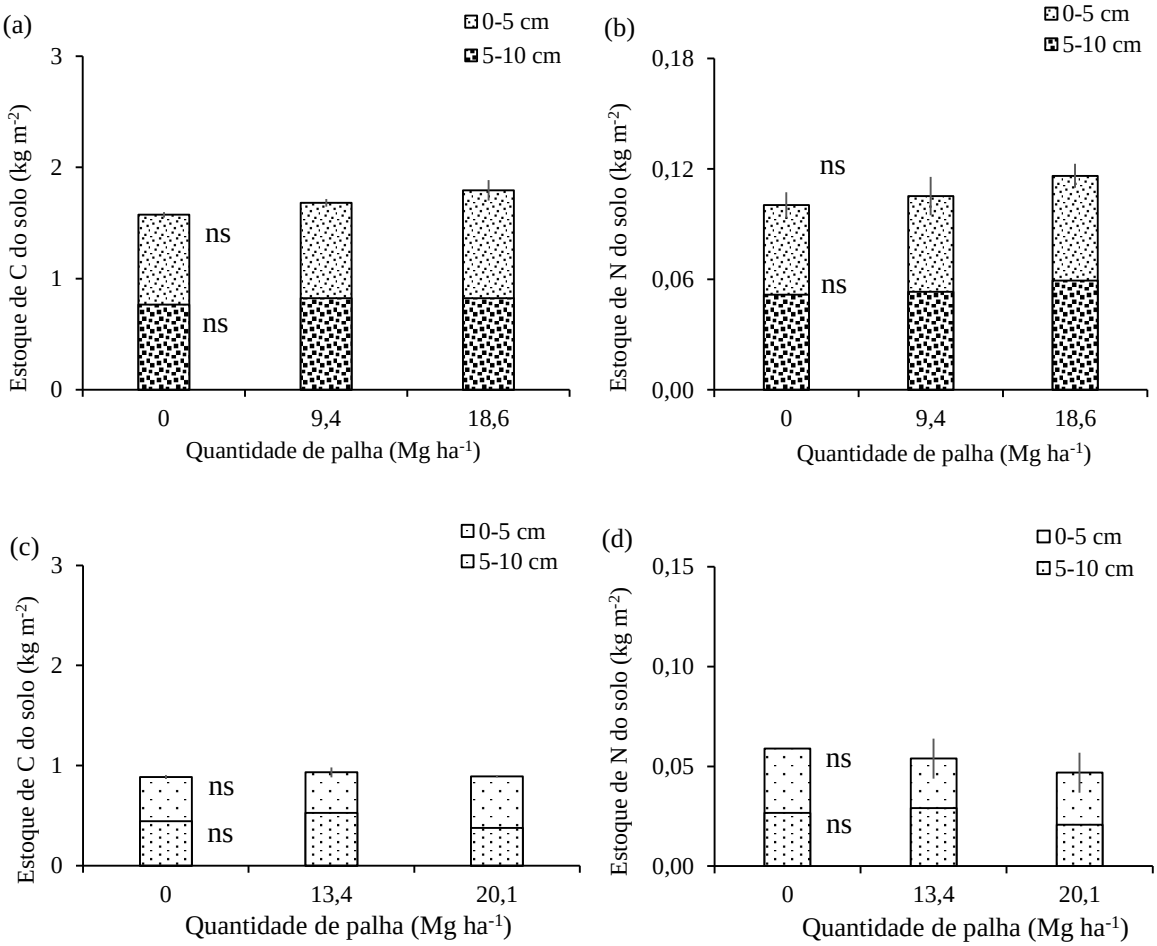

Figura 7 – Estoques de carbono e nitrogênio totais do solo sob cultivo de cana-de-açúcar em função das quantidades de palha obtidos na segunda amostragem, nas camadas 0-5 cm e 5-10 cm, (a) Estoque de C do solo em Bom Retiro, (b) Estoque de N do solo em Bom Retiro, (c) Estoque de C do solo em Univalem, (d) Estoque de N do solo em Univalem. Média (n=4) ± erro padrão para as camadas 0-5 e 5-10 cm. Médias de mesma letra não diferem dentro de cada gráfico (Tukey 5%); ns = não significativo

Em Bom Retiro os valores C_L não apresentaram diferença em função dos tratamentos ($p > 0,05$). Na camada 0-5 cm o menor valor de C_L foi encontrado em BR3, e o maior, em BR4. Na camada 5-10 cm os valores foram semelhantes entre os tratamentos (Tabela 14).

Também não houve diferença em função da remoção de quantidades de palha nos valores de teor de C e N microbiano no solo encontrados nas camadas 0-5 e 5-10 cm ($p > 0,05$). Na camada 0-5 cm, o menor valor de CBM foi encontrado em BR1 e o maior valor foi encontrado no tratamento BR3, para o NBM, o menor valor foi encontrado em BR1 e o maior, em BR4. Estes resultados indicaram que a remoção de menores quantidades de palha pode favorecer o incremento da biomassa microbiana no solo superficialmente. Na camada 5-10 cm do solo, os maiores valores de C e N microbiano foram encontrados no tratamento BR1 (Tabela 14).

Tabela 14 - Teores de carbono lábil (C_L), carbono da biomassa microbiana (CBM) e nitrogênio da biomassa microbiana (NBM) no solo sob cultivo de cana-de-açúcar em função das quantidades de palha obtidos na segunda amostragem, nas camadas 0-5, 5-10 cm, nas Usinas Bom Retiro e Univalem

Tratamentos	**C_L**	**CBM**	**NBM**
	----------	**µg g^{-1}**	----------
		0-5 cm	
Bom Retiro			
BR1 (0)	485,1 ± 49,0 ^{ns}	124,0 ± 55,2 ^{ns}	15,7 ± 1,9 ^{ns}
BR3 (9,4)	473,2 ± 54,0	153,6 ± 68,0	16,9 ± 4,9
BR4 (18,6)	511,6 ± 33,1	142,7 ± 10,6	17,3 ± 4,1
dms	45,0	81,0	9,7
CV%	9,2	26,7	26,9
Univalem			
UV1 (0)	387,1 ± 179,2 b	214,1 ± 59,7 b*	13,2 ± 0,8 ^{ns}
UV3 (13,4)	448,1 ± 204,8 b	290,9 ± 33,3 ab	14,9 ± 2,7
UV4 (20,1)	618,6 ± 315,2 a	453,3 ± 37,9 a	16,2 ± 4,9
dms	92,1	203,85	7,1
CV%	19,9	29,4	22,2
		5-10 cm	
Bom Retiro			
BR1 (0)	499,3 ± 59,1 ^{ns}	118,1 ± 69,6 ^{ns}	14,4 ± 7,3 ^{ns}
BR3 (9,4)	463,9 ± 67,6	84,8 ± 40,2	11,2 ± 3,4
BR4 (18,6)	478,4 ± 104,0	72,9 ± 36,5	6,5 ± 2,7
dms	40,8	122,6	10,1
CV%	8,5	61,5	43,4
Univalem			
UV1 (0)	351,5 ± 159,5 ^{ns}	196,3 ± 13,2 ^{ns}	8,0 ± 0,2 ^{ns}
UV3 (13,4)	396,7 ± 185,3	228,6 ± 61,4	7,7 ± 2,8
UV4 (20,1)	403,5 ± 182,2	229,1 ± 57,5	6,4 ± 4,2
dms	130,3	109,3	5,8
CV%	34,1	23,1	36,2

Média (n=4) ± desvio padrão. Médias de mesma letra nas colunas não diferem dentro de cada local e camada (Tukey 5%). ns = não significativo. dms= diferença mínima significativa. CV% = coeficiente de variação

Na Usina Univalem houve diferenças significativas nos valores de C_L em função da remoção de palha para a camada 0-5 cm do solo ($p < 0,05$), sendo que o tratamento UV1 apresentou valor 58% menor comparado ao tratamento UV4. Na camada 5-10 cm o menor

valor de C_L foi encontrado em UV1 e o maior em UV4, mesmo sem diferença estatística significativa ($p > 0,05$). Com relação à BMS, foi verificada diferença significativa em função dos tratamentos apenas para o valore de CBM no solo na camada 0-5 cm ($p < 0,05$), sendo que o C microbiano encontrado no tratamento com a menor porcentagem de remoção da palha (UV4) apresentou valor duas vezes maior ao encontrado no tratamento com 100% de remoção da palha (UV1) (Tabela 14).

Os resultados encontrados podem indicar que as frações mais facilmente oxidáveis do C podem ser mais responsivas em solos mais arenosos comparado a solos mais argilosos, por serem frações sensíveis à alterações de manejo. Além disso, nesta amostragem foi observado que na Usina Univalem o efeito da deposição de palha sobre palha sobre a BMS mostrou ser mais expressivo em relação aos resultados obtidos com um ano de deposição da palha, com um aumento médio de 186% no C microbiano e de 120% no N microbiano.

Os valores do estoque de C_L do solo em Bom Retiro foram de 32,0; 31,2 e 33,8 g m^{-2} (CV% = 9,2) na camada 0-5 cm e foram de 33,0; 30,6 e 31,6 g m^{-2} (CV% = 8,5) na camada 5-10 cm do solo, respectivamente para os tratamentos BR1, BR3 e BR4. Em Univalem os valores do estoque de C_L do solo foram de 29,2; 33,8 e 46,7 g m^{-2} (CV% = 19,9) na camada 0-5 cm e foram de 26,5; 30,0 e 30,5 g m^{-2} (CV% = 12,5) na camada 5-10 cm, respectivamente para os tratamentos UV1, UV2 e UV4. O estoque de C_L do solo na camada 0-5 cm em UV1 apresentou valor 60% menor em relação ao encontrado no UV4 (Figura 8).

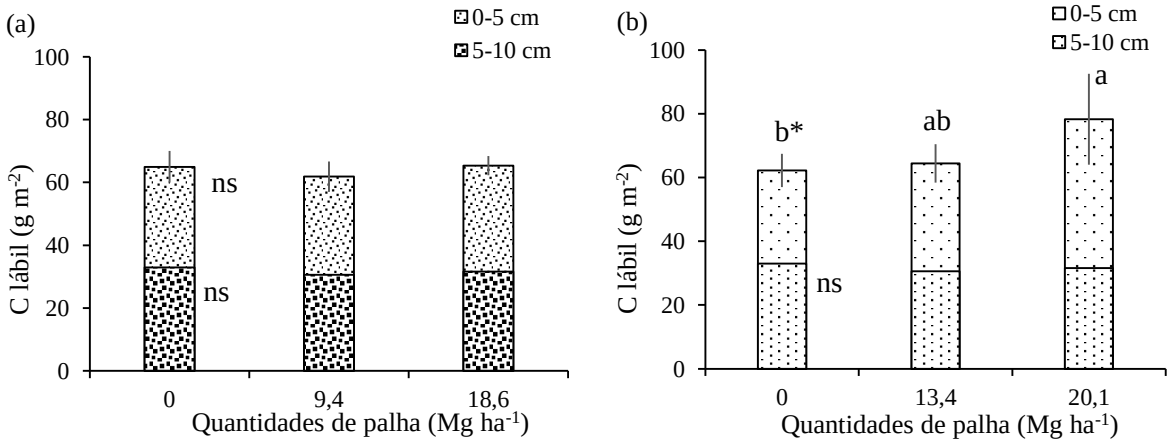

Figura 8 – Estoques de carbono lábil do solo sob cultivo de cana-de-açúcar em função das quantidades de palha obtidos na segunda amostragem, nas camadas 0-5 cm e 5-10, (a) Estoque de C lábil do solo em Bom Retiro, (b) Estoque de C lábil do solo em Univalem. *[1] Média (n=4) ± erro padrão para a camada 0-10 cm. Médias de mesma letra não diferem dentro de cada gráfico (Tukey 5%); ns = não significativo

Após quatro meses de deposição de palha sobre palha, na Usina Bom Retiro os valores do estoque de C microbiano do solo não diferiram significativamente em função da remoção de quantidades de palha ($p > 0,05$). Na camada 0-5 cm os valores do estoque de C microbiano no solo foram de 8,2; 10,1 e 9,4 g C m^{-2} (CV% = 26,7) e na camada 5-10 cm foram de 7,8; 5,6 e 4,8 g C m^{-2} (CV% = 61,5), respectivamente em BR1, BR3 e BR4. Os valores do estoque de N microbiano no solo foi de 1,0 g N m^{-2} (CV% = 27,0) em BR1 e foi de 1,1 g N m^{-2} em BR3 e BR4, na camada 0-5 cm, e foram de 1,0; 0,7 e 0,4 g N m^{-2} (CV% = 43,5), respectivamente em BR1, BR3 e BR5 na camada 5-10 cm (Figura 9).

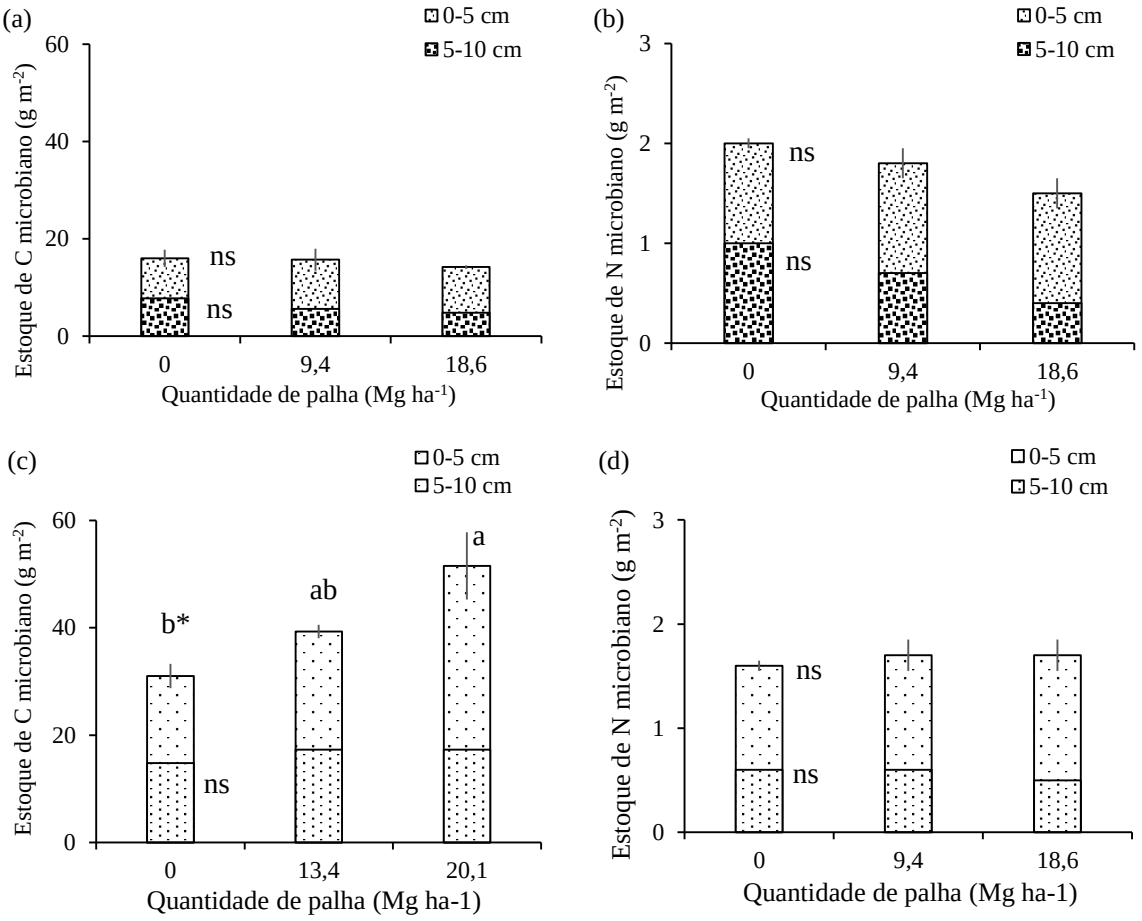

Figura 9 – Estoques de carbono e nitrogênio microbiano do solo sob cultivo de cana-de-açúcar em função das quantidades de palha obtidos na segunda amostragem, nas camadas 0-5 cm e 5-10 cm, (a) Estoque de C microbiano do solo em Bom Retiro, (b) Estoque de N microbiano do solo em Bom Retiro, (c) Estoque de C microbiano do solo em Univalem, (d) Estoque de N microbiano do solo em Univalem. *[1] Média (n=4) ± erro padrão para a camada 0-10 cm. Médias de mesma letra não diferem dentro de cada gráfico (Tukey 5%); ns = não significativo

Na Usina Univalem houve diferenças significativas em função dos tratamentos nos valores de estoque de C microbiano no solo na camada 0-5 cm ($p < 0,05$), os valores médios foram de 16,2, 22,0 e 34,2 g C m^{-2} (CV% = 29,4), sendo que o tratamento UV1 apresentou valor metade do valor comparado ao UV4. Na camada 5-10 cm, os valores médios do estoque de C microbiano foi de 14,8 g C m^{-2} em UV1 e de 17,3 g C m^{-2} (CV% = 61,5) em UV3 e UV4. Os valores de estoque de N microbiano na camada 0-5 cm foram de 1,0, 1,1 e 1,2 g N m^{-2} (CV% = 22,3), respectivamente em UV1, UV3 e UV4, e foram de 0,6 g N m^{-2} em UV1 e UV3 e 0,5 g N m^{-2} (CV% = 36,3) em UV4 na camada 5-10 cm (Figura 9C-D).

Em Bom Retiro não houve diferença em função das quantidades de palha nos valores das relações CBM:C_L e CBM:C_T nas camadas 0-5 e 5-10 cm ($p > 0,05$). Na camada 5-10 cm do solo, o valor da relação NBM:N_T encontrado no tratamento BR1 foi 2,6 vezes maior comparado ao tratamento BR4. Nas camadas 0-5 e 5-10 cm, a respiração basal em C-CO_2 evoluído do solo apresentou menor valor em BR3 e maior valor em BR4. Quanto ao qCO_2, na camada 0-5 cm o menor valor foi encontrado em BR3 e o maior em BR4, já na camada 5-10 cm, o menor valor de qCO_2 foi encontrado em BR1 e o maior em BR4 (Tabela 15).

Em Univalem na camada 0-5 cm do solo, houve diferença significativas em função dos tratamentos nos valores de CBM:C_L, CBM:C_T e CBM:NBM ($p < 0,05$). A relação C_L:C_T apresentou maior valor em UV1. Na camada 0-5 cm do solo, a relação CBM:NBM foi aproximadamente 1,7 vezes menor no tratamento UV1 em relação UV4 (Tabela 15).

Tabela 15 - Valores das relações carbono lábil: carbono total (C_L:C_T), carbono da biomassa microbiana: carbono total (CBM:C_L), carbono da biomassa microbiana: carbono total (CBM:C_T), nitrogênio da biomassa microbiana: nitrogênio total (NBM:N_T) e carbono da biomassa microbiana: nitrogênio da biomassa microbiana (CBM:NBM), respiração basal (RB) e quociente metabólico (qCO_2 = quantidade de C-CO_2 evoluído por unidade de C-microbiano por dia) no solo sob cultivo de cana-de-açúcar em função das quantidades de palha obtidos na segunda amostragem, nas camada 0-5, 5-10 cm, nas Usina Bom Retiro e Univalem

Tratamentos	C_L:C_T	CBM:C_L	CBM:C_T	NBM:N_T	CBM:NBM	RB C-CO_2 mg kg^{-1} d^{-1}	qCO_2 mg CO_2 mg CBM^{-1} d^{-1}
	---------- % ----------						
				0-5 cm			
Bom Retiro							
BR1 (0)	4,0 ± 0,4 ns	25,0 ± 9,0 ns	1,0 ± 0,4 ns	2,2 ± 0,4 ns	7,9 ± 3,1 ns	19,8 ± 3,7 b	0,159
BR3 (9,4)	3,7 ± 0,3	31,9 ± 12,1	1,2 ± 0,5	2,2 ± 0,6	8,9 ± 2,6	14,8 ± 6,7 b	0,096
BR4 (18,6)	3,5 ± 0,5	28,0 ± 3,8	1,0 ± 0,2	1,5 ± 0,3	8,7 ± 2,5	43,0 ± 19,0 a	0,302
dms	0,5	13,8	0,4	1,0	1,9	28,7	
CV%	6,0	22,5	17,9	24,3	10,0	51,2	
Univalem							
UV1 (0)	3,7 ± 1,2 ns	54,6 ± 8,7 b	3,7 ± 1,1 b	3,1 ± 0,4 ns	16,3 ± 5,0 b	14,0 ± 2,4 ns	0,061
UV3 (13,4)	8,4 ± 1,2	65,0 ± 3,7 ab	5,5 ± 0,9 ab	4,9 ± 1,7	19,8 ± 2,6 ab	14,7 ± 2,7	0,050
UV4 (20,1)	9,0 ± 2,3	72,2 ± 6,0 a	6,6 ± 2,3 a	4,8 ± 1,6	28,0 ± 8,0 a	16,1 ± 9,1	0,042
dms	2,6	14,2	2,8	2,3	8,9	13,4	
CV%	15,1	10,3	24,7	24,3	19,3	42,0	
				5-10 cm			
Bom Retiro							
BR1 (0)	4,3 ± 0,6 ns	23,1 ± 11,5 ns	1,0 ± 0,6 ns	1,8 ± 0,8 a	8,1 ± 1,2ns	17,2 ± 5,9 ns	0,146
BR3 (9,4)	3,8 ± 0,6	17,9 ± 7,7	0,7 ± 0,4	1,5 ± 0,6 ab	8,3 ± 5,4	14,3 ± 5,3	0,169
BR4 (18,6)	3,9 ± 0,1	15,2 ± 7,2	0,6 ± 0,3	0,7 ± 0,3 b	13,3 ± 9,7	23,7 ± 10,1	0,325
dms	1,0	21,7	1,1	1,0	15,9	16,7	
CV%	11,9	53,3	65,9	33,0	74,0	41,9	
Univalem							
UV1 (0)	6,0 ± 0,9 b	56,0 ± 3,8ns	3,4 ± 0,6 ns	2,4 ± 0,5 ns	24,5 ± 0,9 ns	6,3 ± 0,7 ns	0,034
UV3 (13,4)	5,8 ± 1,2 b	56,9 ± 6,8	3,3 ± 1,0	2,0 ± 0,6	30,4 ± 2,8	6,8 ± 2,0	0,028
UV4 (20,1)	8,2 ± 1,2 a	56,3 ± 10,8	4,7 ± 1,5	3,1 ± 3,4	41,8 ± 15,2	5,0 ± 1,4	0,021
dms	1,1	17,4	1,7	3,9	18,3	3,5	
CV%	7,7	14,2	20,2	71,8	26,2	26,8	

* Média (n=4) ± desvio padrão. Médias de mesma letra nas colunas não diferem dentro de cada local e camada (Tukey 5%); ns = não significativo; dms= diferença mínima significativa; CV% = coeficiente de variação

4.2.3 Quantificação de genes microbianos no solo

Na usina de Bom Retiro, o número de cópias do gene 16S de Bactéria variou entre $8,07 \times 10^5$ e $8,54 \times 10^9$ na camada 0-5 cm e $1,01 \times 10^6$ e $5,61 \times 10^9$ por g de solo^{-1}, na camada de 5-10 cm, sendo a maior abundância encontrada em função da menor remoção de palha (BR3 e BR4). Na usina Univalem, a abundância do gene 16S de Bactéria na camada 0-5 cm variou de $1,15 \times 10^9$ a $8,01 \times 10^9$ por g de solo^{-1}, apresentando resposta em função da quantidade de palha remanescente na superfície do solo, com a maior abundância de genes encontrada em UV3. No entanto, o número de cópias do gene 16S de Bactéria não sofreu alteração na camada 5-10 cm do solo (Figura 10A).

Na Usina Bom Retiro, o número de cópias do gene 16S de Archaea oscilou entre $1,18 \times 10^3$ e $1,48 \times 10^8$ na camada 0-5 cm e $3,11 \times 10^2$ e $1,59 \times 10^8$ por g de solo^{-1}, na camada de 5-10 cm. Em ambas camadas avaliadas, a maior abundância do gene foi encontrada em BR3 e BR4, apresentando efeito significativo (p <0,05) em função da remoção da palha (Figura 9B). O mesmo foi encontrado na Usina Univalem, em que o número de cópias do gene 16S de Archaea foi significativamente menor (p <0,05) no tratamento com remoção de toda palha (UV1), em ambas camadas. Na camada 0-5 cm, o número de cópias do gene na ordem de $4,35 \times 10^7$ e $2,06 \times 10^8$ por g de solo^{-1} e, na camada 5-10 cm o número de cópias variou entre $1,43 \times 10^3$ e $1,06 \times 10^8$ por g de solo^{-1} (Figura 10B).

A abundância de cópias do gene 18S de fungos na Usina Bom Retiro, foi de $5,19 \times 10^4$ e $1,64 \times 10^7$ na camada 0-5 cm, e $1,18 \times 10^4$ e $4,62 \times 10^6$ por g de solo^{-1} obtidas na camada 5-10 cm, apresentando efeito significativo (p <0,05) em função da quantidade de palha sobre o solo em BR3 e BR4 para as duas camadas avaliadas (Figura 9C). Já o número de cópias do gene 18S na Usina Univalem, sofreu alteração significativa (p <0,05) na abundância em função da quantidade de palha sobre o solo em ambas as camadas de solo avaliadas, em que o número de cópias do gene 18S foi de $2,42 \times 10^6$ e $6,40 \times 10^6$ por g de solo^{-1} obtidas na camada 0-5 cm, com maior abundância em UV3 e UV4 comparado ao encontrado no tratamento UV1. E $1,20 \times 10^6$ e $6,70 \times 10^6$ cópias do gene 18S por g de solo^{-1} obtida na camada 5-10 cm, apresentando maior abundância UV3 e UV4, nos tratamentos com menor quantidade de palha removida (Figura 10C).

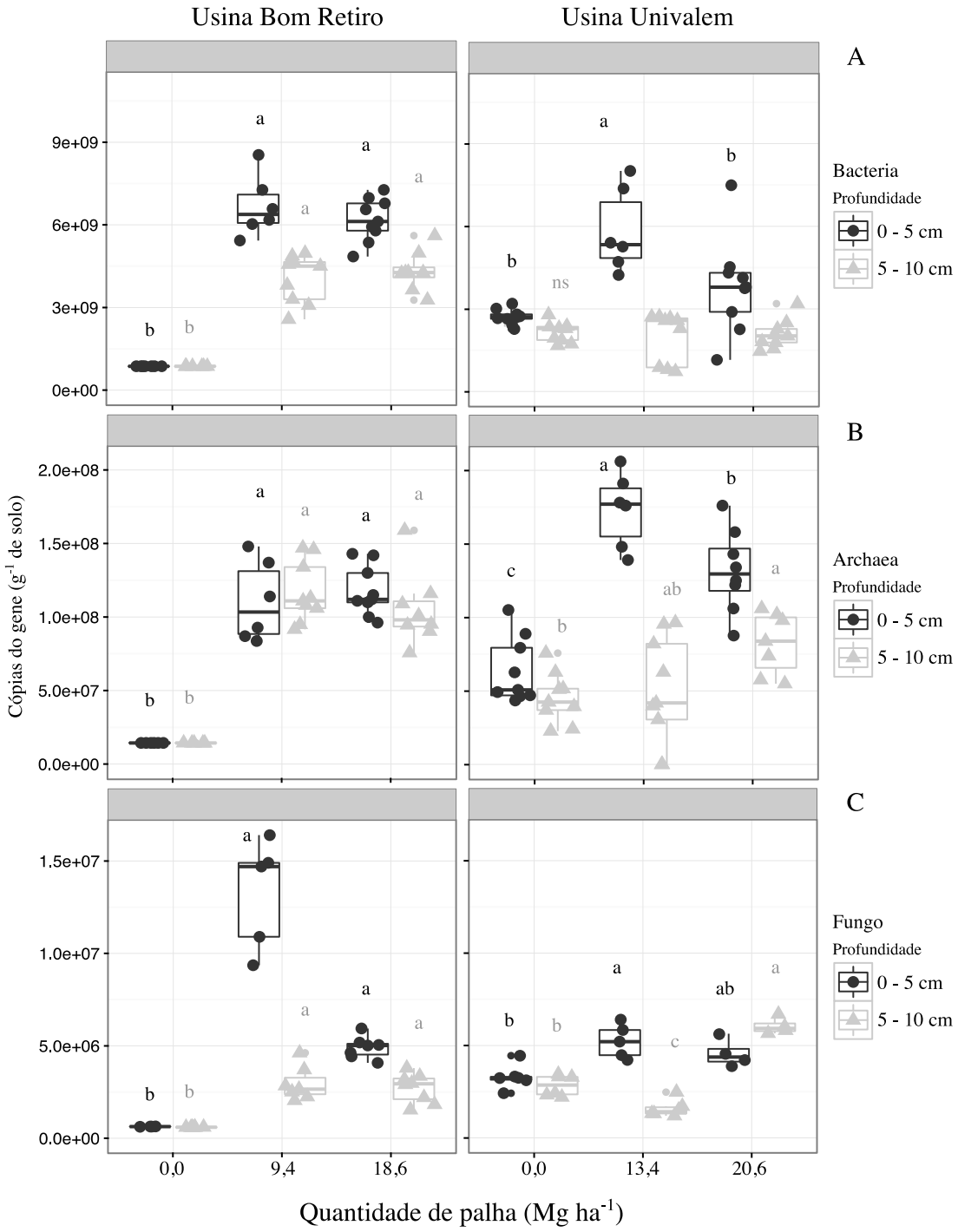

Figura 10 – Box-plot do número de cópias de Bacteria (A), Archaea (B) e Fungo (C) no solo sob cultivo de cana-de-açúcar em função das quantidades de palha obtidos na segunda amostragem, nas camadas 0-5 cm e 5-10 cm, nas Usinas Bom retiro e Univalem. Médias da mesma cor e letra não diferem dentro de cada gráfico para os tratamentos (Tukey 5%); ns = não significativo

5. DISCUSSÃO

5.1 Decomposição da palha e os efeitos na mineralização de C e N

Os teores de C e N totais na palha obtidos neste trabalho não tiveram influência significativa das diferentes quantidades (Tabela 6). Os valores encontrados com um intervalo de um ano de decomposição foram consistentes com o encontrado na literatura, com média de 4,4 Mg ha^{-1} de C e 0,4 Mg ha^{-1} de N (FORTES et al., 2012). Era esperado que no material inicial depositado sobre o solo não fosse encontrada diferença no C e N em função dos tratamentos, de maneira que apesar das diferentes variedades de cana-de-açúcar cultivadas em cada local de estudo, os conteúdos de C e N totais e as relações C:N foram semelhantes.

Embora este trabalho não tenha contemplado taxa de decomposição, estudos mostram que a decomposição da palha de cana-de-açúcar faz com que o conteúdo de C tende a decrescer ao longo do tempo que o material permanece depositado sobre a superfície do solo, ao passo que a concentração de N tem um aumento relativo no material remanescente (FORTES et al., 2012). Além disso, conforme maior a quantidade inicial de palha sobre o solo maior é a sua taxa de decomposição que resulta em maiores taxas de disponibilização de C no solo (SOUSA JUNIOR, 2015).

A alta relação C:N encontrada na palha da cana-de-açúcar neste trabalho (entre 60 e 70) indica que o processo de imobilização de N no solo pode ser favorecido. A relação C:N do resíduo vegetal influencia os processos de mineralização e imobilização dos nutrientes para o solo, quando o material apresenta relação C:N mais elevada (superior a 30) como a palha da cana-de-açúcar, o processo de imobilização é favorecido diminuindo a disponibilidade de nutrientes no solo (VITTI et al., 2008). Esta dinâmica está relacionada ao processo de mineralização e atividade microbiológica do solo, que acumula nutrientes na biomassa conforme o material vai se decompondo (MARUMOTO et al., 1982).

Os valores de C e N microbiano encontrados na palha neste trabalho apresentaram uma tendência de aumento em função das maiores quantidades de palha depositadas (Tabelas 7 e 12). Os altos valores obtidos de biomassa microbiana C e N da palha em ambas as amostragens estão dentro dos valores encontrados em outros trabalhos, mesmo que em serapilheiras de distintos materiais (MONTEIRO; GAMA-RODRIGUES, 2004; GAMA-RODRIGUES et al., 2008). As diferenças nos valores podem ser explicadas pela qualidade do resíduo vegetal e sua composição bioquímica, que tem influência sobre a biomassa microbiana e sua atividade (GAMA-RODRIGUES et al., 2004). Os maiores valores de

biomassa microbiana nos tratamentos com menor remoção de palha pode estar relacionado com o estímulo da população microbiana pela entrada de C-oxidável (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006), e confirmam a importância da biomassa microbiana do sistema liteira-solo como fonte e dreno de nutrientes disponíveis para as plantas, contribuindo para regulação da decomposição do resíduo vegetal depositado sobre o solo (BEARE et al., 1991) e para a ciclagem de nutrientes no ambiente (LADD et al., 1981).

A intensidade da decomposição da palha pode ser influenciada por fatores como temperatura, umidade, condições climáticas, a variedade de cana cultivada e abundância de microrganismos no material (ROBERTSON; THORBURN, 2007a; VITTI et al., 2007; ALLISON et al., 2013; SUN et al., 2013), que podem estar relacionados com os maiores valores de biomassa microbiana e respiração basal encontrados na palha em BR, de solo argiloso (Tabela 12).

Os baixos valores encontrados para as relações CBM:C_T e NBM:N_T analisadas na palha obtidas neste trabalho demonstraram que a biomassa microbiana foi pouco eficiente em imobilizar C e N, e não apresentaram respostas significativas em função das quantidades da palha (Tabelas 7 e 12). Estas relações são consideradas estimativas indiretas da qualidade do material orgânico depositado, assim, quanto menor o valor destas relações, menor é a qualidade do material (WARDLE, 1992; MONTEIRO; GAMA-RODRIGUES, 2004). Portanto, evidencia-se que a palha de cana-de-açúcar é um material de baixa qualidade (devido à alta relação C/N), sendo considerado um substrato que não possui nutrientes em quantidade suficiente para atender à demanda da comunidade mineralizadora, portanto, determina a prevalência do processo de imobilização de nutrientes (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006).

5.2 Efeito da remoção de palha sobre frações de C e N no solo

Parte do C que não é imobilizado pela biomassa microbiana nem perdido na forma de CO_2 para atmosfera, é incorporado no solo, nos compartimentos da matéria orgânica do solo (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006).

As quantidades de C e N totais no solo encontrados neste trabalho mostraram que o curto período de tempo (menos de anos) decorrido da mudança de manejo de palha neste trabalho não resultou em diferença significativa em função da remoção de diferentes quantidades de palha (Tabelas 8 e 13). Ainda, no solo argiloso (Bom Reitro) a quantidade de C do solo foi maior comparado ao encontrado no solo arenoso (Univalem), isto ocorreu

provavelmente devido a diferença textural do solo encontrada entre as áreas. O acúmulo de C no solo varia de acordo com sua textura (FELLER; BEARE, 1997), sendo que em solos de textura média a argilosa o acúmulo anual de C pode ser até três vezes superiores do que em solos com textura arenosa (CERRI et al., 2011).

A manutenção de resíduos culturais sobre o solo evita a perda de nutrientes e favorece a entrada cumulativa de C e N proveniente de resíduos no solo (KWONG et al., 1987; ROBERTSON; THORBURN, 2007b; PINHEIRO et al., 2010). Este aumento nos estoques de C e N no solo, principalmente nas camadas superficiais, está relacionado com a entrada constante do material orgânico (SILGRAM; CHAMBERS, 2002; CERRI et al., 2010; PINHEIRO et al., 2010). Apesar disso, as mudanças que ocorrem no estoque de C e de nutrientes no solo em função do manejo da palha na superfície do solo levam anos para ser efetivamente mensurável (WOOD, 1991; BLAIR et al., 1998). A conversão do sistema de colheita de cana-de-açúcar com queima para o sistema sem queima por um longo período de tempo causa aumento expressivo do C no solo (PINHEIRO et al., 2010). Os resultados encontrados evidenciam que o conteúdo de C e N totais no solo, independentemente do tipo e textura, não é um compartimento tão sensível às alterações de manejo em curto período de tempo, e seu acúmulo pode ser favorecido sendo necessário um tempo maior (anos) para que o efeito seja verificado, sendo que este incremento pode ser favorecido pela biomassa microbiana do solo (HERAI et al., 2006).

Os teores do nitrogênio total do solo podem sofrer influência dos processos tais como mineralização, lixiviação, desnitrificação e absorção pela planta, que podem causar a redução dos teores do N-inorgânico e, consequentemente, no estoque de N do solo (VALLIS et al., 1996; GARNIER et al., 2003; HERAI et al., 2006; VITTI et al., 2007; HUANG et al., 2008).

5.3 Efeito da remoção da palha na biomassa microbiana do solo

Os resultados obtidos da fração mais oxidável do C no solo, representado pelo C lábil neste trabalho, mostraram uma tendência em aumentar em função da remoção de menores quantidades de palha, sobretudo na camada 0-5 cm no solo arenoso (Tabelas 9 e 14). O estudo da fração de C mais facilmente oxidável no solo pode ser utilizada para entender de maneira mais ampla a dinâmica de acúmulo ou perda de C no solo, por esta fração responder de maneira mais rápida as mudança de manejo no solo (WHITBREAD et al., 1998).

Os resultados encontrados neste trabalho são consistentes com outros trabalhos desenvolvidos com outras culturas e em diferentes regiões (BLAIR et al., 1998; BARRE et al., 2010). O incremento desta fração de C no solo está associado, entre outros fatores, à dinâmica de nutrtientes (PARTON et al., 1987) e à cobertura e incorporação contínua de material vegetal no solo (BLAIR et al., 1998; 2000; 2006; GRAHAM; HAYNES, 2006). Os resultados encontrados neste trabalho confirmam que o manejo de remoção da palha de cana-de-açúcar pode induzir a redução dos teores de C do compartimento mais facilmente oxídavel da matéria orgânica do solo.

Os valores de C e N microbiano no solo apresentaram a mesma tendência encontrada para o carbono lábil, mostrando um sutil incremento, sobretudo na segunda amostragem na camada 0-5 cm do solo, e com diferença significativa em função da remoção da palha somente no solo arenoso (Tabelas 9 e 14). Os teores obtidos estão de acordo com os valores encontrados em outros trabalhos para diferentes culturas e condições climáticas (BALOTA et al., 1998; GRAHAM; HAYNES, 2006; HUNGRIA et al., 2009; SILVA et al., 2010; SANTOS, et al., 2012b). A biomassa microbiana do solo sob cultivo é influenciada pelo tipo de manejo do solo e manejo do resíduo cultural (GRAHAM; HAYNES; MEYER, 2002a; GRAHAM e HAYNES, 2005; BABUJIA et al., 2010) e pode apresentar variação de acordo com as condições climáticas, características edáficas – estrutura, estabilidade dos agregados, porosidade e compactação do solo -, conteúdo de argila e areia (GOVAERTS et al., 2007; DA SILVA et al., 2014b) e tempo de mudança do manejo (GRAHAM; HAYNES; MEYER, 2002a). Da mesma forma, estes fatores tem influência sobre a respiração basal do solo e quociente metabólico (BALOTA et al., 1998). Embora seja esperado que a biomassa microbiana seja maior em solo argiloso pela maior retenção da matéria orgânica do solo (SUGIHARA et al., 2010), nossos resultados mostraram que o solo arenoso respondeu mais expressivamente à alteração de manejo da palha. Em solos arenosos a ciclagem da matéria orgânica é maior, devido a não proteção físico da MOS, assim, a entrada de material orgânico neste tipo de solo tende a apresentar respostas mais imediatas.

O carbono da biomassa microbiana do solo em relação ao conteúdo de C total é considerada um indicador que representa a fração de C lábil viva do solo, e corresponde entre 1 e 4% do C total (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006). Embora a biomassa microbiana seja mais sensível às alterações no solo, é necessário um tempo mínimo para que estas variações sejam evidenciadas (GRAHAM; HAYNES; MEYER, 2002a), além disso, como foi observado neste trabalho, o efeito é mais expressivo nas camadas mais superficiais do solo (ROBERTSON; THORBURN, 2007b), que é onde os microrganismos do solo prevalecem e o

incremento da biomassa e da atividade microbiana ocorrerem devido ao aumento da disponibilidade de C e conteúdo de N em função da deposição de material orgânico sobre a superfície do solo (KAISER et al., 1992; ROBERTSON; THORBURN, 2007b). Os impactos na estrutura morfológica do solo, que ser como hábitat para a microbiota, causado pelo manejo podem afetar a biomassa microbiana provocada pela exposição da matéria orgânica intra-agregados à oxidação e, consequentemente, a mineralização do nitrogênio (DA SILVA et al., 2014). Os nossos dados confirmam sugerem a importância da manutenção da cobertura de palha na superfície do solo para o controle dos componentes mais lábeis da matéria orgânica do solo (biomassa microbiana e C lábil), cuja imobilização de C e N pode contribuir para melhorar a conservação da fonte de nutrintes para o solo, principalmente para o solo arenoso que retêm menores proporções de C e N residual na biomassa (LADD et al., 1981; SUGIHARA et al., 2010), podendo favorecer dessa forma a manutenção do bom funcionamento do solo.

Os valores das relações CBM:C_T e NBM:N_T do solo encontrados neste trabalho (Tabelas 10 e 15) vão de acordo ao relatado pela literatura, cujas proporções de C e N microbiano nas frações totais representam entre 0,2 a 5% e 1 a 6%, respectivamente, para diferentes sistemas de manejo (POWLSON et al., 1987b). A literatura mostra que em solos argilosos o C-microbiano representa uma fração maior do C-total do solo quando comparado a solos arenosos (POWLSON et al., 1987a). Apesar disso, neste trabalho foram encontradas maiores proporções de C e N microbiano no solo arenoso, podem ser explicados pela menor respiração basal encontrada neste solo e menor quociente metabólico. O quociente metabólico tende a apresentar redução em função da manutenção dos resíduos na superfície do solo (BALOTA et al., 1998; HUNGRIA et al., 2009). A entrada de C-oxidável favorece a liberação de carbono na forma de CO_2 pelo aumento da respiração do solo, contribuindo para redução de C no solo (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006), no entanto se o qCO_2 for elevado, significa maior proporção de carbono da biomassa perdida.

5.4 Efeito da remoção da palha na comunidade microbiana do solo

A abundância dos genes da comunidade microbiana indicou que o efeito do manejo da palha nem sempre foi significativo em função da remoção da palha, sendo mais expressivo no solo arenoso e na camada 0-5cm (Figuras 6 e 10). Estes resultados apresentam mesma resposta daquela observada na biomassa microbiana do solo (Figuras 5 e 7), que demonstraram que é necessário um tempo mínimo de mudança de manejo para que

alterações na microbiota do solo sejam melhor detectadas (SANTOS, et al., 2012b). A literatura mostra que a monocultura de cana-de-açúcar afeta a comunidade microbiana do solo quando comparado a um solo sem histórico de cultivo (SAVARIO; HOY, 2011). Portanto, os anos de adoção do sistema de manejo sem queima nas áreas de estudo deste trabalho podem ter levado a uma comunidade microbiana já estabelecida, que a princípio pode ser mais resiliente ao novo manejo da palha.

A remoção total da palha levou à menor abundância dos genes de Bacteria, Archaea e Fungo na camada 0-5 cm e nos dois tipos de solos (Figura 10). Estes resultados são consistentes com outros trabalhos que a mudança de manejo do resíduo cultural pode levar a diferenças significativas na comunidade microbiana no solo (RACHID et al., 2012), pela incorporação do resíduo cultural, acúmulo de nutrientes e sua conversão em matéria orgânica que resulta em significativo aumento de colônias microbianas de bactérias, fungos e actinomicetos (LIAO et al., 2014; GRAF et al., 2016).

Além do manejo do solo, a comunidade microbiana do solo, assim como, sua atividade estão relacionados com condição climática, localização geográfica, textura do solo, características edáficas e, de fatores químicos como o pH e a aplicação de agroquímicos (FIERER; JACKSON, 2006; LAUBER et al., 2008; ROUSK et al., 2010; SUGIHARA et al., 2010; DA SILVA et al., 2014a; TEDERSOO et al., 2014). Nossos dados confirmam a importância da cobertura da palha para a abundância da microbiota do solo.

A remoção da palha de cana pode apresentar efeito sobre a comunidade bacteriana de forma direta, através da presença ou ausência de palha, ou indireta, através das alterações causadas nas propriedades do solo (RACHID et al., 2016). Além disso, a comunidade bacteriana pode estar mais relacionada às características de manejo do solo, como a presença de fogo, do que com o aporte de material vegetal sobre o solo (RACHID et al., 2012).

Os diferentes genes estudados neste trabalho apresentaram abundâncias distintas, sendo o gene 16 S de *Bacteria* o mais abundante em relação aos outros. Foi encontrado na literatura que diferentes quantidades de palha de cana-de-açúcar sobre o solo podem ter efeitos distintos sobre a comunidade microbiana do solo, porém, com efeito, mais expressivo sobre a comunidade de fungos (RACHID et al., 2016). Esta resposta pode ser explicada devido a comunidade de fungos ser mais eficiente em utilizar cadeias de C longas e complexas oriundas de substratos recalcitrantes (TAYLOR; OSBORN, 1996), como é o caso da palha da cana-de-açúcar. A comunidade de fungos exibe um padrão biogeográfico que é influenciado por fatores como, características do solo, variações climáticas e,

majoritariamente, por condições geográficas, que pode ser explicado pela limitação de dispersão da comunidade (GUMIERE et al., 2016).

O domínio de Archaea consiste em cindo filos, que inclui as archaeas metanogênicas, que utilizam o metanol como substrato (MACKIE; WHITE; BRYANT, 1992) e dos procariotos, é o domínio menos estudado e compreendido (POLÓNIA et al., 2014), apesar de ter como habitat diferentes tipos de solos (BATES et al., 2011). Junto com as bactérias, as archaeas são os principais responsáveis pelo processo de redução de N, estando relacionadas com a emissão N_2O (PITOMBO et al., 2016). A abundância dos genes funcionais tem sido importante e útil para predizer a ciclagem de nitrogênio (PETERSEN et al., 2012), assim como a perda da diversidade microbiana, com influência sobre o ciclo de N do solo (PHILIPPOT et al., 2013). Nossos dados sugerem que o manejo da palha ao influenciar na abundância de genes de *Archaea* podem causar alterações nos processos metabólicos relacionados ao N, com o aumento ou diminuição da sua eficiência.

As menores abundâncias de Bacteria, Archaea e Fungo nos tratamentos com solo descoberto encontradas neste trabalho sugerem que estas comunidades são sensíveis ao aporte de palha, e sua baixa abundância pode interferir nos processos de decomposição e ciclagem de nutrientes, importantes para o bom funcionamento do solo.

6. CONCLUSÕES

Na palha da cana-de-açúcar foram encontrados valores de C e N totais e microbianos maiores em comparação ao solo, podendo ser considerada importante reserva desses elementos.

De maneira geral, a remoção de diferentes quantidades de palha de cana-de-açúcar por um curto período de tempo não afetou diretamente os teores totais de C e N do solo, no entanto, as frações de C mais facilmente oxidável e os parâmetros biológicos avaliados mostraram ser mais sensíveis ao efeito do manejo da palha.

Na primeira amostragem, somente o C e N microbiano, no solo de textura arenosa, aumentaram em função da remoção de menores quantidades de palha.

Na segunda amostragem, praticamente todos os parâmetros avaliados apresentaram uma tendência em diminuir, mesmo que não significativo estatisticamente, em função do aumento da intensidade de remoção da palha. No solo argiloso, a palha favoreceu o incremento nos teores totais de C e N, assim como, no C_L e no C e N microbiano. Entretanto, a respiração basal também aumentou, e por consequência, o quociente metabólico. Com isso, as razões C_L/C_T, CBM/C_T, CBM/C_L e NBM/N_T não apresentaram resposta significativa em função da palha.

Por outro lado, no solo arenoso, houve aumento menos pronunciado nos teores totais de C e N, assim como nas demais frações (oxidável e viva), apesar disso, a respiração basal do solo não aumentou em função da palha, de maneira que o quociente metabólico diminuiu resultando em incrementos nas razões C_L/C_T, CBM/C_T, CBM/C_L e NBM/N_T.

A comunidade microbiana (Bacteria, Archaea e Fungo) apresentou uma redução significativa na sua abundância em função da remoção da palha para todos os genes estudados, com efeito, mais expressivo na segunda amostragem.

As maiores quantidades de C-oxidável, e as alterações nos parâmetros biológicos do solo, avaliados nestes estudos, condicionados pelas quantidades de palha mantidas na superfície do solo, em longo prazo, contribuem para as alterações nos estoques de C e N no solo. Assim, a mudança do manejo da palha no sistema de cana-de-açúcar pode influenciar na dinâmica do carbono e nitrogênio do solo, iniciando-se pela na fração mais lábil da matéria orgânica e na fração viva, com consequência na estrutura da comunidade microbiana do solo.

Dessa maneira, a remoção de quantidades elevadas da palha de cana-de-açúcar proveniente da colheita pode causar impactos negativos sobre a microbiologia do solo com consequências sobre as funcionalidades que este compartimento exerce para o bom

funcionamento do solo, tais como a decomposição da matéria orgânica do solo, a ciclagem de C e nutrientes, transformações bioquímicas, estabilidade dos agregados no solo, entre outros, que provêm benefícios para a produtividade e sustentabilidade da cultura de cana-de-açúcar. Este achado pode servir como base para avaliações mais complexas que buscam um manejo de palha que seja favorável para o setor sucroenergético e para a manutenção da qualidade do solo.

Assim, mais estudos por maior período de tempo (longo prazo) da diversidade microbiana do solo e a identificação dos genes funcionais relacionados aos grupos microbianos de interesse - ciclagem de C e nutrientes, emissão de gases do efeito estufa - podem trazer novos avanços na compreensão de como a microbiota do solo relacionada com suas respostas funcionais na busca por melhorar a sustentabilidade da cana-de-açúcar como uma cultura energética.

REFERÊNCIAS

ALLISON, S. D.; LU, Y.; WEIHE, L. G.; MARTINY, A. C.; TRESEDER, K. K.; MARTINY, J. B. Microbial abundance and composition influence litter decomposition response to environmental change. **Ecology**, Washington, DC, v. 94, n. 3, p. 714-725, 2013.

AMADO, T. J.; BAYER, C.; CONCEIÇÃO, P. C.; SPAGNOLLO, E.; DE CAMPOS, B. H.; DA VEIGA, M. Potential of carbon accumulation in no-till soils with intensive use and cover crops in southern Brazil. **Journal of Environmental Quality**, Madison, v. 35, n. 4, p. 1599-1607, 2006.

AMORIM, H. V.; LOPES, M. L.; DE CASTRO, O. J. V.; BUCKERIDGE, M. S.; GOLDMAN, G. H. Scientific challenges of bioethanol production in Brazil. **Applied Microbiology and Biotechnology**, New York, v. 91, n. 5, p. 1267-1275, 2011.

ANAYA, C. A.; HUBER-SANNWALD, E. Long-term soil organic carbon and nitrogen dynamics after conversion of tropical forest to traditional sugarcane agriculture in East Mexico. **Soil & Tillage Research**, Amsterdam, v. 147, p. 20-29, 2015.

ANDERSON, T. H.; DOMSCH, K. H. Ratios of microbial biomass carbon to total organic-carbon in arable soils. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 21, n. 4, p. 471-479, 1989.

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

BABUJIA, L. C.; HUNGRIA, M.; FRANCHINI, J. C.; BROOKES, P. C. Microbial biomass and activity at various soil depths in a Brazilian oxisol after two decades of no-tillage and conventional tillage. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 42, n. 12, p. 2174-2181, 2010.

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

BANERJEE, S.; MUDLIAR, S.; SEN, R.; GIRI, B.; SATPUTE, D.; CHAKRABARTI, T.; PANDEY, R. A. Commercializing lignocellulosic bioethanol: technology bottlenecks and possible remedies. **Biofuels Bioproducts and Biorefining**, Malden, v. 4, n. 1, p. 77-93, 2010.

BARRE, P.; EGLIN, T.; CHRISTENSEN, B. T.; CIAIS, P.; HOUOT, S.; KÄTTERER, VAN OOR, F.; PEYLIN, P.; POULTON, P. R.; ROMANENKOV, V.; CHENU, C. Quantifying and isolating stable soil organic carbon using long-term bare fallow experiments. **Biogeosciences**, Göttingen, v. 7, n. 11, p. 3839-3850, 2010.

BASTIDA, F. EGLIN, T.; CHRISTENSEN, B. T.; CIAIS, P.; HOUT, S.; KÄTTERER, T.; VAN OORT, T.; PEYLIN, P.; POULTON, P. R.; ROMANENKOV, V.; CHENU, C. Past, present and future of soil quality indices: A biological perspective. **Geoderma**, Amsterdam, v. 147, n. 3-4, p. 159-171, 2008.

BATJES, N. H.; SOMBROEK, W. G. Possibilities for carbon sequestration in tropical and subtropical soils. **Global Change Biology**, Malden, v. 3, n. 2, p. 161-173, 1997.

BEARE, M. H.; HENDRIX, P. F.; CABRERA, L. M.; COLEMAN, D. C. Characterization of a substrate-induced respiration method for measuring fungal, bacterial and total microbial biomass on plant residues. **Agriculture Ecosystems & Environment**, Amsterdam, v. 34, n. 1-4, p. 65-73, 1991.

_____. Aggregate-protected and unprotected organic-matter pools in conventional-tillage and no-tillage soils. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 58, n. 3, p. 787-795, 1994.

BECK, T.; JOERGENSEN, R. G.; KANDELER, E.; MAKESCHIN, F.; NUSS, E.; OBERHOLZER, H. R.; SCHEU, S. An inter-laboratory comparison of ten different ways of measuring soil microbial biomass C. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 29, n. 7, p. 1023-1032, 1997.

BERNOUX, M.; CERRI, C. C.; NEILL, C.; de MORAES, J. F. L. The use of stable carbon isotopes for estimating soil organic matter turnover rates. **Geoderma**, Amsterdam, v. 82, n. 1-3, p. 43-58, 1998.

BLAIR, G. J.; LEFROY, R. D. B.; LISE, L. Soil carbon fractions based on their degree of oxidation, and the development of a carbon management index for agricultural systems. **Australian Journal of Agricultural Research**, Melbourne, v. 46, n. 7, p. 1459-1466, 1995.

BLAIR, G. J.; Les CHAPMAN; WHITBREAD, A. M.; BALL-COELHO, B.; LARSEN, P.; TIESSEN, H. Soil carbon changes resulting from sugarcane trash management at two locations in Queensland, Australia, and in North-East Brazil. **Australian Journal of Soil Research**, Clayton South, v. 36, n. 6, p. 873-881, 1998.

BLAIR, N. Impact of cultivation and sugar-cane green trash management on carbon fractions and aggregate stability for a Chromic Luvisol in Queensland, Australia. **Soil & Tillage Research**, Amsterdam, v. 55, n. 3-4, p. 183-191, 2000.

BLAIR, N; FAULKNER, R. D.; TILL, A. R.; POULTON, P. R. Long-term management impacts on soil C, N and physical fertility - Part 1: Broadbalk experiment. **Soil & Tillage Research**, Amsterdam, v. 91, n. 1-2, p. 30-38, 2006.

BOSSUYT, H.; SIX, J.; HENDRIX, P. F. Aggregate-protected carbon in no-tillage and conventional tillage agroecosystems using carbon-14 labeled plant residue. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 66, n. 6, p. 1965-1973, 2002.

BRACKIN, R.; ROBINSON, N.; LAKSHMANAN, SCHMIDT, S. Microbial function in adjacent subtropical forest and agricultural soil. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 57, p. 68-77, 2013.

BRAKER, G.; TIEDJE, J. M. Nitric oxide reductase (norB) genes from pure cultures and environmental samples. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, DC, v. 69, n. 6, p. 3476-3483, 2003.

BRASIL. Decreto-Lei n. 737, 23 de setembro de 1938. Dispõe sobre a adição de álcool anidro à gasolina produzida no país. **Diário Oficial da União**, Brasília DF, 26 set. 1938. Seção 1, 19269 Disponível em: <http://camara.leg.br/legin/fed/declei/1930-1939/decreto-lei-737-23-setembro-1938-350748-publicacaooriginal-1-pe.html>. Acesso em: 24 set. 2016.

BRASIL. Decreto n. 76.593, 14 de novembro de 1975. Institui o Programa Nacional do Álcool e outras providências. **Diário Oficial da União. Poder Executivo**, Brasília, DF, 14 nov. 1975. Seção 1, p. 15257. Disponível em: <http://camara.leg.br/legin/fed/decret/1970-1979/decreto-76593-14-novembro-1975-425253-norma-pe.html>. Acesso em: 24 set. 2016.

BRASIL. Decreto n. 2.661/98, de 8 de julho de 1989. Regulamenta o parágrafo único do art. 27 da Lei nº 4.771, de 15 de setembro de 1965 (código florestal), mediante o estabelecimento de normas de precaução relativas ao emprego do fogo em práticas agropastoris e florestais, e dá outras providências. **Diário Oficial da União**, Brasília DF, 09 jul. 1998. Disponível em: <http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/decreto/d2661.htm>. Acesso em: 29 abr. 2016.

BROOKES, P. C.; LANDMAN, A.; PRUDEN, G.; JENKINSON, D. S. Chloroform fumigation and the release of soil-nitrogen - a rapid direct extraction method to measure microbial biomass nitrogen in soil. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 17, n. 6, p. 837-842, 1985a.

BRUSSAARD, L.; DE RUITER, P. C.; BROWN, G. G. Soil biodiversity for agricultural sustainability. **Agriculture Ecosystems & Environment**, Amsterdam, v. 121, n. 3, p. 233-244, 2007.

BUSCHIAZZO, D. E.; ESTELRICH, H. D.; AIMA, S. B.; VIGLIZZO, E.; BABINEC, F. J. Soil texture and tree coverage influence on organic matter. **Journal of Range Management**, Tucson, v. 57, n. 5, p. 511-516, 2004.

CANELLAS, L. P.; BUSATO, J. G.; DOBBSS, L. B.; BALDOTTO, M. A.; RUMJANEK, V. M.; OLIVARES, F. L. Soil organic matter and nutrient pools under long-term non-burning management of sugar cane. **European Journal of Soil Science**, Oxford, v. 61, n. 3, p. 375-383, 2010.

CARDOSO, E. J. B. N.; VASCONCELLOS, R. L. F.; BINI, D.; MIYAUCHI, M. Y. H.; dos SANTOS, ALVES, P. R. L.; de PAULA, A. M.; NAKATANI, A. S.; PEREIRA, J. de 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**, Piracicaba, v. 70, n. 4, p. 274-289, 2013.

CATTANEO, F.; DI GENNARO, P.; BARBANTI, L.; GIOVANNINI, C.; LABRA, M.; MORENO, B.; BENITEZ, E.; MARZADONI, C. Perennial energy cropping systems affect soil enzyme activities and bacterial community structure in a South European agricultural area. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v. 84, p. 213-222, 2014.

CERRI, C. C.; BERNOUX, M.; MAIA, S. M. F.; CERRI, C. E. P.; COSTA JUNIOR, C.; FEIGL, B. F.; FRAZÃO, L. A.; MELLO, F. F. de C.; GALDOS, M. V.; MOREIRA, C. S.; CARVALHO, J. L. N. Greenhouse gas mitigation options in Brazil for land-use change, livestock and agriculture. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 67, n. 1, p. 102-116, 2010.

_____. Effect of sugarcane harvesting systems on soil carbon stocks in Brazil: an examination of existing data. **European Journal of Soil Science**, Oxford, v. 62, n. 1, p. 23-28, 2011.

CHARLES, H.; GODFRAY, J.; BEDDINGTON, J. R.; CRUTE, I. R.; HADDAD, L.; LAWRENCE, D.; MUIR, J. F.; PRETY, J.; ROBINSON, S.; THOMAS, S. M.; TOULMIN, C. Food security: The challenge of feeding 9 billion people. **Science**, Washington, DC, v. 327, p. 812-818, 2010.

CHERUBIN, M. R.; KARLEN, D. L.; CERRI, C. E. P.; FRANCO, A. L. C.; TORMENA, C. A.; DAVIES, C. A.; CERRI, C. C. Soil quality indexing strategies for evaluating sugarcane expansion in Brazil. **Plos One**, San Francisco, v. 11, n. 3, 2016. http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0150860.

_____. A Soil Management Assessment Framework (SMAF) evaluation of Brazilian sugarcane expansion on soil quality. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 80, n. 1, p. 215-226, 2016.

_____. Soil physical quality response to sugarcane expansion in Brazil. **Geoderma**, Amsterdam, v. 267, p. 156-168, 2016.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO – CONAB. **Acompanhamento da safra brasileira de cana-de-açúcar**. Segundo levantamento – Safra 2016/17, Brasília, DF, v. 3, n. 2, p. 1-72, 2016. Disponível em: <http://.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/16_08_18_12_03_30_boletim_cana_portugues_-_2o_lev_-_16-17.pdf >. Acesso em: 25 set. 2016.

CONTEH, A.; LEFROY, R. D. B.; BLAIR, G. J. Dynamics of organic matter in soil as determined by variations in C-13/C-12 isotopic ratios and fractionation by ease of oxidation. **Australian Journal of Soil Research**, Clayton South, v. 35, n. 4, p. 881-890, 1997.

CURTIS, T. P.; SLOAN, W. T.; SCANNELL, J. W. Estimating prokaryotic diversity and its limits. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA**, Washington, DC, v. 99, n. 16, p. 10494-10499, 2002.

DA SILVA, A. P.; BABUJIA, L. C.; FRANCHINI, J. C.; RALISCH, R.; HUNGRIA, M.; GUIMARÃES, M. de F. Soil structure and its influence on microbial biomass in different soil and crop management systems. **Soil & Tillage Research**, Amsterdam, v. 142, p. 42-53, 2014a.

_____. Soil structure and its influence on microbial biomass in different soil and crop management systems. **Soil & Tillage Research**, Amsterdam,v. 142, p. 42-53, 2014b.

DA SILVA, D. K. A.; FREITAS, N. de O.; DE SOUZA, R. G.; DA SILVA, F. S. B.; DE ARAUJO, A. S. F.; MAIA, L. C. Soil microbial biomass and activity under natural and regenerated forests and conventional sugarcane plantations in Brazil. **Geoderma**, Amsterdam, v. 189, p. 257-261, 2012.

DE SOUZA, R. S. C.; OKURA, V. K; ARMANHI, J. S. L.; JORRÍN, B.; LOZANO, N.; DA SILVA, M. J.; GONZÁLEZ-GUERRERO, M.; DE ARAÚJO, L. M.; VERZA, N. C.; BAGHERI, H. C.; IMPERIAL, J.; ARRUDA, P. Unlocking the bacterial and fungal communities assemblages of sugarcane microbiome. **Scientific Reports**, London, v. 6 p. 1-15, 2016. doi:10.1038/srep28774.

DEGENS, B.; SPARLING, G. Changes in aggregation do not correspond with changes in labile organic C fractions in soil amended with C-14-glucose. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 28, n. 4-5, p. 453-462, 1996.

DINI-ANDREOTE, F.; ANDREOTE, F. D.; COSTA, R.; TAKETANI, R. G.; VAN ELSAS, J.; ARAÚJO, W. L. Bacterial soil community in a Brazilian sugarcane field. **Plant and Soil**, The Hague, v. 336, n. 1-2, p. 337-349, 2010.

DOLKEN, L.; SCHULER, F.; DOLKEN, G. Quantitative detection of t(14;18)-positive cells by real-time quantitative PCR using fluorogenic probes. **Biotechniques**, Natick, v. 25, n. 6, p. 1058-1064, 1998.

DUXBURY, J. M.; SMITH, M. S.; DORAN, J. M. Soil organic matter as a source and a sink of plant nutrients. In Coleman, D. C.; Oades, J. M. & Ueahara, g. eds. Dynamics of soil organic matter in tropical ecossystems. Honolulu, University of Hawaii, p. 33-67, 1989.

EMBRAPA. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. 3. ed. Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 2013. 353 p.

EMPRESA DE PESQUISA ENERGÉTICA - EPE. **Energia renovável**: hidráulica, biomassa, eólica, solar, oceânica. Rio de Janeiro: EPE, 2016. Disponível em: <http://epe.gov.br/Documents/Energia%20Renov%C3%A1vel%20-%20Online%2016maio 2016.pdf> Acesso em: 20 set. 2016.

FARGIONE, J.; HILL, J.; TILMAN, D.; POLASKY, S.; HAWTHORNE, P. Land clearing and the biofuel carbon debt. **Science**, Washington, DC, v. 319, n. 5867, p. 1235-1238, 2008.

FEIGL, B. J.; MELILLO, J.; CERRI, C. C. Changes in the origin and quality of soil organic-matter after pasture introduction in rondonia (Brazil). **Plant and Soil**, The Hague, v. 175, n. 1, p. 21-29, 1995.

FELLER, C.; BEARE, M. H. Physical control of soil organic matter dynamics in the tropics. **Geoderma**, Amsterdam, v. 79, n. 1-4, p. 69-116, 1997.

FELLER, C.; BERNOUX, M. Historical advances in the study of global terrestrial soil organic carbon sequestration. **Waste Management**, New York, v. 28, n. 4, p. 734-740, 2008.

FERREIRA-LEITAO, V.; GOTTSCHALK, L. M. F.; FERRARA, M. A.; NEPOMUCENO, A. L.; MOLINARI, H. B. C.; BON, E. P. S. Biomass Residues in Brazil: Availability and Potential Uses. **Waste and Biomass Valorization,** Dordrecht, v. 1, n. 1, p. 65-76, 2010.

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**, Washington, DC, v. 71, n. 7, p. 4117-4120, 2005.

FAO. **FAOSTAT [Database].** Rome, 2015. Disponível em: <http://faostat3.fao.org/home/E> Acesso em: 20 set. 2016.

FORTES, C.; TRIVELIN, P. C. O.; VITTI, A. C. Long-term decomposition of sugarcane harvest residues in Sao Paulo state, Brazil. **Biomass and Bioenergy**, Oxford, v. 42, p. 189-198, 2012.

FRANCHINI, J. C.; CRISPINO, C. C.; SOUZA, R. A.; TORRES, E.; HUNGRIA, M.. Microbiological parameters as indicators of soil quality under various soil management and crop rotation systems in southern Brazil. **Soil & Tillage Research**, Amsterdam, v. 92, n. 1-2, p. 18-29, 2007.

FRANCO, A. L. C.; CHERUBIN, M. R.; PAVINATO, P. S.; CERRI, C. E. P.; DAVIES, C. A.; CERRI, C. C. Soil carbon, nitrogen and phosphorus changes under sugarcane expansion in Brazil. **Science of the Total Environment**, Amsterdam, v. 515, p. 30-38, 2015.

FREIXO, A. A.; MACHADO, P. L. O.; DOS SANTOS, H. P.; SILVA, C. A.; FADIGAS, F. de S. Soil organic carbon and fractions of a Rhodic Ferralsol under the influence of tillage and crop rotation systems in southern Brazil. **Soil & Tillage Research**, Amsterdam, v. 64, n. 3-4, p. 221-230, 2002.

GALDOS, M. V.; CERRI, C. C.; CERRI, C. E. P. Soil carbon stocks under burned and unburned sugarcane in Brazil. **Geoderma**, Amsterdam, v. 153, n. 3-4, p. 347-352, 2009.

GAMA-RODRIGUES, E. F. D.; DE BARROS, N. F.; VIANA, A. P.; SANTOS, G. de A. Alterações na biomassa e na atividade microbiana da serapilheira e do solo, em decorrência da substituição de cobertura florestal nativa por plantações de eucalipto, em diferentes sítios da Região Sudeste do Brasil. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 32, p. 1489-1499, 2008.

GARCIA, C.; HERNANDEZ, T. COSTA, F.; PASCUAL, J. A. Phytotoxicity due to the agricultural use of urban wastes - germination experiments. **Journal of the Science of Food and Agriculture,** London, v. 59, n. 3, p. 313-319, 1992.

GARNIER, P.; NÉEL, C.; AITA, C.; RECOUS, S.; LAFOLIE, F.; MARY, B. Modelling carbon and nitrogen dynamics in a bare soil with and without straw incorporation. **European Journal of Soil Science**, Oxford, v. 54, n. 3, p. 555-568, 2003.

GILLER, K. E.; BEARE, M. H.; LAVELEE, P.; IZAC, A. M. N.; SWIFT, M. J. Agricultural intensification, soil biodiversity and agroecosystem function. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v. 6, n. 1, p. 3-16, 1997.

GOLDEMBERG, J. The Brazilian biofuels industry. **Biotechnology for Biofuels**, London, v. 1, 2008.

GOLDEMBERG, J.; COELHO, S. T.; GUARDABASSI, P. The sustainability of ethanol production from sugarcane. **Energy Policy**, Guildford, v. 36, n. 6, p. 2086-2097, 2008.

GOLDEMBERG, J.; MELLHO, F. F. C.; CERRI, C. E. P.; DAVIES, C. A.; CERRI, C. C. Meeting the global demand for biofuels in 2021 through sustainable land use change policy. **Energy Policy**, Guildford, v. 69, p. 14-18, 2014.

GOVAERTS, B.; MEZZALAMA, M.; UNNO, Y.; SAYRE, KEN, D.; LUNA-GUIDO, M.; VANHERCK, K.; DENDOOVEN, L.; DECKERS, J. Influence of tillage, residue management, and crop rotation on soil microbial biomass and catabolic diversity. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v. 37, n. 1-2, p. 18-30, 2007.

GUMIERE, T.; DURRER, A.; BOHANNAN, B. J. M.; ANDREOTE, D. F. Biogeographical patterns in fungal communities from soils cultivated with sugarcane. **Journal of Biogeography**, Oxford, v. 43, p. 2016-2026, 2016.

GRAF, D. R. H.; ZHAO, M.; JONES, C. M.; HALLIN, S. Soil type overrides plant effect on genetic and enzymatic N2O production potential in arable soils. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 100, p. 125-128, 2016.

GRAHAM, M. H.; HAYNES, R. J. Catabolic diversity of soil microbial communities under sugarcane and other land uses estimated by Biolog and substrate-induced respiration methods. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v. 29, n. 2, p. 155-164, 2005.

_____. Organic matter status and the size, activity and metabolic diversity of the soil microbial community in the row and inter-row of sugarcane under burning and trash retention. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 38, n. 1, p. 21-31, 2006.

GRAHAM, M. H.; HAYNES, R. J.; MEYER, J. H. Changes in soil chemistry and aggregate stability induced by fertilizer applications, burning and trash retention on a long-term sugarcane experiment in South Africa. **European Journal of Soil Science**, Oxford, v. 53, n. 4, p. 589-598, 2002a.

_____. Soil organic matter content and quality: effects of fertilizer applications, burning and trash retention on a long-term sugarcane experiment in South Africa. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 34, n. 1, p. 93-102, 2002b.

GUO, M. X.; SONG, W. P.; BUHAIN, J. Bioenergy and biofuels: History, status, and perspective. **Renewable & Sustainable Energy Reviews**, Amsterdam, v. 42, p. 712-725, 2015.

HARDOIM, P. R.; VAN OVERBEEK, L. S.; VAN ELSAS, J. D. Properties of bacterial endophytes and their proposed role in plant growth. **Trends in Microbiology,** Cambridge, v. 16, n. 10, p. 463-471, 2008.

HEDENEC, P.; NOVOTNY, D.; UST'AK, S.; CAJTHAML, T.; SLEJSKA, A.; SIMACKOVA, H.; HONZÍK, R.; KOVAROVÁ, M.; FROUZ, J. The effect of native and introduced biofuel crops on the composition of soil biota communities. **Biomass and Bioenergy**, Oxford, v. 60, p. 137-146, 2014.

HERAI, Y.; KOUNO, K.; HASHIMOTO, M.; NAGAOKA, T. Relationships between microbial biomass nitrogen, nitrate leaching and nitrogen uptake by corn in a compost and

chemical fertilizer-amended regosol. **Soil Science and Plant Nutrition,** Tokyo, v. 52, n. 2, p. 186-194, 2006.

HIGUCHI, R.; FOCKLER, C.; WATSON, R. Kinetic PCR analysis - real-time monitoring of dna amplification reactions. **Bio-Technology,** New York, v. 11, n. 9, p. 1026-1030, 1993.

HILL, J.; NELSON, E.; TILMAN, D.; POLASKY, S.; TIFFANY, D. Environmental, economic, and energetic costs and benefits of biodiesel and ethanol biofuels. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA**, Washington, DC, v. 103, n. 30, p. 11206-11210, 2006.

HINSINGER, P.; BENGOUGH, A. G.; VETTERLEIN, D.; YOUNG, I. M. Rhizosphere: biophysics, biogeochemistry and ecological relevance. **Plant and Soil**, The Hague, v. 321, n. 1-2, p. 117-152, 2009.

HOLT, J. A.; MAYER, R. J. Changes in microbial biomass and protease activities of soil associated with long-term sugar cane monoculture. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v. 27, n. 2, p. 127-131, 1998.

HOOPER, D. U.; BIGNELL, D. E.; BROWN, V. K.; BRUSSARD, L.; DANGERFIELD, J. M.; WALL, D. H.; WARDLE, D. A.; COLEMAN, D. C.; GILLER, K. E.; LAVELLE, P.; DER PUTTEN, W. H.; RUITER, P. C.; RUSEK, J.; SILVER, W.; TIEDJE, J. M.; WOLTERS, V. Interactions between aboveground and belowground biodiversity in terrestrial ecosystems: Patterns, mechanisms, and feedbacks. **BioScience**, Oxford, v. 50, n. 12, p. 1049-1061, 2000.

HORNER-DEVINE, M. C.; LEIBOLD, M. A.; SMITH, V. H.; BOHANNAN, B. J. M.; Bacterial diversity patterns along a gradient of primary productivity. **Ecology Letters**, Oxford, v. 6, n. 7, p. 613-622, 2003.

HUANG, Z. Q.; XU, Z.; BLUMFIELD, T. J.; CHEN, C.; BUBB, K. Soil nitrogen mineralization and fate of ((NH4)-N-15)(2)SO4 in field-incubated soil in a hardwood plantation of subtropical Australia: the effect of mulching. **Journal of Soils and Sediments**, Landsberg, v. 8, n. 6, p. 389-397, 2008.

HUNGRIA, M.; FRANCHINI, J. C.; BRANDÃO-JUNIOR, O.; KASCHUCK, G.; SOUZA, R. A. Soil microbial activity and crop sustainability in a long-term experiment with three soil-tillage and two crop-rotation systems. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v. 42, n. 3, p. 288-296, 2009.

INTERNATIONAL ENERGY AGENCY. **Energy and climate change**. World Energy Outlook Special Report. Paris, 2015. Disponível em: <https://iea.org/publications/freepublications/publication/WEO2015SpecialReportonEnergyandClimateChange.pdf>. Acesso em: 20 set. 2016.

JENKINSON, D. S.; LADD, J. N. Microbial biomass in soil: Measurement and turnover. In: PAUL, E. A.; LADD, J. M. (Ed.). **Soil biochemistry**. New York: Marcel Dekker, 1981. v. 5, p. 415-471.

JIMENEZ-BUENO, N. G.; VALENZUELA-ENCINAS, C.; MARSCH, R.; ORTIZ-GUTIÉRREZ, D.; VERHULST, N.; GOVAERTS, B.; DENDOOVEN, L.; NAVARRO-NOYA, YE. Bacterial indicator taxa in soils under different long-term agricultural management. **Journal of Applied Microbiology,** Oxford, v. 120, n. 4, p. 921-933, 2016.

JOHNSTON, A. E.; POULTON, P. R.; COLEMAN, K. Soil organic matter: its importance in sustainable agriculture and carbon dioxide fluxes. **Advances in Agronomy**, Hoboken, v. 101, p. 1-57, 2009.

KAISER, E. A.; MUELLER, T.; JOERGENSEN, R. G.; INSAM, H.; HEINEMEYER, O. Evaluation of methods to estimate the soil microbial biomass and the relationship with soil texture and organic-matter. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 24, n. 7, p. 675-683, 1992.

KASCHUK, G.; ALBERTON, O.; HUNGRIA, M. Quantifying effects of different agricultural land uses on soil microbial biomass and activity in Brazilian biomes: inferences to improve soil quality. **Plant and Soil**, The Hague, v. 338, n. 1-2, p. 467-481, 2011.

KHATIWADA, D.; LEDUC, S.; SILVEIRA, S.; MCCALLUM, I. Optimizing ethanol and bioelectricity production in sugarcane biorefineries in Brazil. **Renewable Energy,** Oxford, v. 85, p. 371-386, 2016.

KWONG, K. F. N. K.; DEVILLE, J.; CAALOT, P. C.; RIVIERE, V. Value of cane trash in nitrogen nutrition of sugarcane. **Plant and Soil**, The Hague, v. 102, n. 1, p. 79-83, 1987.

LADD, J. N.; AMATO, M.; ZHOU, L.; SCHULTZ, J. E. Differential-effects of rotation, plant residue and nitrogen-fertilizer on microbial biomass and organic-matter in an australian alfisol. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 26, n. 7, p. 821-831, 1994.

LADD, J. N.; OADES, J. M.; AMATO, M. Microbial biomass formed from C-14, N-15-labeled plant-material decomposing in soils in the field. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 13, n. 2, p. 119-126, 1981.

LAL, R. Residue management, conservation tillage and soil restoration for mitigating greenhouse effect by CO2-enrichment. **Soil & Tillage Research**, Amsterdam, v. 43, n. 1-2, p. 81-107, 1997.

_____. Global potential of soil carbon sequestration to mitigate the greenhouse effect. **Critical Reviews in Plant Sciences,** Boca Raton, v. 22, n. 2, p. 151-184, 2003.

_____. Carbon sequestration. **Philosophical Transactions of the Royal Society B-Biological Sciences,** London, v. 363, n. 1492, p. 815-830, 2008.

LAUBER, C. L.; STRICKLAND, M. S.; BRADFORD, M. A.; FIERER, N. The influence of soil properties on the structure of bacterial and fungal communities across land-use types. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 40, n. 9, p. 2407-2415, 2008.

LEAL, M. R. L V.; GALDOS, M. V.; SCASPARE, F. V.; SEARA, J. E. A.; WALTER, A.; OLIVEIRA, C. O. F. Sugarcane straw availability, quality, recovery and energy use: A literature review. **Biomass and Bioenergy**, Oxford, v. 53, p. 11-19, 2013.

LEHMANN, J.; CRAVO, M. D.; ZECH, W. Organic matter stabilization in a Xanthic Ferralsol of the central Amazon as affected by single trees: chemical characterization of density, aggregate, and particle size fractions. **Geoderma**, Amsterdam, v. 99, n. 1-2, p. 147-168, 2001.

LI, Q. C.; ALLEN, H. L.; WOLLUM, A. G. Microbial biomass and bacterial functional diversity in forest soils: effects of organic matter removal, compaction, and vegetation control. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 36, n. 4, p. 571-579, 2004.

LIAO, Q.; WEI, G-P.; CHEN, G-F.; LIU, B.; HUANG, D-L.; LI, Y-R. Effect of trash addition to the soil on microbial communities and physico-chemical properties of soils and growth of sugarcane plants. **Sugar Tech,** Heidelberg, v. 16, n. 4, p. 400-404, 2014.

LORA, E. S.; ANDRADE, R. V. Biomass as energy source in Brazil. **Renewable & Sustainable Energy Reviews**, Amsterdam, v. 13, n. 4, p. 777-788, 2009.

MACEDO, I. C.; SEABRA, J. E. A.; SILVA, J. Green house gases emissions in the production and use of ethanol from sugarcane in Brazil: The 2005/2006 averages and a prediction for 2020. **Biomass and Bioenergy**, Oxford, v. 32, n. 7, p. 582-595, 2008.

MARUMOTO, T.; ANDERSON, J. P. E.; DOMSCH, K. H. Mineralization of nutrients from soil microbial biomass. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 14, n. 5, p. 469-475, 1982.

MELLO, F. F. C.; CERI, C. E. P.; DAVIES, C. A.; HOLBROOK, N. M.; PAUSTIAN, K.; MAIA, S. M. F.; GALDOS, M. V.; BERNOUX, M.; CERRI, C. C. Payback time for soil carbon and sugar-cane ethanol. **Nature Climate Change**, London, v. 4, n. 7, p. 605-609, 2014.

MONTEIRO, M. T.; GAMA-RODRIGUES, E. F. Carbon, nitrogen, and microbial biomass activity in different litter structures of a natural forest. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 28, n. 5, p. 819-826, 2004.

MOORE, J. M.; KLOSE, S.; TABATABAI, M. A. Soil microbial biomass carbon and nitrogen as affected by cropping systems. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v. 31, n. 3-4, p. 200-210, 2000.

MILANEZ, A. Y.; NYKO, D.; VALENTE, M. S.; SOUSA, L. C.; BONOME, A. M. F. L. J.; JESUS, C. D. F.; WATANAE, M. D. B.; CHAGAS, M. F.; REZENDE, M. C. A. F.; CAVALETT, O.; JUNQUEIRA, T. L.; GOUVÊIA, V. L. R. De promessa a realidade: como o etanol celulósico pode revolucionar a indústria da cana-de-açúcar: uma avaliação potencial competitivo e sugestões de política pública. **BNDES Setorial**, Rio de Janeiro, n. 41, p. 237-294, 2015. Disponível em: <https://web.bndes.gov.br/bib/jspui/handle/1408/4283>. Acesso em: 25 set. 2016.

MORALES, M.; QUINTERO, J.; CONEJEROS, R.; AROCA, G. Life cycle assessment of lignocellulosic bioethanol: Environmental impacts and energy balance. **Renewable & Sustainable Energy Reviews**, Amsterdam, v. 42, p. 1349-1361, 2015.

MOREIRA, F. S.; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e bioquímica do solo**. Lavras: Editora UFLA, 2006.

NAVARRETE, A. A.; DINIZ, T. R.; BRAGA, L. P. P.; SILVA, G. G. Z.; FRANCHINI, J. C.; ROSSETO, R.; EDWARDS, R. A.; TSAI, S. M. Multi-Analytical Approach Reveals Potential Microbial Indicators in Soil for Sugarcane Model Systems. **Plos One**, San Francisco, v. 10, n. 6, 2015. http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0129765.

NYKO, D.; VALENTE, M. S.; MILANEZ, A. Y.; TANAKA, A. K. R.; RODRIGUES, A. V. P. A evolução das tecnologias agrícolas do setor sucroenergético: estagnação passageira ou crise estrutural? **BNDES Setorial**, Rio de Janeiro, n. 37, p. 399-442, 2013.

ORR, M. J.; GRAY, M. B.; APPLGATE, B.; VOLENEC, J.; BROUDER, S. M.; TURCO, R. F. Transition to second generation cellulosic biofuel production systems reveals limited negative impacts on the soil microbial community structure. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v. 95, p. 62-72, 2015.

PAREDES, F. P.; PORTILHO, I. I. R.; MERCANTE, F. M. Microbiological attributes of the soil under cultivation of sugar cane with and without burning straw. **Semina-Ciências Agrarias**, Londrina, v. 36, n. 1, p. 151-163, 2015.

PARTON, W. J.; SCHIMEL, D. S.; COLE, C. V.; OJIMA, D. S. Analysis of factors controlling soil organic-matter levels in great-plains grasslands. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 51, n. 5, p. 1173-1179, 1987.

PAUNGFOO-LONHIENNE, C.; YEOH, Y. K.; KASINADHUNI, N. R. P.; LONHIENNE, T. G. A.; ROBINSON, N.; HUGENHOLTZ, P.; RAGAN, M. A.; SCHIMIDT, S. Nitrogen fertilizer dose alters fungal communities in sugarcane soil and rhizosphere. **Scientific Reports,** London, v. 5, 2015. doi:10.1038/srep08678.

PAVAN, M. A.; BINGHAM, F. T.; PRATT, P. F. Chemical and mineralogical characteristics of selected acid soils of the state of Parana, Brazil. **Turrialba**, Costa Rica, v. 35, n. 2, p. 131-139, 1985.

PEREIRA, S. C.; MAEHARA, L.; MACHADO, C. M. M.; FARINAS, C. S. 2G ethanol from the whole sugarcane lignocellulosic biomass. **Biotechnology for Biofuels**, London, v. 8, 2015.

_____. Physical-chemical-morphological characterization of the whole sugarcane lignocellulosic biomass used for 2G ethanol production by spectroscopy and microscopy techniques. **Renewable Energy,** Oxford, v. 87, p. 607-617, 2016.

PINHEIRO, E. F. M.; LIMA, E.; CEDDIA, M. B.; URQUIAGA, S.; ALVES, B. J. R.; BODDEY, R. M. Impact of pre-harvest burning versus trash conservation on soil carbon and nitrogen stocks on a sugarcane plantation in the Brazilian Atlantic forest region. **Plant and Soil**, The Hague, v. 333, n. 1-2, p. 71-80, 2010.

PISA, G.; MAGNANI, G. S.; WEBER, H.; SOUZA, E. M.; FAORO, H.; MONTEIRO, R. A.; BAURA, V.; BESPALHOK, J. P.; PEDROSA, F. O.; CRUZ, L. M. Diversity of 16S rRNA genes from bacteria of sugarcane rhizosphere soil. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, Ribeirão Preto, v. 44, n. 12, p. 1215-1221, 2011.

PITOMBO, L. M.; DO CARMO, J. B.; HOLLANDER, M.; ROSSETO, R.; LÓPEZ, M. V.; CANTARELLA, H.; KURAMAE, E. E. Exploring soil microbial 16S rRNA sequence data to increase carbon yield and nitrogen efficiency of a bioenergy crop. **Global Change Biology Bioenergy**, Malden v. 8, n. 5, p. 867-879, 2016.

POWLSON, D. S.; BROOKES, P. C.; CHRISTENSEN, B. T. Measurement of soil microbial biomass provides an early indication of changes in total soil organic-matter due to straw incorporation. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 19, n. 2, p. 159-164, 1987a.

_____. Measurement of soil microbial biomass provides an early indication of changes in total soil organic-matter due to straw incorporation. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 19, n. 2, p. 159-164, 1987b.

RACHID, C.; PICCOLO, M. C.; LEITE, D. C. A.; BALIEIRO, F.; COUTINHO, H. L. C.; VAN ELSAS, J. D.; PEIXOTO, R. S.; ROSADO, A. S. Physical-chemical and

microbiological changes in Cerrado Soil under differing sugarcane harvest management systems. **BMC Microbiology**, London, v. 12, p. 170, 2012. DOI: 10.1186/1471-2180-12-1702012.

_____. Sugarcane trash levels in soil affects the fungi but not bacteria in a short-term field experiment. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v. 47, n. 2, p. 322-326, 2016.

_____. Effect of Sugarcane Burning or Green Harvest Methods on the Brazilian Cerrado Soil Bacterial Community Structure. **Plos One**, San Francisco, v. 8, n. 3, 2013. http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0059342.

REEVES, D. W. The role of soil organic matter in maintaining soil quality in continuous cropping systems. **Soil & Tillage Research**, Amsterdam, v. 43, n. 1-2, p. 131-167, 1997.

ROBERTSON, F. A.; THORBURN, P. J. Decomposition of sugarcane harvest residue in different climatic zones. **Australian Journal of Soil Research**, Clayton South, v. 45, n. 1, p. 1-11, 2007a.

_____. Management of sugarcane harvest residues: consequences for soil carbon and nitrogen. **Australian Journal of Soil Research**, Clayton South, v. 45, n. 1, p. 13-23, 2007b.

ROUSK, J.; BROOKES, P. C.; BAATH, E. The microbial PLFA composition as affected by pH in an arable soil. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 42, n. 3, p. 516-520, 2010.

SAMBROOK, J.; FRITSCH, E. F.; MANIATIS, T. **Molecular cloning**: a laboratory manual. 2. ed. Cold Spring Harbor: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989.

SANTOS, F. A.; DE QUEIRÓZ, J. H.; COLODETTE, J. L.; FERNANDES, S. A.; GUIMARÃES, V. M.; REZENDE, S. T. Potential of sugarcane straw for ethanol production. **Química Nova**, São Paulo, v. 35, n. 5, p. 1004-1010, 2012a.

SANTOS, V. B.; ARAÚJO, A. S. F.; LEITE, L. F. C.; NUNES, L. A. P. L; MELO, W. J. Soil microbial biomass and organic matter fractions during transition from conventional to organic farming systems. **Geoderma**, Amsterdam, v. 170, p. 227-231, 2012b.

SÃO PAULO (Estado). Lei n. 11.241, de 19 de setembro de 2002. Dispõe sobre a eliminação gradativa da queima da palha da cana-de-açúcar e dá providências correlatas. **Diário Oficial do Estado de São Paulo**, São Pualo, SP, 20 nov. 2002. Disponível em: <http://www.al.sp.gov.br/norma/?id=217>. Acesso em: 29 abr. 2016.

SAVARIO, C. F.; HOY, J. W. Microbial communities in sugarcane field soils with and without a sugarcane cropping history. **Plant and Soil**, The Hague, v. 341, n. 1-2, p. 63-73, 2011.

SHIMELMITZ, R.; KUHN, S. L.; JELINEK, A. J.; RONEN, A.; CLARK, A. E.; WEINSTEIN-EVRON, M. 'Fire at will': The emergence of habitual fire use 350,000 years ago. **Journal of Human Evolution,** London, v. 77, p. 196-203, 2014.

SIGNOR, D.; ZANI, C. F.; PALADINI, A. A.; DEON, M. D.; CERRI, C. E. P. Estoque de carbono e qualidade da matéria orgânica do solo em áreas cultivadas com cana-de-açúcar. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 38, p. 1402-1410, 2014.

SILVA, A. P.; BABUJIA, L. C.; FRANCHINI, J. C.; SOUZA, R. A.; HUNGRIA, M. Microbial biomass under various soil- and crop-management systems in short- and long-term experiments in Brazil. **Field Crops Research,** Amsterdam, v. 119, n. 1, p. 20-26, 2010.

SILVA, M. C. P.; DIAS, A. C. F.; VAN ELSAS, J. D.; SALLES, J. F. Spatial and Temporal Variation of Archaeal, Bacterial and Fungal Communities in Agricultural Soils. **Plos One**, San Francisco, v. 7, n. 12, 2012. http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0051554.

SIMS, R. E. H.; MABEE, W.; SADDLER, J. N.; TAYLOR, M. An overview of second generation biofuel technologies. **Bioresource Technology,** Barking, v. 101, n. 6, p. 1570-1580, 2010.

SINGH, J. S.; PANDEY, V. C.; SINGH, D. P. Efficient soil microorganisms: A new dimension for sustainable agriculture and environmental development. **Agriculture Ecosystems & Environment**, Amsterdam, v. 140, n. 3-4, p. 339-353, 2011.

SIX, J; CONANT, R. T.; PAUL, E. A.; PAUSTIAN, K. Stabilization mechanisms of soil organic matter: Implications for C-saturation of soils. **Plant and Soil**, The Hague, v. 241, n. 2, p. 155-176, 2002.

SIX, J.; PAUSTIAN, K. Aggregate-associated soil organic matter as an ecosystem property and a measurement tool. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 68, p. A4-A9, 2014.

SMITH, C. J.; OSBORN, A. M. Advantages and limitations of quantitative PCR (Q-PCR)-based approaches in microbial ecology. **FEMS Microbiology Ecology**, Amsterdam, v. 67, n. 1, p. 6-20, 2009.

SOUZA, R. A.; TELLES, T. S.; MACHADO, W.; HUNGRIA, M.; FILHO, J. T.; GUIMARÃES, M. F. Effects of sugarcane harvesting with burning on the chemical and microbiological properties of the soil. **Agriculture Ecosystems & Environment**, Amsterdam, v. 155, p. 1-6, 2012.

SOUSA JUNIOR, J. G. A. **Decomposição de diferentes doses de palhada de cana-de-açúcar e seu efeito sobre o carbono do solo**. 2015. 93 p. Tese (Doutorado em Ciências) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2015.

SPARLING, G. P. Ratio of microbial biomass carbon to soil organic-carbon as a sensitive indicator of changes in soil organic-matter. **Australian Journal of Soil Research**, Clayton South, v. 30, n. 2, p. 195-207, 1992.

SPARLING, G. P.; WEST, A. W. A direct extraction method to estimate soil microbial-c - calibration insitu using microbial respiration and C-14-labeled cells. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 20, n. 3, p. 337-343, 1988.

STIRLING, G. R.; MOODY, P. W.; STIRLING, A. M. The impact of an improved sugarcane farming system on chemical, biochemical and biological properties associated with soil health. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v. 46, n. 3, p. 470-477, 2010.

SUGIHARA, S.; FUNAKAWA, S.; KILASARA, M.; KOSAKI, T. Effect of land management and soil texture on seasonal variations in soil microbial biomass in dry tropical agroecosystems in Tanzania. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v. 44, n. 1, p. 80-88, 2010.

TAYLOR, T. N.; OSBORN, J. M. The importance of fungi in shaping the paleoecosystem. **Review of Palaeobotany and Palynology,** Amsterdam, v. 90, n. 3-4, p. 249-262, 1996.

TEDERSOO, L. et al. Global diversity and geography of soil fungi. **Science**, Washington, DC, v. 346, n. 6213, p. 1078, 2014.

THORBURN, P. J.; MEIER, E. A.; COLLINS, K.; ROBERTSON, F. A. Changes in soil carbon sequestration, fractionation and soil fertility in response to sugarcane residue retention are site-specific. **Soil & Tillage Research**, Amsterdam, v. 120, p. 99-111, 2012a.

_____. Changes in soil carbon sequestration, fractionation and soil fertility in response to sugarcane residue retention are site-specific. **Soil & Tillage Research**, Amsterdam, v. 120, p. 99-111, 2012b.

TORSVIK, V.; DAAE, F. L.; SANDAA, R-A.; OVREAS, L. Novel techniques for analysing microbial diversity in natural and perturbed environments. **Journal of Biotechnology,** Amsterdam, v. 64, n. 1, p. 53-62, 1998.

TORSVIK, V.; OVREAS, L. Microbial diversity and function in soil: from genes to ecosystems. **Current Opinion in Microbiology,** London, v. 5, n. 3, p. 240-245, 2002.

VAN ELSAS, J. D.; DUARTE, G. F.; KEIJZER-WOLTERS, A.; SMIT, E. Analysis of the dynamics of fungal communities in soil via fungal-specific PCR of soil DNA followed by denaturing gradient gel electrophoresis. **Journal of Microbiological Methods**, Amsterdam, v. 43, n. 2, p. 133-151, 2000.

VANCE, E. D.; BROOKES, P. C.; JENKINSON, D. S. An extraction method for measuring soil microbial biomass-C. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 19, n. 6, p. 703-707, 1987a.

VITTI, A. C.; TRIVELIN, P. C. O.; CANTARELLA, H.; FRANCO, H. C. J.; FARONI, C. E.; OTTO, R.; TRIVELIN, M. O.; TOVAJAR, J. G. Straw mineralization and root growth of sugar cane as related to nitrogen fertilization at planting. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 32, p. 2757-2762, 2008.

_____. Sugar cane yield as related to the location of nitrogen fertilizer applied on top of unburnt sugar cane residues. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 31, n. 3, p. 491-498, 2007.

WARDLE, D. A. A comparative-assessment of factors which influence microbial biomass carbon and nitrogen levels in soil. **Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society,** Cambridge, v. 67, n. 3, p. 321-358, 1992.

WHITBREAD, A. M.; LEFROY, R. D. B.; BLAIR, G. J. A survey of the impact of cropping on soil physical and chemical properties in north-western New South Wales. **Australian Journal of Soil Research**, Clayton South, v. 36, n. 4, p. 669-681, 1998.

WOOD, A. W. Management of crop residues following green harvesting of sugarcane in north queensland. **Soil & Tillage Research**, Amsterdam, v. 20, n. 1, p. 69-85, 1991.

WU, J.; JOERGENSEN, R. G.; POMMERENING, B.; CHAUSSOD, R.; BROOKES, P. C. Measurement of soil microbial biomass C by fumigation extraction - an automated procedure. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 22, n. 8, p. 1167-1169, 1990.

YU, Y.; LEE, C.; HWANG, S. Analysis of community structures in anaerobic processes using a quantitative real-time PCR method. **Water Science and Technology**, Oxford, v. 52, n. 1-2, p. 85-91, 2005.