



**Impactos do tipo de manejo de plantas invasoras nos microrganismos do solo em  
plantio de Restauração Florestal**

Trabalho de conclusão de curso - TCC  
Bacharelado em Agroecologia – UFSCar CCA

Estudante: Fernando Martins Parré  
Departamento de Desenvolvimento Rural  
Universidade Federal de São Carlos - UFSCar

Orientadora: Prof. Dra. Patrícia Andrea Monquero  
Departamento de Recursos Naturais e Proteção Ambiental  
Universidade Federal de São Carlos - UFSCar

Co-orientadora: Dra. Priscilla de Paula Loiola  
Departamento de Biodiversidade  
Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho” - UNESP

Araras, SP  
Junho de 2020

## **Agradecimentos**

Agradeço à Patrícia Monquero, pelas orientações e revisões em ambas as disciplinas de TCC e na Iniciação Científica.

Agradeço à Priscilla Loiola, pelas orientações.

Agradeço à Marcia Rosa e Elizabete Covre e toda equipe do LAMAM pelo apoio, possibilitando a realização das análises.

Agradeço ao Fernando Andreote e a Sônia Pires e toda equipe do Laboratório de Microbiologia do Solo da ESALQ pela parceria que possibilitou a realização das análises de qPCR.

Agradeço ao Tales Valêncio pela parceria nas coletas de amostras e processos de análises laboratoriais.

Agradeço à Fernanda Martins, Joana Ortega e Caio Ballarin pelas revisões de texto.

Agradeço à FAPESP pela bolsa de Iniciação Científica, que possibilitou a realização da pesquisa.

## Resumo

O impacto do manejo de espécies invasoras em sistemas de restauração florestal afeta as comunidades de microrganismos do solo e da serapilheira, fundamentais para realização de funções ecossistêmicas, que garantem a regeneração e funcionamento dos ecossistemas. O objetivo da pesquisa foi testar se havia diferença entre a quantidade e atividade das comunidades de microrganismos do solo nos tratamentos mecânico e químico de plantas invasoras em um plantio de restauração florestal, comparando-os entre si e com um plantio de restauração florestal ao longo de 11 meses. Realizamos coletas de solo e de serapilheira em um plantio de restauração submetido a dois tratamentos de manejo de plantas invasoras: controle mecânico (roçadeira) e controle químico (uso periódico de glyphosate e clethodim), e em um fragmento florestal. Realizamos análises da biomassa de carbono microbiano do solo (BMC) e a respiração basal do solo (RBS), calculamos o coeficiente metabólico do solo ( $qCO_2$ ) e quantificamos os microrganismos do solo por meio de qPCR em tempo real. Para aferir a taxa de decomposição da serrapilheira, instalamos bolsas contendo serapilheira que foram avaliadas por 11 meses. Por meio das análises de variância, testes t e modelos mistos, verificamos que há diferença entre as áreas submetidas ao controle mecânico ou químico de plantas invasoras e que essas áreas diferem, em algumas situações, da floresta preservada. Nas áreas de restauração, houve um pico inicial de atividade das comunidades de microrganismos do solo, em resposta ao distúrbio causado pelos manejos. Na análise de qPCR, a quantidade de bactérias no solo foi menor no tratamento químico em comparação ao mecânico. O pico de atividade em resposta ao tratamento foi menos acentuado para o tratamento mecânico em comparação ao químico, analisando as curvas de RBS, BMC e  $qCO_2$ . Aos 20 dias após ambos os tratamentos, houve queda nas variáveis indicativas de atividade microbiana no solo. O tratamento mecânico indicou reequilíbrio das curvas de atividade ao fim do estudo, enquanto o tratamento químico, que também apresentou esta tendência ao reequilíbrio das curvas, tinha valores médios próximos a zero, indicando quase inatividade da comunidade no término do mesmo período. Estes resultados indicam que o tratamento químico foi deletério às comunidades microbiológicas do solo em longo prazo, sendo que o tratamento mecânico finalizou com valores mais semelhantes aos do fragmento florestal. As taxas de decomposição do tratamento mecânico e do fragmento foram similares. O tratamento químico terminou com o menor volume de serapilheira

decomposto no período de tempo estudado. O manejo químico de plantas invasoras foi deletério às comunidades de microrganismos do solo, levando a uma taxa de decomposição menor. Desta forma, o uso de manejo mecânico de plantas invasoras é menos agressivo às comunidades microbianas do solo e influencia positivamente na velocidade da regeneração de biota do solo, promovendo a restauração florestal de forma mais eficiente.

Palavras chave: *microrganismos do solo, agrotóxicos, restauração florestal*

### **Impacts of invasive plant management type on soil microorganisms in forest restoration planting**

The impact of invasive species management in forest restoration systems affects the communities of microorganisms in the soil and litter. They are fundamental for carrying out ecosystem functions, which guarantee the regeneration and functioning of ecosystems. The objective of this research was to test whether there was a difference between the quantity and activity of soil microorganism communities in the mechanical and chemical treatments of invasive plants in a forest restoration plantation, comparing them with each other and with a forest restoration plantation, over 11 months. We performed soil and litter collections in a restoration plantation submitted to two invasive plant management treatments: mechanical control (brushcutter) and chemical control (periodic use of glyphosate and clethodim), and in a forest fragment. We carried out analyzes of soil microbial carbon biomass (BMC) and basal soil respiration (RBS), calculated the soil metabolic coefficient ( $qCO_2$ ) and quantified the soil microorganisms using qPCR in real time. To measure the litter decomposition's rate, we installed litter bags that were evaluated for 11 months. Through analysis of variance, t tests and mixed models, we verified that there is a difference between the areas subjected to mechanical or chemical control of invasive plants and that these areas differ, in some situations, from the preserved forest. In the restoration areas, there was an initial peak of activity in the soil microorganism communities, in response to the disturbance caused by the managements. In the qPCR analysis, the amount of bacteria in the soil was lower in chemical treatment than in mechanical treatment. The peak of activity in response to treatment was less pronounced for mechanical treatment compared to chemical treatment, analyzing the RBS, BMC and  $qCO_2$  curves. Twenty days after both

treatments, there was a decrease in indicative variables of microbial activity in the soil. The mechanical treatment indicated rebalancing of the activity curves in mean values above zero at the end of the study, while the chemical treatment, which also showed this tendency to rebalance the curves, had mean values close to zero, indicating almost inactivity of the community at the end of the same period. These results indicate that chemical treatment was harmful to soil microbiological communities in the long term, with mechanical treatment ending with values more similar to those of the forest fragment. The decomposition rates of the mechanical treatment and the fragment were similar. The chemical treatment ended with the lowest volume of litter decomposed in the studied period. The chemical management of invasive plants was harmful to soil microorganism communities, leading to a lower decomposition rate. Thus, the use of mechanical management of invasive plants is less aggressive to soil microbial communities and positively influences the speed of soil biota regeneration, promoting forest restoration more efficiently.

**Keywords:** soil microorganisms, pesticides, forest restoration

## Introdução

Para existência das sociedades há, historicamente, uma demanda e pressão sobre os recursos naturais. No Brasil, altas taxas de desmatamento geraram cenários de degradação ambiental (ARRAES & MARIANO & SIMONASSI, 2012; DEFRIES et al. 2010; BRASIL, 2018; MACHADO & MACHADO FILHO, 2014; MARQUES, 2015; HENKEL & AMARAL, 2008; SOS MATA ATLÂNTICA & INPE, 2018).

A ciência da restauração florestal trabalha com a regeneração das muitas estruturas e funções dos ecossistemas (OLIVEIRA & ENGELS, 2011). Para que os plantios de restauração tenham sucesso, é geralmente necessário o controle de espécies invasoras, amplamente feito com herbicidas (MONQUEIRO et al, 2015; RESENDE & LELES, 2017; LUCHINI & ANDREA, 2002; VALARINI et al., 2003). Estes químicos, no ambiente, podem dispersos no ambiente, através da volatilização, lixiviação ou do escoamento superficial, ou, ser integrados no ecossistema, através da retenção e absorção dos mesmos na matéria orgânica e argila do solo. No solo, as moléculas de agrotóxicos são degradadas por processos abióticos e, devido a atuação dos microrganismos, processos bióticos (BOMBARDI, 2015; PRIMAVESI, 1990; RIBAS & MATSUMURA, 2009). Estes organismos, por sua vez, são também responsáveis

pela realização de funções ecossistêmicas fundamentais, dentre elas, a ciclagem de nutrientes (CARDINALE et al., 2006; FARLEY, 2012; NIELSEN & WINDING, 2002; TEEB, 2010; TÔSTO & PEREIRA & MANGABEIRA, 2012).

O manejo das plantas invasoras influencia diretamente a composição, atividade, massa e diversidade das comunidades de microrganismos do solo (AQUINO, 2006; ZILLI et al., 2003). Portanto, neste estudo comparamos dois diferentes tipos de manejo de invasoras aplicados a plantios de restauração florestal: o manejo químico, feito com herbicidas, e o manejo mecânico, feito com roçagem e poda manual. Além disso, comparamos os dois cenários de restauração com um fragmento florestal de floresta estacional semidecidual, adjacente aos plantios e preservado ao menos desde 1985, segundo imagens de MapBiomias (2019). Sendo próximo a monoculturas de cana-de-açúcar desde essa época, já sofreu grandes distúrbios devido a queimadas, principalmente. (ROCHA, 2015).

Para analisar os impactos do manejo nas comunidades de microrganismos do plantio de restauração e das comunidades do solo florestal, utilizamos cinco indicadores: respiração microbiana do solo, biomassa microbiana do solo, coeficiente metabólico do solo, qPCR quantitativo em tempo real e a taxa de decomposição da serapilheira.

## **Revisão Bibliográfica**

Os recursos naturais são cruciais para a sobrevivência das sociedades humanas. A obtenção de alimentos e moradia, e a preservação da saúde, são fundamentalmente dependentes da preservação destes recursos, que, por sua vez, também têm uma influencia direta na economia mundial. A pressão sobre os estoques de recursos é constante e crescente, especialmente no caso de países em desenvolvimento, como o Brasil (HENKEL & AMARAL, 2008). Em nosso país, a grande diversidade e disponibilidade de recursos naturais – água doce, florestas, diversidade agrícola e biológica, solos férteis e regime pluvial propício - levou a intensa exploração dos recursos naturais desde a invasão portuguesa, gerando prejuízos ambientais, cujas consequências estão sendo vividas hoje em dia (MARQUES, 2015). No caso das florestas, o desmatamento e os impactos negativos sobre a diversidade foram e são causados pela expansão urbana, atividade pecuária, agricultura e extração de recursos madeiros e minerais (ARRAES & MARIANO & SIMONASSI, 2012; DEFRIES et

al. 2010; HENKEL & AMARAL, 2008). A expansão agropecuária foi a principal responsável pela redução e fragmentação de áreas florestais e pastagens naturais na América Latina (FAO, 2016; BRASIL, 2015). Na Amazônia brasileira, em 2016 e 2017 foram registradas áreas anuais desmatadas em corte raso de 7900 km<sup>2</sup> e 6900 km<sup>2</sup>, respectivamente (BRASIL, 2018). A Floresta Atlântica foi reduzida a 12,4% de sua área original, sendo que destes, 7% são remanescentes com mais de 100 hectares, considerados em bom estado de conservação (SOS MATA ATLÂNTICA & INPE, 2018).

Neste cenário de altas taxas de desmatamento, técnicas e conceitos relativos à restauração florestal foram e continuam sendo desenvolvidos, elencando benefícios, desafios, potencialidades e fraquezas (OLIVEIRA & ENGELS, 2011). Lidando com isso, governos e instituições da sociedade civil organizada foram responsáveis por diversas iniciativas visando à regeneração da paisagem e dos ecossistemas. A partir da aprovação e implementação da nova Lei de Proteção da Vegetação Nativa (LPVN), ou o novo Código Florestal, foi criado o Cadastro Ambiental Rural – CAR, uma das ferramentas previstas no novo código. O CAR, um cadastro obrigatório, autodeclarado por quem possui a terra, visa à regulamentação das Áreas de Proteção Permanente e das Reservas Legais de acordo com a LPVN (BRASIL, 2012). O prazo final para o cadastro vem sendo adiado, mas existe considerável quantidade de dados disponíveis ([www.car.com.br](http://www.car.com.br)). Conseqüentemente, o reconhecimento de áreas que necessitam ser restauradas aumenta gradativamente, sendo crescente, portanto, a demanda por plantios eficientes ecologicamente e viáveis economicamente. Adicionalmente, visando estimular o uso sustentável de áreas protegidas foi regulamentado, pelo novo Código Florestal, o manejo silvicultural em Reservas Legais, tornando possível criar estratégias que concomitantemente visem a restauração florestal viável economicamente, integrando os atores no processo de restauração (BRASIL, 2012).

Em um processo de restauração efetivo, procura-se direcionar os processos vitais do ecossistema para uma trajetória diferente da degradação e resgatar funções e estrutura que possibilitem sua auto sustentabilidade a longo prazo, para assim criar um ecossistema novo, saudável e resiliente a longo prazo (OLIVEIRA & ENGELS, 2011). Para que seja restaurada uma área florestal, é necessário que haja um número mínimo de espécies na área, ocupando os estratos horizontais e verticais de maneira similar ao observado em ecossistemas sadios (ANDRADE & ROMEIRO, 2009; HUETING et al., 1997; TÔSTO & PEREIRA & MANGABEIRA 2012). Portanto, uma possível

estratégia para seleção de espécies e avaliação de funções do ecossistema em regeneração é a observação e análise comparativa em ecossistemas mais saudáveis e espacialmente próximos ao local onde se pretende restaurar.

Em termos de restauração do funcionamento dos ecossistemas, é necessário que haja geração ou manutenção de processos ecossistêmicos identificados nas áreas preservadas, fornecendo também à sociedade serviços ecossistêmicos (FARLEY, 2012; TEEB, 2010). Entre as funções ecossistêmicas que devem estar presentes em uma área restaurada, estão a ciclagem de nutrientes, o fornecimento de abrigo e alimento para fauna, a sustentação de qualidade, diversidade e atividade de microrganismos do solo, a retenção de água das chuvas próximas ao seu local de queda, entre outros (ANDRADE & TAVARES & COUTINHO, 2003; CORREIA et al., 20116; LEITE & ARAÚJO, 2007; TÔSTO & PEREIRA & MANGABEIRA, 2012; TEEB, 2010). Assim, uma floresta restaurada não é somente um conjunto de indivíduos arbóreos, mas um conjunto de indivíduos de diferentes formas de vida inter-relacionados, garantindo o funcionamento e a permanência do ecossistema ao longo do tempo.

A ação da micro e mesofauna do solo pode ser observada na serapilheira: através da transformação de material orgânico em material húmico, pela decomposição da matéria orgânica (ANDRADE & TAVARES & COUTINHO, 2003; BERUDE et al., 2015; CORREIA & OLIVEIRA, 2006). Este processo de degradação é realizado por enzimas intracelulares, associadas às células microbianas, e extracelulares, secretadas pelos microrganismos presentes no solo (ARAÚJO & MONTEIRO, 2007). Os nutrientes presentes na matéria orgânica decomposta são disponibilizados no solo por meio da mineralização, e conseqüentemente incorporados pelas plantas do sistema. Este processo é denominado ciclagem de nutrientes (ANDRADE & TAVARES & COUTINHO, 2003; BERUDE et al., 2015; CORREIA & OLIVEIRA, 2006), responsável pela nutrição das plantas que, por sua vez, representam a base da cadeia trófica, cumprindo diversas funções ecossistêmicas essenciais (AQUINO, 2006; ANDRADE & TAVARES & COUTINHO, 2003; CORREIA & OLIVEIRA, 2006).

A ciclagem ocorre pela ação dos microrganismos na matéria orgânica, por meio da produção de enzimas que degradam materiais específicos, e demandam atividade dos microrganismos para ser produzidas. Portanto, identificar a quantidade e atividade das comunidades de microrganismos no solo pode ser eficaz para indicar a qualidade da ciclagem de nutrientes, dado que, a partir dos valores de indicadores obtidos e sua correlação, podemos compreender a atuação das comunidades microbianas do solo em

resposta ao ambiente, atuação fundamental para a ciclagem de nutrientes (AQUINO, 2006; BERUDE et al., 2015; CORREIA & OLIVEIRA, 2006).

A quantidade e atividade destes microrganismos no solo depende de fatores ambientais, como pH, temperatura, umidade, e da presença de outras substâncias no solo, sendo possível observar mudanças na atividade enzimática de acordo com manejo aplicado (SANTOS & MAIA, 2013). A diversidade e atividade microbiana variam em função do regime hídrico, do clima, da qualidade e quantidade de matéria orgânica no solo e do tipo de manejo dado, quando for o caso (AQUINO, 2006; ZILLI et al., 2003). A atividade microbiana é fundamental para que haja ciclagem de nutrientes de maneira eficiente, além de maior resistência e resiliência das comunidades do solo contra microrganismos patogênicos e/ou desequilíbrios populacionais. Sendo assim, é possível correlacionar a diversidade de microrganismos com uma melhor saúde e equilíbrio dinâmico do ecossistema e com maior produtividade (CARDINALE et al., 2006; NIELSEN & WINDING, 2002; PRIMAVESI, 2003; TILMAN et al. 1997).

Uma vez que a presença de plantas invasoras é um dos fatores de maior impacto, limitando o sucesso de áreas de restauração florestal, o controle destas espécies é um tema muito estudado, possuindo diversas técnicas de manejos distintas para lidar com esta questão. Dentre as práticas mais utilizadas, estão incluídas as que se baseiam em culturais, com uso de técnicas como rotação de culturas; o mecânico, com uso de máquinas e ferramentas agrícolas, como roçadeiras, enxadas rotativas; e químicos, com uso de agrotóxicos (MONQUEIRO et al, 2015; RESENDE & LELES, 2017). O controle químico é amplamente utilizado no Brasil, sendo feito com uso de herbicidas de amplo espectro (BOMBARDI, 2015).

Pode-se distinguir os agrotóxicos entre seletivos e não seletivos. Os primeiros, como o glifosato, afetam todas as plantas que tem algum contato – com exceção de plantas transgênicas resistentes (ROMAN et. al, 2005). Este agrotóxico em específico apresenta alta adsorção no solo. A degradação da molécula ativa é rápida, porém seus componentes secundários podem permanecer por meses no solo (TONI et al., 2006). Os agrotóxicos seletivos, como o cletodim, afetam grupos de plantas específicos. Este, em especial, as gramíneas. Sua molécula ativa é degradada no solo de 1 a 3 dias, e na água em aproximadamente 300 dias. (ADAMA, 2010). Em oposição ao glifosato, este agrotóxico apresenta alta mobilidade no solo (NORTOX, 2017). Assim, no solo sua molécula ativa é degradada em poucos dias, mas se em contato com a água – como

escoamentos superficiais, ou a solução do solo – pode permanecer não degradada por quase um ano.

. O uso de controle químico de maneira inadequada pode causar poluição de mananciais subterrâneos e superficiais, degradação dos solos e ecossistemas terrestres e aquáticos e diminuição da saúde humana (BOMBARDI, 2015; PRIMAVERSI 2003; RIBAS & MATSUMURA, 2009). Em geral, uma vez liberados no ambiente, os agrotóxicos podem ser retidos na matéria orgânica e argila do solo, podem ser absorvidos, lixiviar, volatilizar ou sofrer escoamento superficial contaminando rios e lagos, a depender das especificidades da molécula em questão. A degradação de moléculas destes químicos ocorre por meios abióticos, a luz solar e interações com características físico-químicas do solo, e por meios bióticos, pela ação dos microrganismos do solo. O tempo de degradação destas moléculas varia de acordo com a natureza do químico, das condições ambientais e das condições de vida do solo, podendo variar de dias a centenas de anos, originando eventualmente novas moléculas durante o processo de degradação (LUCHINI & ANDREA, 2002; VALARINI et al., 2003).

Há diferentes resultados referentes à análise do impacto do uso de agrotóxicos na biomassa microbiana no solo. Por um lado, Torres et al. (2018) encontrou que a aplicação dos herbicidas saflufenacil e indaziflam não diminuiu a população da maioria das bactérias, mas afetou as comunidades de fungos. Por outro lado, Ferreira et al. (2006) registrou degradação da biomassa de comunidades microbianas devido a aplicação dos agrotóxicos – carbaril, fenitrothion, metamidofos, vamidotion, ciflutrin, permetrina, deltrametrina, cipermetrina, mancozeb, enxofre, clorotalonil, oxicloreto de cobre e captan – e devido às técnicas de manejo de solo. Reis et al. (2008a), Reis et al. (2008b) e Tironi et al. (2009) identificaram tanto impactos positivos quanto negativos causados à atividade e biomassa das comunidades microbianas do solo, indicando que o manejo aplicado às comunidades vegetais afeta as comunidades do solo. Ainda, Andrighetti et al. (2014) identificaram que bactérias em solos que recebem a mais tempo aplicações de glifosato tem menor capacidade de degradação destes, quando comparadas com bactérias em solos com menor tempo de aplicações, evidenciando impacto cumulativo, a longo prazo, do uso de herbicida.

## **Materiais e Métodos**

O estudo foi realizado no ano de 2019 em um plantio de restauração florestal implantado no ano de 2017, e em um fragmento florestal, localizados no Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de São Carlos, campus Araras. O clima da região, segundo Köppen (1948), é do tipo Cwa - com verões chuvosos, e invernos secos, com temperatura média anual de 21,4°C e precipitação anual média de 1.441 mm. O déficit hídrico ocorre entre os meses de Maio e Setembro. Nestes meses de seca, a precipitação média é de 50 mm por mês, com picos de apenas 30 mm ao mês, em Junho e Julho. Nos meses de chuvas, a média é de 190 mm, com picos de 240 mm em Dezembro e Janeiro. (VALLADARES & AVANCINI & TÔSTO, 2008). Na figura 1, alguns dados climáticos médios de Araras – SP.

Mês	Mínima (°C)	Máxima (°C)	Precipitação (mm)
Janeiro	20°	27°	258
Fevereiro	20°	28°	201
Março	19°	28°	165
Abril	17°	26°	77
Maio	14°	23°	69
Junho	14°	24°	35
Julho	14°	24°	27
Agosto	15°	28°	30
Setembro	17°	29°	85
Outubro	19°	30°	121
Novembro	19°	29°	151
Dezembro	20°	29°	237

Figura 2: Dados climáticos ao longo de um ano, em Araras – SP. Fonte: Climatempo

### **Delineamento experimental**

Para avaliar se diferentes tipos de manejo, que visam o controle de plantas invasoras, influenciam a estrutura e funcionamento da micro fauna do solo nós avaliamos a Respiração Basal do Solo - RBS, a Biomassa de Carbono Microbiano do

solo - BMC, o Coeficiente metabólico do solo -  $qCO_2$ , o PCR quantitativo em tempo real -  $qPCR$  e a taxa de decomposição da serapilheira, em áreas de restauração submetidas ao manejo mecânico ou ao manejo químico e em um fragmento florestal preservado. Portanto selecionamos aleatoriamente 20 parcelas (3m x 10m) em cada tratamento do plantio de restauração e 20 parcelas no fragmento florestal. O estudo teve um período de onze meses.

### **Plantio de restauração**

O plantio foi feito em uma área anteriormente cultivada por cana-de-açúcar e possui uma área de 17280 m<sup>2</sup>. O solo no plantio apresenta alta homogeneidade, como observado em Rezende et al. (2020, no prelo). A composição do plantio é sistemática sendo as linhas divididas em dois grupos: preenchimento, com 20 espécies pioneiras, e diversidade, com 20 espécies secundárias. Estas linhas estão dispostas de maneira alternada ao longo de toda área. Ademais, a sequência das árvores em cada linha era igual em todo o plantio, seguindo espaçamento de 2 m entre plantas na linha de 3 m de entrelinha. Isso garante que a qualidade do material vegetal proveniente das árvores que se deposita no solo seja semelhante em todo o plantio. Mesmo assim, os tratamentos levam a um aporte de matéria orgânica proveniente das plantas invasoras distinto ao solo.

No tratamento de controle mecânico de plantas invasoras, a matéria orgânica logo após ser roçada fica em contato com a superfície do solo. No tratamento químico, a matéria orgânica (planta invasora) vai dessecando aos poucos, sendo depositada no solo mais tardiamente.

Como relatado por Rezende et al. (2020, no prelo), no tratamento químico o diâmetro médio das árvores é de 3,7 cm, maior do que no tratamento mecânico, com valor médio de 2,8 cm. Essa mesma relação se observa na altura, onde as alturas do tratamento químico são maiores em comparação às do tratamento mecânico. Assim, segundo o autor, a estrutura do plantio sob tratamento químico apresentou melhor desempenho.

Os tratamentos mecânicos e químicos seguiram a subdivisão com a qual foram implementados: três blocos de cada tratamento, cada bloco com 8 linhas de 50 metros. No total, cada tratamento apresenta 24 linhas, sendo que cada linha é composta por espécies arbóreas de recobrimento e de diversidade, alternadamente, ao longo dos

blocos. Todas as linhas foram divididas a cada metro linear, para sortear 20 parcelas por tratamento, de 3 m x 10 m, centralizando a linha de árvores.

O tratamento químico foi realizado com a dose comercial de glifosato e de clethodin, em 2 L p.c/ha e 0,6 L p.c/ha, respectivamente. Os herbicidas foram aplicados com bomba costal de pressão interna constante, pressurizada com cilindro de CO<sub>2</sub>, conectada à uma barra aplicadora com quatro bicos 11002VS em uma vazão de 200 L/ha. O tratamento mecânico foi manual, realizado com roçadeira, em grupo de nove pessoas. As plantas invasoras foram roçadas rentes ao solo e deixadas no local de corte.

### **Fragmento Florestal**

Neste fragmento, de aproximadamente 125 mil m<sup>2</sup>, existe uma passagem, antigo aceiro contra incêndios, de aproximadamente 5 m de largura, cortando-o em duas parcelas, pouco visíveis em fotos de satélite (Figura 2). O último incêndio que se tem registro foi em 2008 (Rocha, 2015). É uma área que sofreu forte influência antrópica, pois além dos incêndios, a área é cercada por canaviais, pela rodovia Anhanguera e por uma represa. Nesta área, Fernandes et al. (2017, não publicado) relatou a presença de 97 espécies de 39 famílias, onde indivíduos de DAP maior ou igual a 5,0 cm apresentaram densidade de 790 indivíduos.ha<sup>-1</sup>.

Para o sorteio dos pontos, dividiu-se a passagem em metros lineares. Cada metro linear poderia adentrar na mata 0, 10, 20 ou 30 metros para esquerda ou para a direita, no sentido decrescente da declividade do terreno. Desta forma, sorteamos 20 pontos coleta de solo para analisar a atividade microbiana e taxas de decomposição.



Figura 2: Áreas de estudo, contornadas em branco, de cima para baixo na imagem, a área de fragmento florestal, cortada por uma linha vermelha, indicando a passagem usada no sorteio, e as áreas de plantio de restauração florestal implantadas em 2016.

### **Atividades realizadas**

As primeiras coletas de solo e a alocação das bolsas de serapilheira foram realizadas em Maio de 2019, marcando o início do estudo.

Para analisar a atividade microbiana, coletamos solo em todas as parcelas dos plantios e da floresta com um trado holandês, a uma profundidade de 15 cm. Em cada parcela, coletamos três sub-amostras aleatoriamente, e estas, misturadas, constituíam a amostra relativa ao ponto. Para que a heterogeneidade do solo e da distribuição das comunidades de microrganismos fosse minimizada, foram misturados sequencialmente as amostras de dois pontos em um mesmo recipiente, e processados desta forma. Sendo assim, os 20 pontos em cada tratamento, no campo, foram fundidos em 10 amostras para análise (sem considerar as repetições necessárias a cada protocolo).

Para coletas de solo do plantio e do fragmento, todas as rodadas de análise de RBS foram iniciadas no mesmo dia das coletas, seguindo os protocolos de Grisi (1995) e Silva et al. (2007). Para as análises do BMC, quando necessário, as amostras foram armazenadas na geladeira até o processamento, seguindo os protocolos de Silva et al. (2007) e Vance et al. (1987). O  $q\text{CO}_2$  foi calculado com base nos outros dois indicadores mensurados, a RBS e a BMC.

A análise de qPCR foi realizada com seis amostras compostas (referentes a 12 pontos) tratamento químico, seis compostas no mecânico e outras seis amostras compostas no fragmento florestal, resultando em 18 amostras. Esta análise é de alto valor monetário, além de ser realizada em outro município. Sendo assim, foi realizada apenas com as amostras das coletas iniciais, no primeiro dia após o manejo nas áreas. Os protocolos seguidos foram os encontrados em Bigaton (2014) e Guimere (2017), sendo o de extração fornecido pelo fabricante do *kit*.

As coletas e análises das amostras de solo foram realizadas no Laboratório de Microbiologia Agrícola e Molecular da Universidade Federal de São Carlos. Houve cinco coletas de solo nos tratamentos de restauração e três no fragmento florestal. As coletas do plantio de restauração foram realizadas com base no tempo médio de degradação dos agrotóxicos aplicados (glifosato + cletodim) (MORAES & ROSSI, 2010), buscando identificar as variações na atividade (RBS) e na quantidade (BMC) das comunidades de microrganismos do solo. As coletas do fragmento foram realizadas a cada 60 dias, para que seja possível traçar uma curva média de existência das comunidades microbianas ao longo do período estudado.

As amostras da primeira coleta dos dois tratamentos do plantio de restauração e da floresta foram analisadas no Laboratório de Solos da ESALQ, realizando o PCR quantitativo em tempo real (qPCR) para fungos e bactérias, ao longo de dois dias de processamento e análise das amostras. Foram realizadas cinco coletas de solo no plantio e três no fragmento.

Além das análises de atividade microbiana no solo, realizamos a análise da taxa de decomposição da serapilheira, buscando identificar como estava o andamento da decomposição da serapilheira, indicador do processo de ciclagem de nutrientes e fornecimento de matéria orgânica ao solo, dentre outros. Coletamos serapilheira existente nas parcelas, secamos e inserimos 5g de cada ponto em bolsas de malha de nylon de 20cm x 20cm. Para cada parcela foram feitas 4 bolsas, contendo o mesmo material vindo da parcela. Após, cada bolsa foi alocada na parcela de onde foi coletada a serapilheira que ela continha. Ao longo do experimento, coletamos as bolsas uma em cada ponto a cada coleta. As coletas foram realizadas nos dias 45, 90, 180, 315 após a alocação das bolsas em campo.

Todas as análises foram feitas no R (R Core Team, 2019). Para saber se havia diferença nas variáveis entre os plantios de restauração, realizamos testes t corrigidos pelo método de Bonferroni, para prevenir falsas conclusões por testar múltiplas

hipóteses. Realizamos ainda análises de variância incluindo a Floresta, para aferir diferenças entre os plantios e a áreas reflorestadas. Além disso, incluímos uma análise temporal da atividade microbiana nos tratamentos, por meio de um modelo misto, considerando os tratamentos e o tempo desde o manejo como fatores fixos e as parcelas como fator aleatório (LINDSTROM & BATES, 1990). Identificamos variação nas taxas de BMC, RBS,  $qCO_2$  e na taxa de decomposição da serapilheira do solo entre os tratamentos e também ao longo do tempo – o que é esperado, devido a flutuações climáticas.

## **Resultados e Discussão**

Como observado por Alves et al. (2011), fatores climáticos são de grande influência nos resultados globais de análises microbiológicas. Desta forma, procuramos entender a relação dos resultados obtidos com o contexto temporal das áreas experimentais.

### *Análises da atividade microbiana do solo*

As comunidades de microrganismos do fragmento apresentaram alta estabilidade ao longo dos meses de coleta. As comunidades do plantio de restauração, no tratamento mecânico e químico, indicaram distúrbio em relação à área de floresta preservada, na qual a atividade microbiana e a taxa de decomposição se mantiveram equilibradas, apenas respondendo às mudanças estacionais (Fig. 3) No manejo mecânico, a recuperação do distúrbio manteve valores menores comparados aos do fragmento florestal, porém apresentando curva mais atenuada em comparação ao tratamento químico. Entretanto, a proximidade entre os tratamentos do plantio de restauração foi maior do que entre o tratamento mecânico e o fragmento de floresta. O impacto na comunidade microbiana do solo teve resposta diferente entre os tratamentos ao longo do tempo (Fig. 3). O tratamento mecânico apresentou taxa de decomposição acima do tratamento químico e abaixo do fragmento florestal. Além, apresentou maior atividade de espécies microbianas no solo em comparação ao tratamento químico, também estando abaixo dos valores encontrados no fragmento florestal (Fig 3).

Portanto, o manejo mecânico achata a curva de distúrbio das comunidades microbianas do solo, causando menor pico de extrema atividade inicial - em resposta ao distúrbio causado pelos tratamentos - e menor depressão, com recuperação mais rápida

da comunidade e possivelmente, regeneração dos serviços e funções do ecossistema (Fig. 3). O benefício do achatamento da curva de impacto na atividade e diversidade microbianas no solo afeta o funcionamento das comunidades e, como consequência, a taxa de decomposição da serapilheira, como pudemos corroborar pelas diferenças observadas nos modelos de regressão discutidos mais à frente, com as figuras 7 e 8. Houve diferença ao longo do tempo, o que é esperado, e ademais, o tratamento mecânico apresentou taxa de decomposição maior do que o químico, ainda que ambos tenha tido taxas inferiores às da floresta preservada.

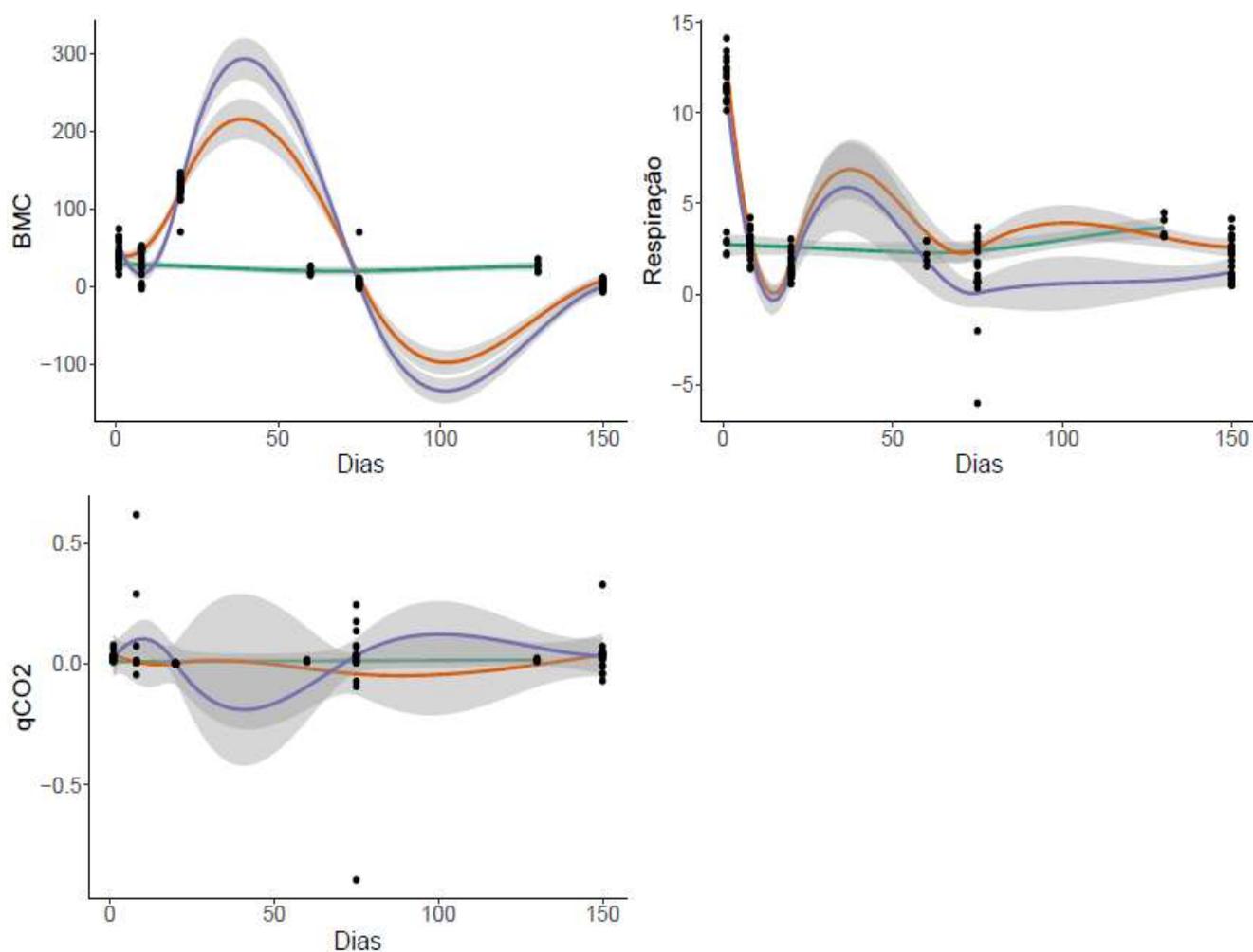


Figura 3: Indicadores da atividade microbiana do solo analisados ao longo do tempo (Dias) desde a implantação dos tratamentos em campo. Linhas verdes = fragmento florestal. Linhas vermelhas = tratamento mecânico. Linhas azuis = tratamento químico. Variáveis analisadas: Respiração – Respiração Basal do Solo (RBS); valores expressos em  $\text{mg de C - CO}_2 \text{ kg}^{-1} \text{ solo hora}^{-1}$ . BMC – Biomassa de Carbono Microbiano do Solo; valores expressos em  $\text{mg Cmicrobiano Kg}^{-1} \text{ solo}$ ,  $q\text{CO}_2$  – coeficiente metabólico do solo; valores expressos em  $\text{mg de C - CO}_2 \cdot \text{g}^{-1} \text{ BMC - C.H}^{-1}$ .

### **Respiração basal do solo (RBS)**

A primeira coleta foi realizada na primeira quinzena de Julho, na metade do período mais seco do ano. Os valores altos de RBS em ambos os tratamentos do plantio, no primeiro cenário, são consequência da atividade das comunidades microbiológicas quando sofrem o aporte matéria orgânica ou a reação os agrotóxicos aplicados (ISLAM e WEIL, 2000). Ainda, este aumento da taxa da respiração pode significar tanto alta produtividade em comunidades microbiológicas saudáveis quanto uma resposta a distúrbios ecológicos (ISLAM e WEIL, 2000). Como não houve pico de valores no fragmento florestal, apenas nos tratamentos do plantio de restauração, o manejo químico e o mecânico foram os responsáveis pelo aumento súbito.

Oito dias após os manejos, os valores relativos do tratamento mecânico se mantiveram maiores do que os do tratamento químico em relação à respiração (Figura 4). Ambos tiveram queda acentuada nos valores 20 dias após o tratamento, assim como apresentada pela medida da BMC, sendo que a queda do mecânico foi menos acentuada em comparação ao químico. Aos setenta e cinco dias após o manejo, os valores de respiração do tratamento mecânico aumentam e mantiveram-se aos 150 dias após o manejo. Esta aparente estabilidade, similar a observada no fragmento florestal, indica que a comunidade microbiana está estruturada no solo nesta ocasião, pois provavelmente havia maior diversidade de microrganismos vivos para recolonizar o solo rapidamente, com valores similares aos encontrados no fragmento florestal (Fig. 3).

No tratamento químico, o pico de respiração foi seguido de queda sem recuperação significativa, indicando que o impacto do distúrbio perdurou até pelo menos 150 dias após tratamento, mantendo valores abaixo do tratamento mecânico e do fragmento florestal. Em suma, aplicar os herbicidas e roçar a as plantas invasoras levam à um pico de respiração, indicando distúrbio sobre a comunidade microbiana do solo. Porém, os agrotóxicos do manejo químico provavelmente eliminaram mais microrganismos sensíveis e selecionaram resistentes com maior intensidade, tornando o desequilíbrio mais intenso. No tratamento mecânico, houve menor intensidade de eliminação e seleção dos microrganismos, pois a recolonização do solo teve um pico de resposta imediato ao manejo. Como não há microrganismos em abundância para esta recolonização, no tratamento químico, os valores de respiração (e de BMC) mantiveram-se baixos e constantes, após o pico de respiração em resposta ao distúrbio causado (Figuras 4 e 5, respectivamente).

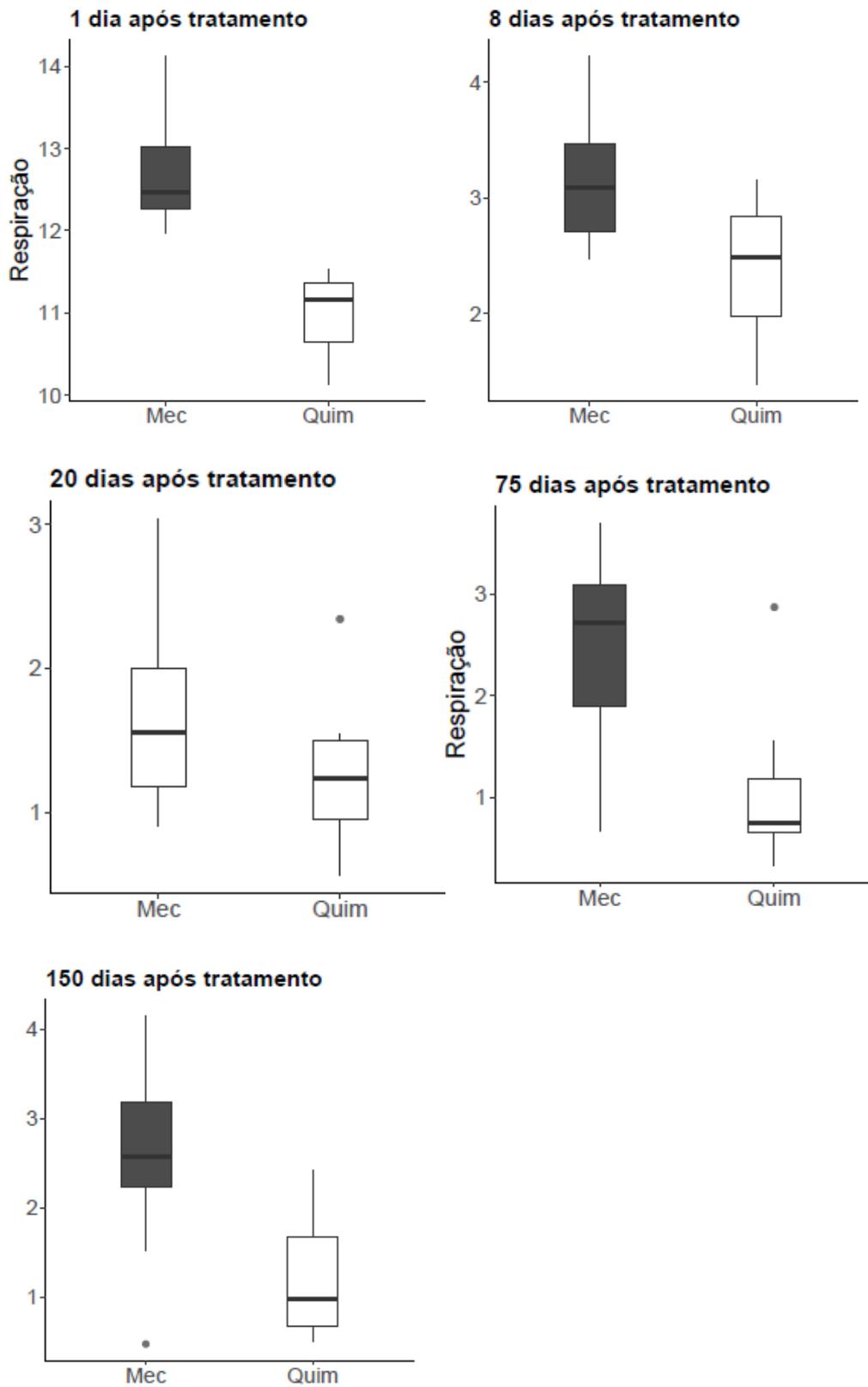


Figura 4: Respiração basal do solo nos tratamentos do plantio de restauração. Ressalta-se as diferentes escalas do eixo y. Valores expressos em mg de C – CO<sub>2</sub> kg<sup>-1</sup> solo hora<sup>-1</sup>. Diferentes cores indicam diferenças significativas seguindo teste de Tukey.

### **Biomassa Microbiana do Solo (BMC)**

No primeiro dia após os manejos nos dois tratamentos, observamos altas taxas BMC, superiores às da floresta, indicando alta atividade de microrganismos (Fig. 5). No plantio de restauração com tratamento químico, observaram-se os maiores valores de BMC. No manejo mecânico, os valores de BMC indicam atividade ainda muito superior à da floresta logo, porém menor do que a BMC do manejo químico. O aumento da atividade microbiana pode estar relacionado ao grande aporte de matéria orgânica na superfície do solo no tratamento mecânico e, no tratamento químico, pelo impacto causado em grupos sensíveis, levando ao aumento drástico e à dominância populacional de algumas espécies capazes de tolerar a molécula (HANEY et al., 2000; BUSSE et al., 2001; ZILLI, 2007).

Aos oito dias após os manejos, houve queda nos valores de BMC nos dois tratamentos, sendo maior no tratamento químico. A queda na atividade vai além da atividade encontrada na floresta e beira a inatividade, indicando perturbação nas comunidades bióticas do solo nos dois tratamentos. No entanto, no tratamento químico, a desestruturação da comunidade é mais severa e indica que não há recuperação após um ano de análise. Já o tratamento mecânico indicou aumento na atividade microbiana ao fim do experimento, apontando para maior sobrevivência de grupos bióticos no solo que puderam recolonizar mais rapidamente e retomar seu funcionamento.

Aos vinte dias após os manejos, ocorreu um aumento tanto do fragmento florestal quanto do plantio em ambos os tratamentos, sendo, na curva geral, o ponto máximo de atividade pós manejo (Fig. 3 e 5). A partir destas coletas, aos setenta e cinco e aos cento e cinquenta dias observamos um declínio seguido de estabilidade, sendo que a curva do tratamento mecânico apresentou atividade superior ao químico, apesar de ainda estar inferior às taxas do fragmento florestal. Neste, a queda mais extrema e de forma progressiva, chegando a valores que indicam baixa presença de microrganismos no solo (Fig. 5).

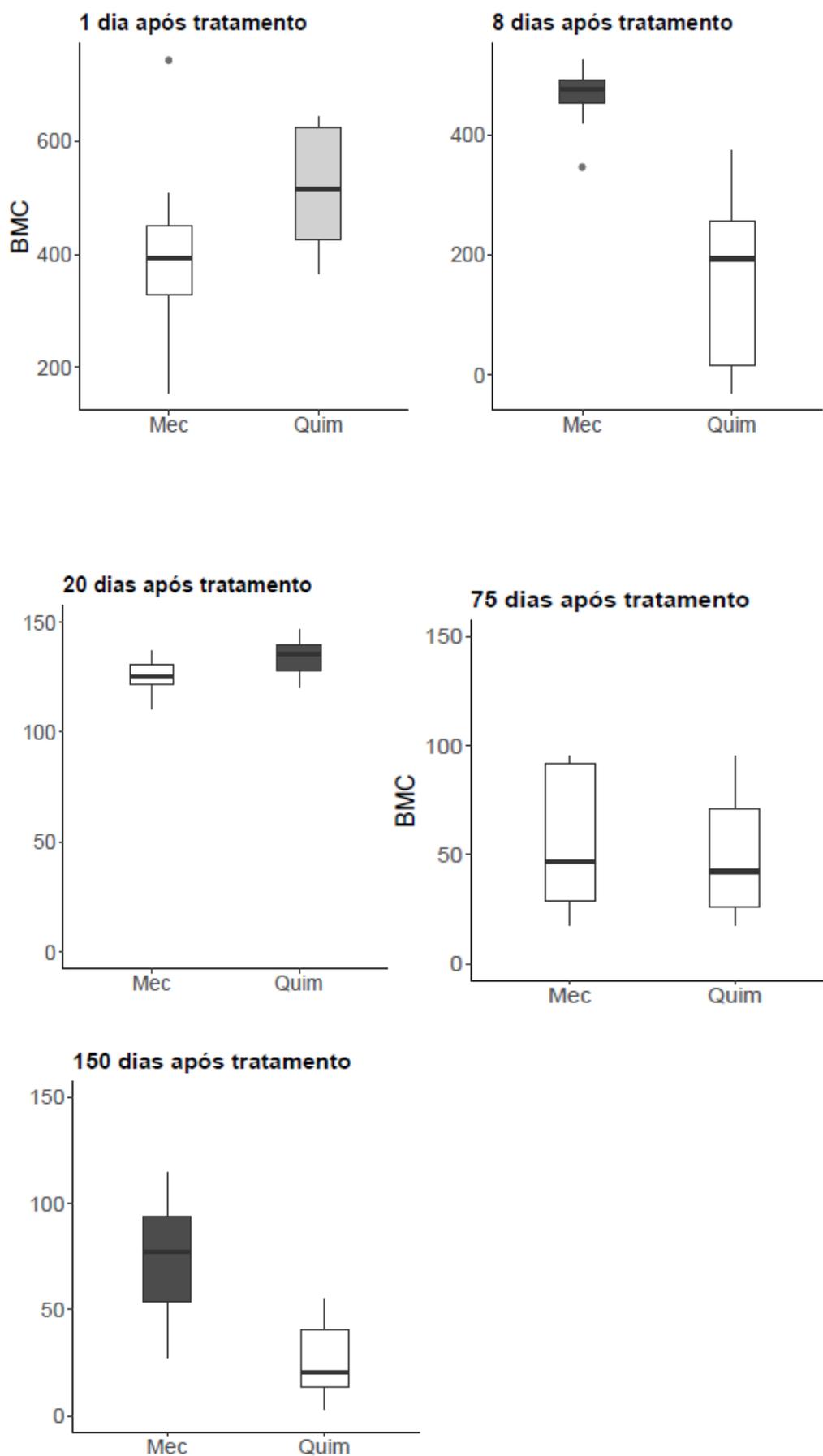


Figura 5: Boxplots com os valores de Carbono da biomassa microbiana do solo (BMC) para os

dois tipos de manejo de restauração florestal: mecânico e químico. Valores expressos em  $\text{mg Cmicrobiano Kg}^{-1}\text{solo.Floresta}$  = fragmento florestal, Quim = tratamento químico do plantio, Mec = tratamento mecânico do plantio. Ressalta-se a diferença entre as proporções nas escalas dos eixos y dos dois gráficos. Diferentes cores indicam diferenças significativas seguindo teste de Tukey ( $P < 0.05$ ). No primeiro dia, a diferença encontrada é marginalmente significativa ( $P = 0.07$ ).

### **Coefficiente metabólico do solo (qCO<sub>2</sub>)**

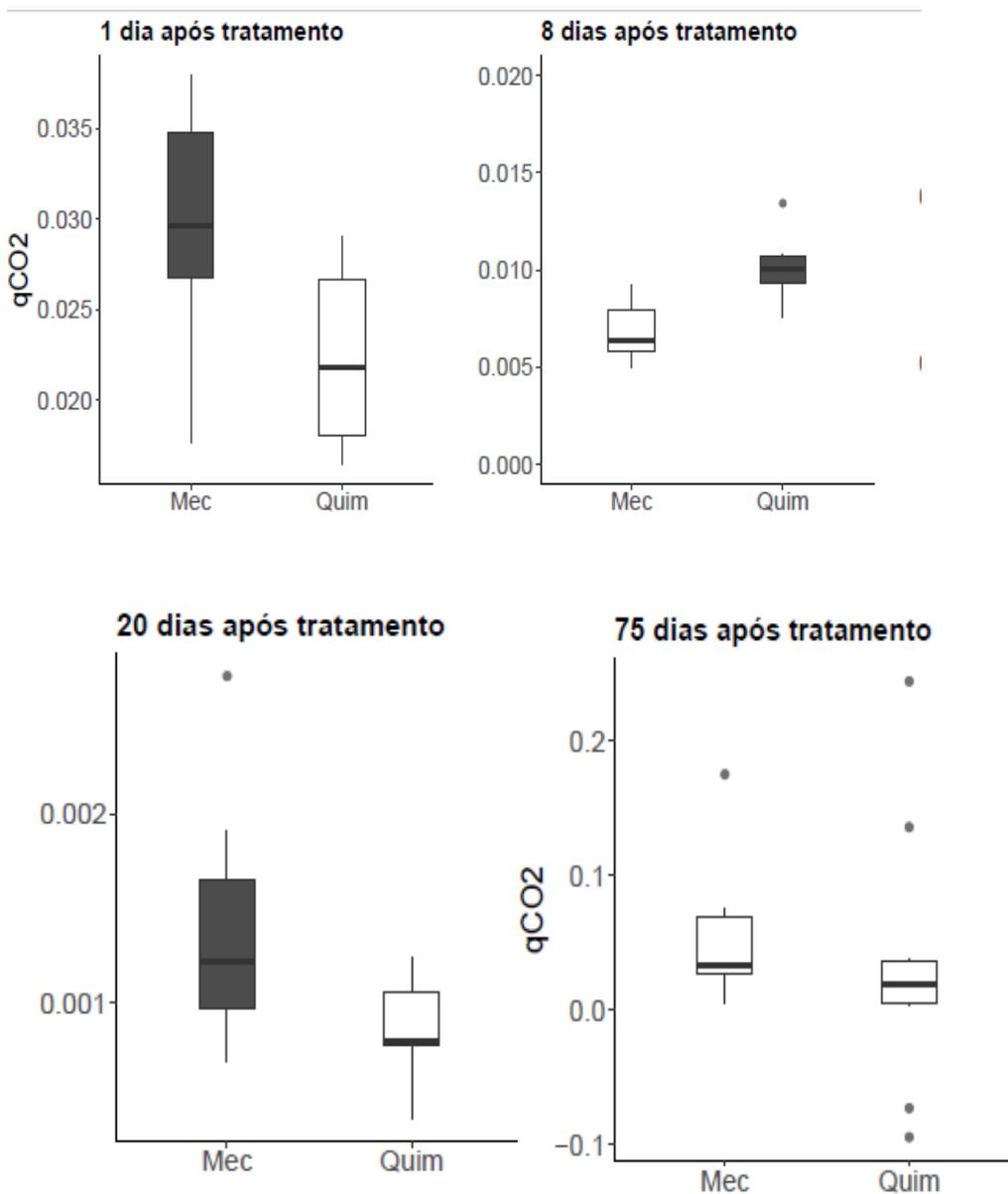
A coleta do primeiro dia após o tratamento indica o aumento escalar do coeficiente metabólico no tratamento químico, associado à um pico de valores de BMC para o mesmo cenário. Isso indica altas taxas de oxidação das células e perda de carbono microbiano, sugerindo situação de estresse e desequilíbrio negativo para a comunidade do solo e, portanto, das funções ecossistêmicas (ALVES et. al, 2011). No tratamento mecânico, o coeficiente metabólico também aumentou, provavelmente devido à deposição da camada de matéria orgânica sobre o solo (Fig. 6).

No segundo momento, oito dias após o tratamento, ambos os tratamentos diminuíram os valores do coeficiente metabólico. O coeficiente do tratamento químico manteve-se maior do que o mecânico, concomitante taxas de BMC em queda, indicando continuidade no processo de perda do carbono microbiano do solo. No tratamento mecânico, o coeficiente metabólico diminuiu em conjunto com o aumento da BMC, indicando estabilidade do sistema após o distúrbio causado pelo aporte de matéria orgânica. Isso indica uma comunidade relativamente mais estável, fixando mais carbono em uma população que prospera mais do que emite CO<sub>2</sub>, respirando.

Aos 75 e 150 dias após os manejos, os valores mantiveram-se altos, sem diferença entre si. Porém, observando-os em conjunto aos gráficos de BMC e RBS, pode-se observar que no tratamento mecânico há um aumento de biomassa e diminuição de respiração, indicando, em conjunto com a estabilidade do qCO<sub>2</sub>, uma condição de equilíbrio dinâmico das comunidades. No tratamento químico, porém, a estabilidade do qCO<sub>2</sub> é acompanhada de baixos valores de BMC e RBS, indicando inatividade da comunidade (Fig. 6).

Este coeficiente representa a taxa de respiração específica da biomassa microbiana. Altos valores de qCO<sub>2</sub> indicam oxidação das células das células microbianas pelas próprias populações, sugerindo que há um distúrbio no sistema (ALVES et al., 2011; ISLAM & WEIL, 2000). Este distúrbio pode ser positivo ou

negativo para a comunidade: tanto aplicação de herbicida quanto de matéria orgânica aumentam o  $qCO_2$ . Em sistemas estáveis, a BMC tende a aumentar e o  $qCO_2$  diminuir, devido à uma maior fixação de carbono nas células, que deixam de emitir  $CO_2$  (ALVES et al., 2011). Desta forma, comparado os resultados de  $qCO_2$  e BMC obtidos neste trabalho, corroboramos com resultados observados em bibliografia.



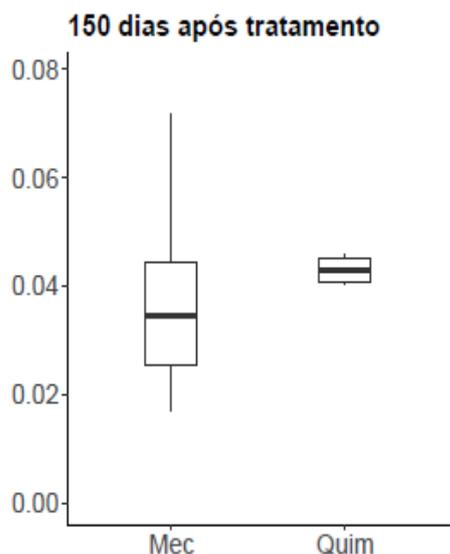


Figura 6: Valores do coeficiente metabólico do solo ( $qCO_2$ ) ao longo do tempo, em dias, após o manejo em cada um dos dois tratamentos. Ressalta-se a diferença das escalas no eixo y. Valores expressos em  $mgC - CO_2 \cdot g^{-1}BMC - C.H^{-1}$ . Diferentes cores indicam diferenças significativas seguindo teste de Tukey.

### PCR quantitativo (qPCR)

Essa análise foi realizada com amostras do dia 1 após o tratamento. Os tratamentos do plantio apresentaram menor quantidade de bactérias, em comparação ao fragmento. A quantidade de fungos foi igual em todos os tratamentos (Fig. 7).

Os resultados do tratamento químico corroboram com resultados apresentados em Andrighetti et al. (2014), no qual as populações bacterianas sofreram um distúrbio deletério em presença glifosato. Já as comunidades fúngicas apresentaram quantidade de fungos estatisticamente iguais. Todavia, em um panorama incluindo bactérias e fungos, a respiração alta (RBS) associada à queda da BMC indica que a população está em alta atividade, mas perdendo células, um cenário deletério da saúde das comunidades do solo. Os resultados do tratamento mecânico indicam mesmo impacto nas comunidades de fungos quando comparado ao tratamento químico.

As populações bacterianas apresentaram-se menores nos tratamentos do plantio em comparação ao fragmento. A queda na população de bactérias é maior no tratamento mecânico em relação ao químico. Porém, como indicam as análises de BMC, RBS E  $qCO_2$ , este aumento de atividade e número de células no tratamento químico em relação ao mecânico é seguido de uma queda de BMC no tratamento químico, indicando uma diminuição no número de células, pela perda de carbono microbiano em um curto

espaço de tempo. Pelo contrário, no tratamento mecânico, os valores de BMC aumentam e os de RBS diminuíram ao longo do tempo, indicando aumento, fortalecimento e reestruturação das comunidades do solo.

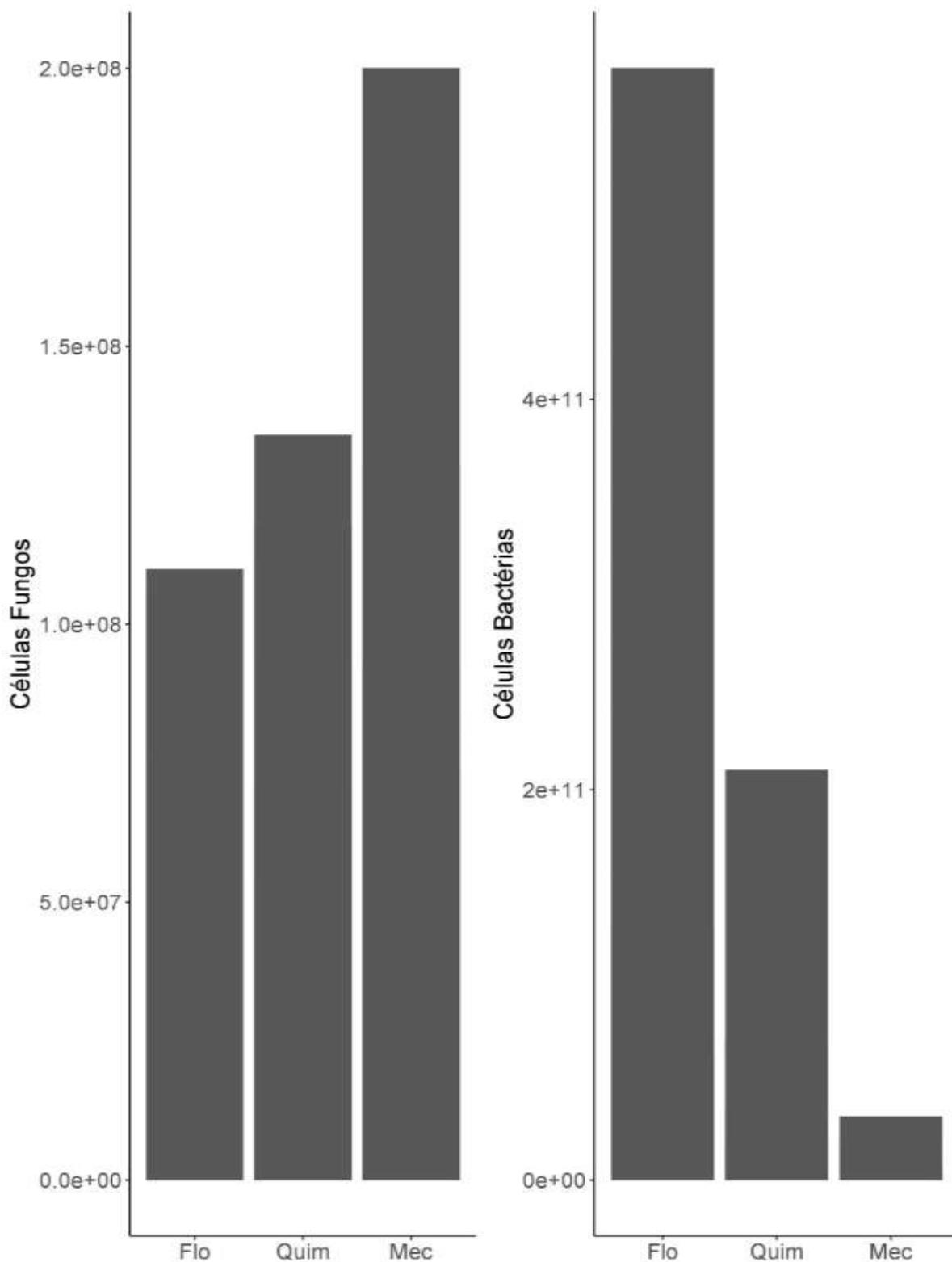


Figura 7: Células de fungos, à esquerda, e células de bactérias, à direita. Valores produzidos por

análises de qPCR. Nenhum dos três tratamentos apresenta diferença entre si, nas quantidades de células de fungos, seguindo Anova ( $P > 0,05$ ). Nas quantidades de células de bactérias, os três tratamentos apresentam diferença significativa, seguindo Anova ( $P < 0,05$ ).

### **Decomposição da serapilheira**

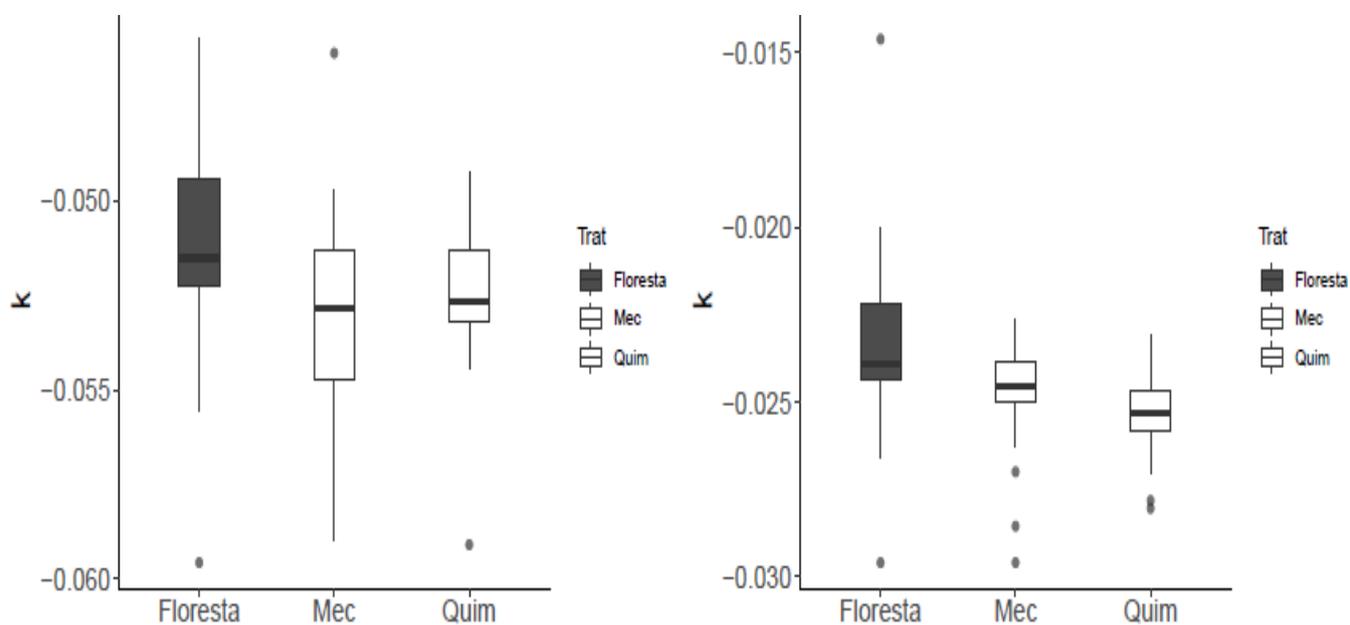
Para determinação da taxa de decomposição das amostras de serapilheira contidas nas bolsas, utilizamos as massas de serrapilheira presentes nas bolsas em cada coleta (Fig. 8 e 9), conforme o protocolo de Pérez-Harguindeguy, et al. (2013).

As bolsas foram alocadas nos últimos cinco dias de Maio de 2019 sobre a pouca serapilheira que havia, pois ao fim da época das chuvas a camada espessa de matéria orgânica formada no outono já foi decomposta. Havia ainda precipitação média moderada, não estando entre os valores mais altos nem os mais baixos. No tratamento mecânico, as bolsas tinham sobre si mais matéria orgânica advinda da manejo das plantas invasoras do que no tratamento químico, aonde as plantas são dessecadas vagarosamente pelos herbicidas, demorando para serem depositadas ao solo. Esta diferença é um dos impactos do manejo - além do impacto direto da molécula de herbicida no solo -, afetando a qualidade da matéria orgânica proveniente das plantas invasoras depositada no solo, causando, assim, impactos nas comunidades de microrganismo do solo.

Levando em consideração a alta influência de fatores climáticos na taxa de decomposição, podemos observar na Figura 8 que até a terceira coleta os valores da taxa de decomposição foram menores do que no fragmento, e iguais entre si. Na quarta coleta, realizada em fevereiro, as chuvas propiciaram ambientes favoráveis a um aumento na taxa de decomposição e foi possível observar diferenças entre os manejos de restauração florestal. O tratamento químico apresentou taxas de decomposição menores do que o manejo mecânico, indicando que houve comprometimento da decomposição pelo tratamento aplicado. Na Figura 9 é possível observar a curva da taxa de decomposição ao longo do período estudado. Ainda, na Figura 10, é explícito um decaimento linear das massas de serapilheira, onde a diminuição média da massa em cada bolsa é mais intensa no fragmento, seguido do tratamento mecânico e, depois, o químico.

Em suma, o impacto deletério às comunidades microbianas do solo, pelo do uso de agrotóxicos, observado por meio das análises de BMC, RBS e  $qCO_2$  tem seu reflexo explicitado na decomposição da matéria orgânica no período chuvoso subsequente ao

tratamento, nos quais o manejo químico manteve valores abaixo dos outros dois. No tratamento mecânico o impacto às comunidades microbianas do solo foi menor, no período de clima favorável à decomposição da serapilheira os valores aproximaram-se aos do fragmento florestal. Sendo a decomposição da matéria orgânica uma função ecossistêmica fundamental à saúde dos ecossistemas, entendemos que a diminuição da decomposição é processo deletério para a restauração florestal.



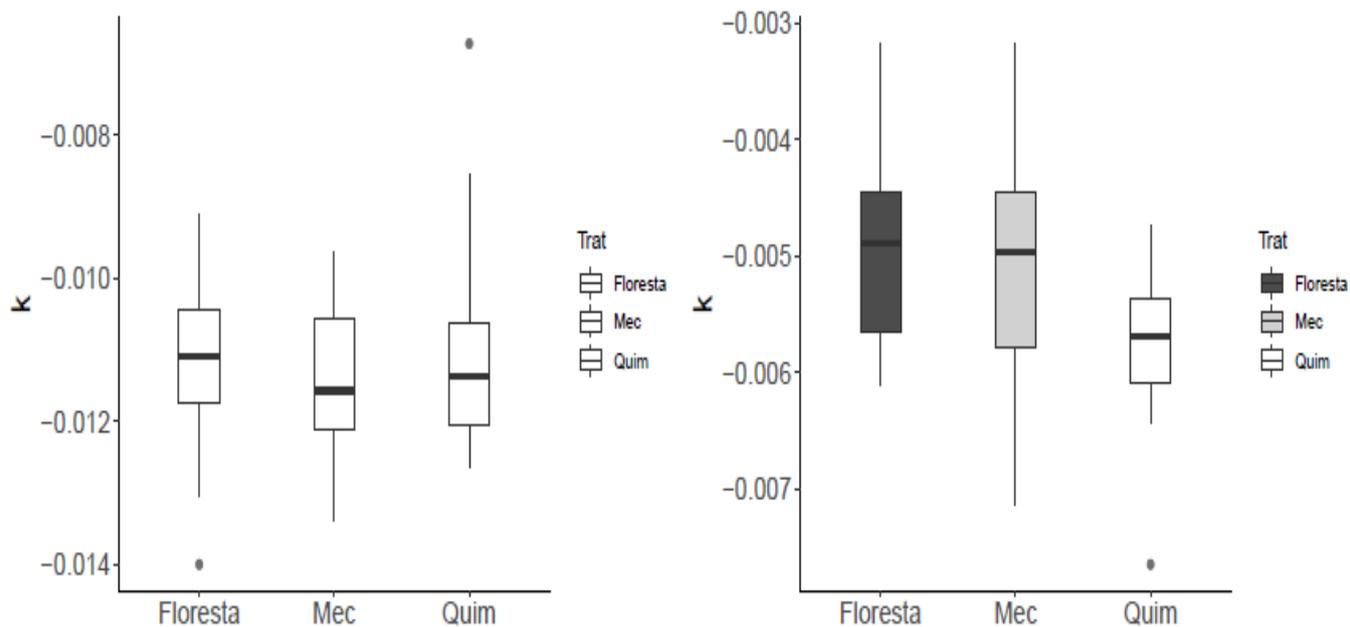


Figura 8: Taxas de decomposição observadas em todas as coletas, em todos os tratamentos. Cada gráfico representa um momento de coleta, sucessivamente de cima para baixo da esquerda para a direita dias 45, 90, 180, 315 após a alocação das bolsas em campo. “k” = taxa de decomposição da serapilheira. Floresta = fragmento florestal, Quim = tratamento químico do plantio, Mec = tratamento mecânico do plantio. Diferentes cores indicam, incluindo o cinza, diferenças significativas seguindo Anova ( $P < 0,05$ ).

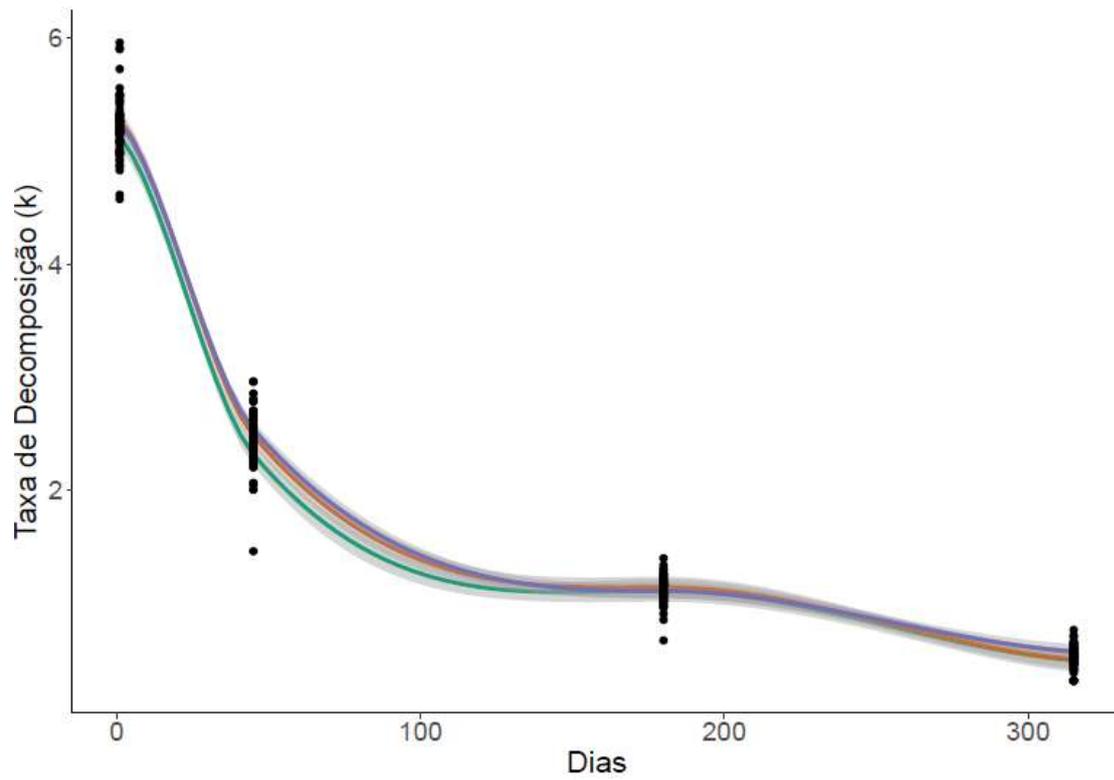


Figura 9: Taxa de decomposição (k) dos dois manejos de restauração florestal e do fragmento. Verde = fragmento florestal, Azul = tratamento químico do plantio, Laranja = tratamento mecânico do plantio

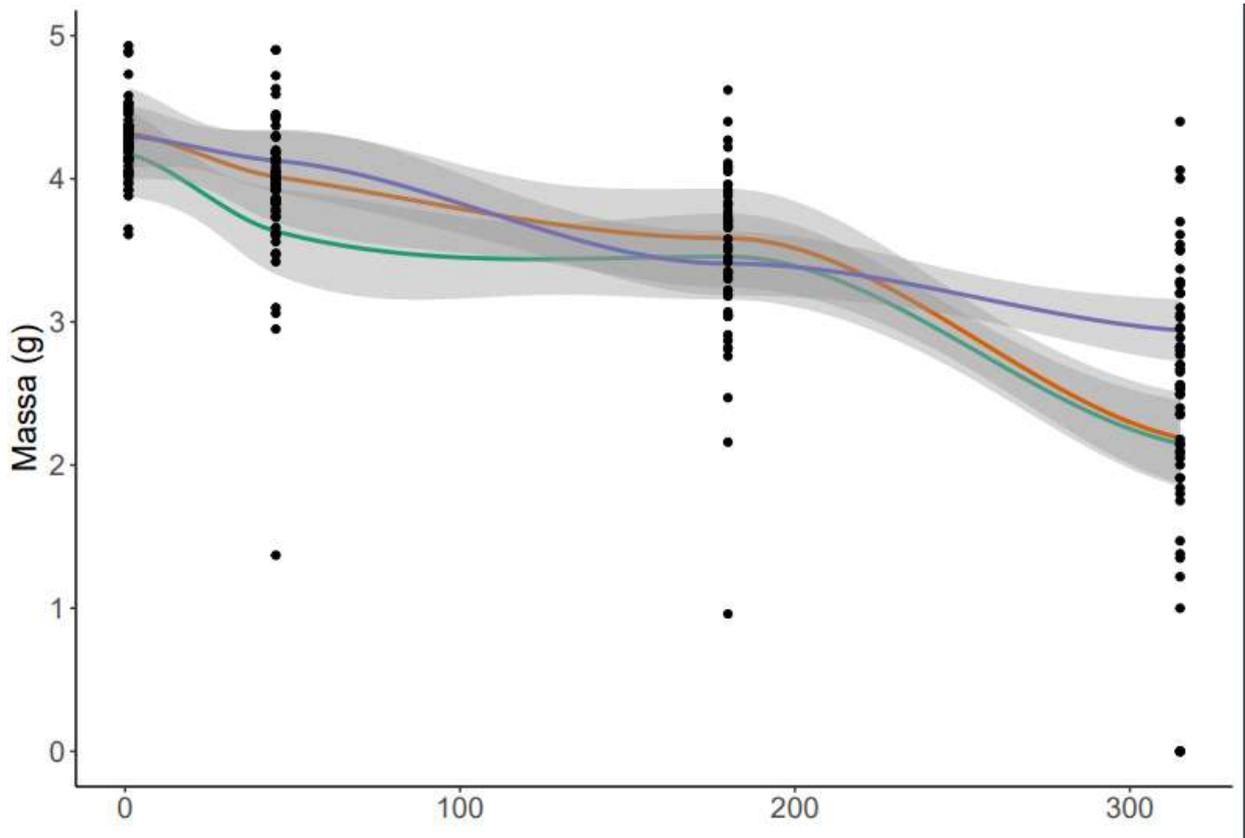


Figura 10: Massas de serapilheira aferidas nas bolsas nas quatro coletas realizadas ao longo do estudo (315 dias). Verde = fragmento florestal, Azul = tratamento químico do plantio, Laranja = tratamento mecânico do plantio

### Considerações finais

Ao longo do estudo, o clima teve influência direta nos resultados, diminuindo a atividade biótica do solo e, conseqüentemente, a taxa de decomposição. Além disso, pudemos observar diferenças devido ao manejo de espécies invasoras. No tratamento químico, a curva de resposta ao manejo foi mais extrema, atingindo valores maiores inicialmente e menores subsequentemente, permanecendo com os valores mais baixos encontrados e as menores taxas de decomposição observadas no estudo. O manejo químico foi, portanto, o mais deletério para os processos de regeneração das funções ecossistêmicas considerando-se o componente microbiano do solo. O manejo mecânico de espécies invasoras foi menos agressivo às comunidades microbianas do solo, sugerindo maior velocidade na regeneração de funções e, portanto, serviços ecossistêmicos, direcionando processo de restauração florestal mais eficientemente para um estágio de regeneração efetiva de serviços ecossistêmicos.

Mesmo com as árvores apresentando maior altura e diâmetro no tratamento

químico, características da estrutura do plantio, as características de funcionamento da decomposição - impactando no fluxo de matéria e nutrientes -apresentaram melhor desempenho no tratamento mecânico. Ou seja, apesar da estrutura vegetal não demonstrar, esperamos que, em longo prazo, o plantio com manejo químico sofra efeitos deletérios, possivelmente impossibilitando ou gastando mais tempo na formação de uma floresta estável e funcional.

Ambos os tratamentos do plantio apresentaram diferença perante o fragmento, esperada pela diferença de idade entre os sistemas. Mesmo assim, o plantio de restauração é tido como projeto concluído perante a legislação florestal, o que levanta questionamentos sobre quais indicadores devem ser utilizados para monitorar e indicar quando uma área já pode ser considerada restaurada.

### **Referências bibliográficas**

ABOIM, M. C. R.; BARBOSA, J. C.; COUTINHO, H. L. C.; ROSADO, A. S. **Avaliação de diversidade microbiana em amostras de solos: técnica do PCR/DGGE** (Protocolo Laboratorial). Rio de Janeiro, Embrapa Solos, 2004. 31 p. - (Embrapa Solos. Documentos, n. 68).

ADAMA. Ficha de informações de segurança de produto químico. Data de elaboração: 26/11/2010. Data de revisão: 26/04/2018. Número de Revisão: 05. Disponível em: <<https://www.adama.com/documents/407112/418500/Poquer%C2%AE+-+FISPQ>>.

Acesso em 29/07/2020.

ALEF, K. Soil Respiration. In: ALEF, K.; NANNIPIERI, P. (Ed.). **Methods in Soil Microbiology and Biochemistry**. Academic Press Inc., San Diego, p. 214-215, 1995.

AMADOR, D. B. Restauração de Ecossistemas com Sistemas Agroflorestais. In: SEMINÁRIO SISTEMAS AGROFLORESTAIS E DESENVOLVIMENTO SUSTENTÁVEL, Si1. 2003, Campo Grande. Palestra. Disponível em: <<http://saf.cnpg.embrapa.br/publicações/14.pdf>> . Acesso em: 29 jan. 2016.

AMARAL, W. A. N.; WEY, M. C.; MANFIO, G. P. Políticas públicas em biodiversidade: conservação e uso sustentado no país da megadiversidade. **International Studies on Law and Education**, v.1. 1999.

ANDRADE D. C.; ROMEIRO, A. R. Serviços ecossistêmicos e sua importância para o sistema econômico e o bem-estar humano. **IE/UNICAMP**. Campinas, n. 155, fev. 2009.

ANDRADE, A. G.; TAVARES, S. R. L.; COUTINHO, H. L. C. Contribuição da serrapilheira para recuperação de áreas degradadas e para manutenção da sustentabilidade de sistemas agroecológicos. Belo Horizonte. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 24, n° 220, p. 55-63, 2003.

ANDRADES, T. O.; GANIMI, R.N. **Revolução Verde e apropriação capitalista**. Juiz de Fora, CES Revista v. 21, 2007, p. 43-56.

ANDRIGHETTI M. S.; NACHTIGALL, G. R.; QUEIROZ, S. C. N.; FERRACINI, V. L.; AYUB, M. A. Z. Biodegradação de glifosato pela microbiota de solos cultivados com macieira. **Rev. Bras. Ciênc. Solo**, v.38, n.5. Viçosa, 2014

ALVES, T.S., CAMPOS, L. L., NETO, N. E., MATSUOKA, M, LOUREIRO, M. F. Biomassa e atividade microbiana de solo sob vegetação nativa e diferentes sistemas de manejos. **Acta Scientiarum. Agronomy**. Maringá, v. 33, n. 2, p. 341-347, 2011

AQUINO, A. M. Fauna do solo e sua inserção na regulação funcional do agroecossistema. In: AQUINO, A. M.; ASSIS, R. L. (Ed.). **Processos biológicos no sistema solo-planta: ferramentas para uma agricultura sustentável**. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica; Seropédica: Embrapa Agrobiologia, 2006. p. 47-75

ARRAES, R. A.; MARIANO, F. Z.; SIMONASSI, A. G. Causas do desmatamento no Brasil e seu ordenamento no contexto mundial. **Revista de Economia e Sociologia Rural**, Brasília, v. 50, n.1, p. 119-140, jan-mar 2012.

ARAÚJO, A. S. F. E; MONTEIRO, R. T. R. Indicadores biológicos de qualidade do solo. **Bioscience Journal**, v. 23, n. 3, 2007. p. 66-75.

BALSAN, Rosane. Impactos decorrentes da modernização da agricultura brasileira. **Campo-Território: Revista de Geografia Agrária**, v. 1, n. 2, p. 123-151, ago. 2006

BATISTA, S. B. **Diversidade e atividades microbianas do solo da Floresta Amazônica-Brasil, submetida a estresse hídrico utilizando técnicas de biologia molecular**. 2006. 114 f. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas - Microbiologia) – Universidade Federal do Rio de Janeiro: UFRJ/IMPPG.

BARKER, T.; MORTIMER, M.; PERRINGS, C. **Biodiversity, ecosystems and ecosystem services**. In: The Economics of Ecosystems and Biodiversity: The Ecological and Economic Foundations. Earthscan, London and Washington, 2010.

BIGATON, A. D. **Diversidade de bactérias e arqueias em solos cultivados com cana-de-açúcar**: um enfoque biogeográfico. Tese (Doutorado). Piracicaba, Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, 2014.

BOMBARDI, L. M. **Geografia do Uso de Agrotóxicos no Brasil e Conexões com a União Europeia**. São Paulo: FFLCH - USP, 2017. 296 p.

BRASIL. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Serviços ambientais, perguntas e respostas**. Disponível em <<https://www.embrapa.br/tema-servicos-ambientais/perguntas-e-respostas>>. Acesso em 25 out. 2018.

BRASIL. Instituto Nacional de Pesquisa Espacial. PRODES - **Taxas anuais de desmatamento na Amazônia Legal Brasileira**. 2018. Disponível em <<http://www.obt.inpe.br/prodes/dashboard/prodes-rates.html>>. Acesso em 22 nov. 2018.

BRASIL. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Mudanças na cobertura e uso da terra: 2000 – 2010 – 2012. 2015**. Disponível em <[biblioteca.ibge.gov.br/index.php/biblioteca-catalogo?view=detalhes&id=294724](http://biblioteca.ibge.gov.br/index.php/biblioteca-catalogo?view=detalhes&id=294724)>. Acesso em 20 out. 2018.

BRASIL. **Lei de proteção da vegetação nativa – LPVN**. Lei n. 12.651, de 25 de maio de 2012.

BERUDEL, M. C.; GALOTE, J. K. B.; PINTO, P. H.; AMARAL, A.A. A mesofauna do solo e sua importância como bioindicadora. **Enciclopédia Biosfera, Centro Científico Conhecer**. Goiânia, v. 11, n. 22, p. 14-28, 2015.

BUSSE, M.D.; RATCLIFF, A.W.; SCHESTAK, C.J.; POWERS, R.F. 2001. Glyphosate toxicity and effect on long-term vegetation control on soil microbial communities. **Soil Biology and Biochemistry**, 33(12/1):1777-1789.

CARDINALE, B. J.; SRIVASTAVA, D. S.; DUFFY, J. E.; WRIGHT, J. P.; DOWNING, A. L.; SANKARAN, M.; JOUSEAU, C. Effects of biodiversity on the functioning of trophic groups and ecosystems. **Revista Nature**, v. 443, p. 989-992, out. 2006.

Climatempo. **Climatologia Araras – SP**. Disponível em <https://www.climatempo.com.br/climatologia/795/araras-sp>. Acesso em 29/09/2019

CORREIA, M. E. F.; OLIVEIRA, L. C. M. **Importância da Fauna de Solo para a Ciclagem de Nutrientes**. Miolo Biota, Cap. 4. 2006.

- DEFRIES, R. S.; RUDEL, T.; URIARTE, M.; HANSEN, M. Deforestation driven by urban population growth and agricultural trade in the twenty-first century. **Nature Geoscience**, v. 3, p. 178–181, 2010.
- DE-POLLI, H.; GUERRA, J. G. M. **Determinação do carbono da biomassa microbiana do solo: Método da fumigação-extração**. Seropédica: Embrapa-CNPAB, 10 p. (Embrapa-CNPAB. Documentos, 37), 1997.
- DIONÍSIO, J. A.; PIMENTEL, I. C.; SIGNOR, D.; PAULA, A. M.; MACEDA, A.; MATTANA, A. L. **Guia Prático de Biologia do Solo**. Curitiba, SBCS/NEPAR, 152 p. 2016.
- FAO. **El Estado de los bosques del mundo**. Los bosques y la agricultura: desafíos y oportunidades en relación con el uso de la tierra. Roma, p.119, 2016.
- FARLEY, J. J. Ecosystem services: The economics debate. **Ecosystem Services**, v. 1, n. 1, p. 40-49, 2012.
- FERNANDES, R. D. M.; COSTA, S. O.; LIMA, L. R.; PENHA, A. S. Espécies arbóreas e arbustivas de uma floresta estacional semidecídua, Araras, São Paulo. 2017, não publicado.
- FERREIRA, A. P.; CUNHA, C. L. N.; WERMELINGER, E. D.; SOUZA, M. B.; LENZI, M. F.; MESQUITA, C. M.; JORGE, L. C. Impactos de pesticidas na atividade microbiana do solo e sobre a saúde dos agricultores. **Revista Baiana de Saúde Pública**, v.30, n.2, p. 309-321, jul/dez. 2006.
- LINDSTROM, M.J.; BATES, D.M. Nonlinear Mixed Effects Models for Repeated Measures Data". *Biometrics*, v. 46, p. 673-687, 1990.
- GRISI, B. M. Biomassa e atividade de microrganismos do solo: revisão metodológica. **Revista Nordestina de Biologia**, João Pessoa, v. 10, n. 1, p. 1-22, 1995.
- GUIMERE, T. **Spatial and temporal dynamics of the microbial communities in soil cultivated with sugarcane**. Tese (Doutorado). ). Piracicaba, Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, 2017.
- HANEY, R.L.; SENSEMAN, S.A.; HONS, E.M.; ZUBERBER, D.A. Effect of glyphosate on soil microbial activity and biomass. **Weed Science**, 2000. 48(1):89–93
- HENKEL, K.; AMARAL, I. G. **Análise agrossocial da percepção de agricultores familiares sobre sistemas agroflorestais no nordeste do estado do Pará, Brasil**. Bol. Mus. Para. Emílio Goeldi. Ciênc. hum. [online]. v.3, n.3, p. 311-32, 2008.

- HUETING, R.; REIJNDERS, L.; BOER B.; LAMBOOY, J., HUIB, J. The concept of environmental function and its valuation Published in **Ecological Economics** v.25, n.1, p. 31-5, 1998.
- ISLAM, K. R.; WEIL, R. R. Land use effects on soil quality in a tropical forest ecosystem of Bangladesh.
- KÖPPEN, W. **Climatologia**: con un estudio de los climas de la tierra. México: Fondo de Cultura Economica, 478 P., 1948.
- LEITE, L. F. C.; ARAÚJO. A. S. **Ecologia microbiana do solo**. Embrapa Meio-Norte, Tersina, 2007. 24 p.
- LUCHINI, L. C.; ANDREA, M. M. **Dinâmica de agrotóxicos no ambiente**. In: Ministério do Meio Ambiente; Fórum Nacional de Secretários de Agricultura (Org.). Programa de Defesa Ambiental Rural. Textos Orientadores. Brasília: Ministério do Meio Ambiente, v.1, p.27- 44, 2002.
- TONI, L. R. M.; SANTANA H.; ZAIA, D. A. M. Adsorção de glifosato sobre solos e minerais. **Quím. Nova**, v.29, n.4. São Paulo, 2006.
- MACHADO, L. C. P.; MACHADO FILHO, L. C. P. **Dialética da agroecologia**. Expressão Popular, São Paulo, p. 360, 2014.
- MAPBIOMAS. [OpenStreetMap](https://plataforma.mapbiomas.org/map#coverage). MapBiomas Workspace. Disponível em <https://plataforma.mapbiomas.org/map#coverage>. Acesso em 20/02/2020.
- MARQUES, L. C. **Capitalismo e colapso ambiental**. Editora Unicamp, Campinas, 2016.
- MARTINE, G. Fases e Faces da Modernização Agrícola. **Revista de Planejamento e Políticas Públicas**, nº 3, IPEA, Brasília, ago. 1990.
- MONQUERO, P. A.; ORZARI, I.; SILVA, P. V.; PENHA, A. S. Interference of weeds on seedlings of four neotropical tree species. **Acta Sci., Agron.** [online]. 2015, vol.37, n.2, pp. 219-232
- MORAES, P.V.D.; ROSSI, P. Comportamento ambiental do glifosato. **Scientia Agraria Paranaensis**. V. 9, n. 3, p 22-35. 2010.
- NICODEMO, M. L. F. **Uso de biomassa microbiana para avaliação de qualidade do solo em sistemas silvipastoris**. Embrapa Pecuária Sudeste, São Carlos, SP, 2009.
- NIELSEN , M. N.; WINDING, A. **Microorganisms as Indicators of Soil Health**. National Environmental Research Institute, Denmark, Technical Report No. 388, 2002.

NORTOX. Cletodim - Bula. Disponível em <https://www.nortox.com.br/wp-content/uploads/2017/06/Bula-Cletodim-Nortox-VER-00-10.05.2017.pdf>. Acesso em 17 de julho de 2020.

OLIVEIRA, R. E.; ENGEL, V. L. A restauração ecológica em destaque: um retrato dos últimos vinte e oito anos de publicações na área. **Oecologia Australis**, 2011

PÉREZ-HAGRUINDEGUY, N.; DÍAZ, S.; GARNIER, E.; LAVOREL, S.; POORTER, H.; JAURENGUIBERRY, P. et al.. New handbook for standardised measurement of plant functional traits worldwide. **Australian Journal of Botany**. 2013, vol. 61, n.3, pp. 167–234.

PRIMAVESI, A. M. **Cartilha O solo tropical** - Casos - Perguntando sobre solo. Fundação Mokiti Okada, 2003.

PRIMAVESI, A. M. **Manejo Ecológico do Solo**: Agricultura em regiões Tropicais. 9ªed., Nobel, São Paulo, 1990.

REIS (a), M.R.; SILVA, A.A.; GUIMARÃES, A.A.; COSTA, M.D.; MASSENSINI, A.M.; FERREIRA, E.A. Ação de herbicidas sobre microrganismos solubilizadores de fosfato inorgânico em solo rizosférico de cana-de-açúcar. **Planta daninha**, v. 26, n. 2. Viçosa, 2008.

REIS (b), M.R.; SILVA, A.A.; COSTA, M.D.; GUIMARÃES, A.A.; FERREIRA, E.A.; SANTOS, J.B.; CECON, P.R. Atividade microbiana em solo cultivado com cana-de-açúcar após aplicação de herbicidas. **Planta daninha**, v.26, n.2. Viçosa, 2008.

RESENDE, A. S.; LELES, P. S. S. **Controle de Plantas daninhas em restauração florestal**. Embrapa, Brasília, 2017.

REZENDE, A.; LOIOLA, P. P.; PENHA, A. S.; OLIVEIRA, M. M. A.; MONQUERO, P. A. (no prelo). Agroforestry systems as an alternative for ecological restoration associated with different invasive species methods of control. **Forest Ecology and Management**, 2020.

RIBAS, P. P.; MATSUMURA, A. T. S. A química dos agrotóxicos: impacto sobre a saúde e meio ambiente. **Revista Liberato**, v. 10, n. 14, 2009.

ROCHA, E. X. da. Composição de espécies de lianas e sua resposta ao corte em um fragmento de floresta estacional semidecidual, Araras, SP. São Carlos, UFSCar, 2015.

ROMAN, L. V.; VARGAS, L.; RIZZARDI, M. A.; HALL, L.; BEACKIE, H.; WOLF, T. M. **Como funcionam os herbicidas : da biologia à aplicação**. Gráfica Editora Berthier. Passo Fundo, 2005

- SANTOS, V. M.; MAIA, L. C. **Bioindicadores de qualidade do solo**. Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agrônômica, Recife, vol. 10, p.195-223, 2013.
- SOS MATA ATLÂNTICA; INSTITUTO NACIONAL DE PESQUISAS ESPACIAIS. **Atlas dos remanescentes florestais da Mata Atlântica - período 2016-2017**. SOS Mata Atlântica e Instituto de Pesquisas Espaciais, 63 p., 2018.
- TIRONI, S.P.; BELO, A.F.; FIALHO, C.M.T.; GALON, L.; FERREIRA, E.A.; SILVA, A.A.; COSTA, M.D.; BARBOSA, M.H.P. Efeito de herbicidas na atividade microbiana do solo. **Planta daninha**, v.27. Viçosa, 2009.
- TÔSTO, S. G.; PEREIRA, L. C.; MANGABEIRA, J. A. C. **Serviços ecossistêmicos e Serviços ambientais: Conceitos e importância!** EcoDebate, 13 nov. de 2012. Acesso em 01/11/2018
- SILVA, E. E.; AZEVEDO, P. H. S.; DE-POLLI, H. Determinação da respiração basal (RBS) e quociente metabólico do solo ( $qCO_2$ ). Comunicado Técnico n°99. EMBRAPA. Seropédica, Agosto de 2007.
- SILVA, E. E.; AZEVEDO, P. H. S.; DE-POLLI, H. Determinação do Carbono da Biomassa Microbiana do Solo (BMC-C). Comunicado Técnico n°98. EMBRAPA. Seropédica, Agosto de 2007.
- SRIVASTAVA, D. S.; VELLEND, M. Biodiversity-Ecosystem Function Research: Is It Relevant to Conservation?. **Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.** v. 36, p.267-94, 2005.
- TILMAN, D.; WEDIN, J. K.; DAVID, P. R.; RITCHIE, M. SIEMANN, E.. The Influence of Functional Diversity and Composition on Ecosystem Processes. **Revista Science**, Vol. 277, p. 1300-1302, ago. de 1997.
- TORRES, B. A.; MENEGHIN, S. P.; RIBEIRO, N. M.; SANTOS, P. H. V.; SCHEDENFFELDT, B. F.; MONQUERO, P. A. Saflufenacil and indaziflam herbicide effects on agricultural crops and microorganisms. **African Journal of Agricultural Research**. Vol. 13 n.16, p. 872-885, 19 apr, 2018.
- UFSCAR CCA – Universidade Federal de São Carlos, Centro de Ciências Agrárias. **O centro**. Araras, 2018. Disponível em: <<https://www.cca.ufscar.br/pt-br/o-centro>>. Acesso em 20 nov. 2018.
- VALLADARES, G. S.; AVANCINI, C. S. A.; TÔSTO, S. G. **Uso e Cobertura das terras do Município de Araras**. EMBRAPA, Circular Técnica On- line n°14. Campinas, 2008.
- VALARINI, P. J.; NARDO, E. A. B. GOMES, M. A. F.; FERREIRA, C. J. A.; CASTRO, V. L. S. S. **Dinâmica e Efeitos de Agrotóxicos no Meio Ambiente**. In:

Doenças de fruteiras tropicais de interesse agroindustrial. Freire, Francisco da Chagas Oliveira; Cardoso, José Emilson; Viana, Francisco Marto Pinto (Orgs). Embrapa Informação Tecnológica, Brasília; Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza. p. 625-687, 2003.

VIANA, V. M.; PINHEIRO, L.A.F.V. **Conservação da biodiversidade em fragmentos florestais**. Série Técnica IPEF, v.12, n.32, p. 25-42, 1998.

WIEDER, R.K.; LANG, G.E. **A critique of the analytical methods used examining decomposition data obtained from litter bags**. Ecology, v.63, 1982. p.1636-1642.

ZILLI, J. É.; RUMJANEK, N. G.; XAVIER, G. R.; COUTINHO, H. L. C.; NEVES, M. C. P. **Diversidade microbiana como indicador de qualidade do solo**. Cadernos de Ciência & Tecnologia, Brasília, v. 20, n. 3, p. 391-411, set./dez. 2003.

ZILLI, J. E. , SMIDERLE, O. J., NEVES, M. C. P., RUMJANEK, N. G. População microbiana em solo cultivado com soja e tratado com diferentes herbicidas em área de cerrado no estado de Roraima. **Acta Amazonica**, VOL. 37(2) 2007: 201 – 212.

**Agriculture Ecosystems and Environment**, v. 79, n. 1, p. 9-16, 2000.