

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS *CAMPUS* SOROCABA

Departamento de Ciências Ambientais (DCA)

**IMPACTO DA MUDANÇA DO USO DA TERRA E ADUBAÇÃO NITROGENADA
NO BALANÇO DE METANO**

Aluno: Biólogo Helio Danilo Quevedo

Mestrado em Planejamento e Uso de Recursos Renováveis

Orientadora: Dra. Janaina Braga do Carmo

Co-orientador: Dr. Leonardo Machado Pitombo

Sorocaba, Março de 2018

HELIO DANILO QUEVEDO

**IMPACTO DA MUDANÇA DO USO DA TERRA E ADUBAÇÃO
NITROGENADA NO BALANÇO DE METANO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Planejamento e Uso de Recursos Renováveis da Universidade Federal de São Carlos, como requisito para obtenção do título de Mestre em Planejamento e Uso de Recursos Renováveis.

Orientador: Prof. Dr^a Janaina Braga do Carmo

Co-Orientador: Dr Leonardo M. Pitombo

Sorocaba 2018

Danilo Quevedo , Helio

Impacto da Mudança do Uso da Terra e Adubação Nitrogenada no
Balanço de Metano / Helio Danilo Quevedo . -- 2018.
66 f. : 30 cm.

Dissertação (mestrado)-Universidade Federal de São Carlos, campus
Sorocaba, Sorocaba

Orientador: Janaina Braga do Carmo

Banca examinadora: Acacio Aparecido Navarrete, Alexandre Marco da
Silva

Bibliografia

1. Ecologia de Ecossistemas. 2. Metano. 3. Mudança do Uso da Terra. 1.
Orientador. II. Universidade Federal de São Carlos. III. Título.

Ficha catalográfica elaborada pelo Programa de Geração Automática da Secretaria Geral de Informática (SIn).

DADOS FORNECIDOS PELO(A) AUTOR(A)

Bibliotecário(a) Responsável: Maria Aparecida de Lourdes Mariano – CRB/8 6979

HELIO DANILO QUEVEDO

**IMPACTO DA MUDANÇA DO USO DA TERRA E
ADUBAÇÃO NITROGENADA NO BALANÇO DE METANO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação para obtenção do título de
mestre em Planejamento e Uso de Recursos Renováveis.
Universidade Federal de São Carlos.
Sorocaba, 08 de março de 2018.

Orientadora:

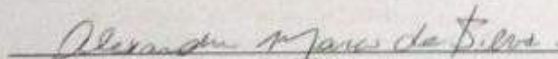


Profa. Dra. Janaina Braga do Carmo
Universidade Federal de São Carlos – UFSCar *Campus* Sorocaba

Examinadores:



Dr. Acácio Aparecido Navarrete
Universidade Federal de São Carlos – UFSCar *Campus* Sorocaba



Dr. Alexandre Marco da Silva
UNESP Sorocaba

DEDICATÓRIA

A Todos que veem, na construção do conhecimento, o aprendizado e celebram as pequenas conquistas da vida.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de São Carlos, por meio do programa de Pós-Graduação em Planejamento e Uso de Recursos Renováveis, pela oferta do curso e pela preocupação com a formação dos alunos;

À Profa. Dr^a. Janaina Braga do Carmo, pela orientação, apoio e confiança no desenvolvimento desse trabalho;

Ao Dr. Leonardo Machado Pitombo, pela co-orientação, pela paciência, por compartilhar suas epifanias e percepções intuitivas;

À equipe Bioclima, em particular ao Dr. Acácio Aparecido Navarrete, Dr. Ricardo Hideo Taniwaki e Dr^a Carolina Braga Brandani por serem sempre solícitos. E aos serviços prestados pela Isadora Leme.

Aos colegas de laboratório, pela colaboração sempre que necessária, em especial a Juliana Cristina Ramos, Camila Bolfarini Bento, Caroline Sayuri Nishisaka e Marília de Souza Bento por estarem sempre à disposição para ajudar, ouvir e apoiar sobre qualquer assunto que diz respeito à trabalho ou amizade.

Aos colaboradores Dr^a Iêda de Carvalho Mendes, Lucas Rolim, Dr^a Carolina Malala, Dr^a Diana Signor, Dr Cimélio Bayer, Dr Julio César Rodrigues Martins, Dr Cleuton Pereira, Dra Cristina Felseburgh, Dr^a Cláudia Texeira e ao agricultor Alan Silva Mantovani, minha gratidão pelo apoio para o desenvolvimento deste trabalho.

A Secretaria do Meio Ambiente (SMA), ao Parque Estadual da Serra do Mar (Núcleo Santa Virgínia) e a Comissão Técnico-Científica (COTEC) pela autorização (nº 278/2017 D20/2017 PH) para coleta de solo, muito obrigado.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Ensino Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de estudo;

Aos meus pais pelo incentivo, compreensão e fé.

"... Pois isto me faz muito mais forte
Me faz trabalhar mais arduamente
Me faz muito mais sábio
Então, Obrigado por fazer de mim um lutador!
Me fez aprender mais rápido
Fez minha pele mais espessa
Me faz muito mais esperto
Então, Obrigado por fazer de mim um lutador! ..."
(Scott Storch)

Resumo

QUEVEDO, Hélio Danilo. Impacto da Mudança do Uso da Terra e Adubação Nitrogenada no Balanço de Metano. 2018. 66 f. Dissertação (Mestrado em Planejamento e Uso de Recursos Renováveis) – Centro de Ciências e Tecnologias para Sustentabilidade, Universidade Federal de São Carlos, Sorocaba, 2018.

Os ecossistemas naturais exercem funções importantes para manutenção do equilíbrio ambiental. Essas funções, são definidas como serviços ecossistêmicos. Dentre esses serviços está o serviço de regulação climática, que abrange a ciclagem de nutrientes e gases do efeito estufa. O CH₄, segundo gás maior causador do aquecimento global, é oxidado biologicamente nos ecossistemas por microrganismos bastante especializados, sendo os solos bem drenados o maior sumidouro do gás oxidado por esta via. Devido a razões evolutivas, os microrganismos que ocupam o nicho de oxidação de amônio também tem a habilidade de oxidar CH₄, e vice e versa. No entanto, há apenas benefícios energéticos e assimilação de C quando cada grupo exerce sua função específica. Existe uma ligação entre perda de biodiversidade e perda de consumo de CH₄. No entanto, nossa hipótese é que a adubação nitrogenada resulta na inibição da capacidade do solo na oxidação do CH₄. Para testar essa hipótese, são objetivos deste trabalho: comparar a capacidade de diferentes solos (pares nativos e cultivados) no consumo de CH₄; Avaliar o efeito da fertilização nitrogenada na capacidade do solo no consumo de CH₄; e identificar os parâmetros edáficos relacionados em relação à capacidade deles de consumir CH₄ após receberem N. Microcosmos foram estabelecidos com solos dos biomas Pampas, Cerrado, Caatinga e Mata Atlântica. Os resultados mostraram que solos com vegetação nativa não perdem a capacidade de consumir CH₄ com adição de N-(NH₄)₂SO₄, os solos com vegetação nativa podem consumir até 27,22 µg.kg. solo⁻¹.dia⁻¹, enquanto todos os solos com história de uso não consumiram o gás, independentemente do bioma de que eles vieram. Concluimos que a interrupção do consumo de CH₄ está relacionado com a mudança do uso da terra e não, exclusivamente, com o uso de fertilizante nitrogenado.

Abstract

QUEVEDO, Hélio Danilo. Impact of Land Use Change and Nitrogen Fertilizer on Methane Balance. 2018. 66 f. Dissertation (MSc in Planning and Use of Renewable Resources) - Science and Technology Center for Sustainability, Federal University of São Carlos, Sorocaba, 2018.

Pristine ecosystems exert important functions to provide the environmental equilibrium. These functions are defined as ecosystems services. Such services include the climatic regulation, which covers nutrient and greenhouse gases cycling. The CH₄, second most relevant gas to the global warming, is biologically oxidized by very specialized microorganisms. Well-drained soils are the main sink of the CH₄ biologically oxidized. Due to evolutionary reasons, the microorganisms that occupy the niche of ammonium oxidation are also able to oxidize CH₄, and vice and versa. However, there is only energetic benefit and C assimilation when each group exerts their specific function. There is a link between biodiversity loss and loss of CH₄ consumption. Thus, our hypothesis is that N fertilization results in inhibition of the soil capacity in oxidizing CH₄. To test this hypothesis, the aims of this research are: compare the capacity of different soils (pristine and cultivated pairs) in consuming CH₄; assess the effect of nitrogen fertilization in the capacity of the soil in consuming CH₄; and identify the edaphic parameters related with the resistance of soils regarding their ability to consume CH₄ after they receive N. Microcosms were set with soils of the Pampas, Cerrado, Caatinga and Atlantic Forest. The results indicate that soils with native vegetation don't lose the ability to consume CH₄ after addition of N- (NH₄)₂SO₄. Soils with native vegetation can consume up to 27.22 µg.kg. soil⁻¹.day⁻¹, while all soils with use history didn't consume the gas, regardless the biome they come from. We conclude that the interruption of CH₄ sink is related to the change in land use and not exclusively to the use of nitrogen fertilizer.

Sumário

1. Introdução	1
2. Revisão da Literatura	3
2.1 Gases do efeito estufa e Potencial de Aquecimento Global	3
2.2 Fontes e Sumidouros de Metano	3
2.3 Oxidação do Metano pela Comunidade Microbiana do Solo	4
2.3.1 Nicho ecológico.....	4
2.3.2 Metabolismo Metanotrófico	6
2.3.3 Fatores que controlam o consumo de CH ₄	8
3. Objetivos	10
4. Material e Métodos	11
4.1 Delineamento experimental e áreas de coleta	11
4.1.1 Mata Atlântica	11
4.1.2 Ecótono, transição Cerrado Mata Atlântica	14
4.1.3 Cerrado	18
4.1.4 Pampas	20
4.1.5 Caatinga	22
4.2 Caracterização do solo	25
4.2.1 Coleta	25
4.2.2 Caracterização do solo, Aparelhagem e Procedimento de Preparo.....	25
4.3.3 Análise de pH em CaCl ₂	26
4.3.4 Umidade residual.....	26
4.3.5 Densidade aparente, capacidade de campo e espaço dos poros preenchidos por água	27
4.3.6 Porosidade Total e Poros preenchidos por água.....	28
4.3.7 Densidade de partículas.....	29
4.3.8 Análise granulométrica	30
4.3.9 Análises de macro e micronutrientes	31
4.3.10 Preparo dos Microcosmo.....	32
4.4 Análise estatística	35
5. Resultados	36
5.1 Consumo de CH₄	36
5.2 Efeito do Sulfato de Amônio no consumo de CH₄	38
5.3 Parâmetros relacionados ao consumo de CH₄	41

<i>5.4 Efeito da mudança do uso da terra sobre o consumo de CH₄</i>	43
6. Discussão	47
<i>6.1 Fatores que interferiram no consumo de CH₄</i>	47
<i>6.2 Limitantes para o consumo de CH₄</i>	47
7. Conclusão	51
8. Referências	52
Apêndice	60

Lista de Figuras

Figura 1 – Representação dos quatro subgrupos de microrganismos metanotróficos, sendo dois subgrupos conhecidos como MOB (<i>methane oxidizing bacteria</i>), que são metanotróficos exclusivos, e dois subgrupos conhecidos como AOB (<i>ammonia oxidizing bactéria</i>) cujo as comunidades são capazes de assimilar CH ₄ e NH ₄ ⁺ . Esquema Adaptado: HOLMES <i>et al.</i> 1999.....	5
Figura 2 - Área amostral de Mata Atlântica, Estado de São Paulo (Ponto Verde: área nativa em 23°19'22.0"S; 45°05'43.6" W - Ponto Vermelho: área cultivada em -23°34'53.4"; -47°31'35.0"). Município de São Luiz do Paraitinga.....	12
Figura 3 – Área amostral de Mata Atlântica. Fotos registradas no município de São Luiz do Paraitinga – SP. a) -área de Floresta nativa ; b) área com histórico de adubação (plantação de milho).....	12
Figura 4 – Área amostral de Mata Atlântica, localizada no município de Aiuruoca, MG. Localização: 22°1'5"S44°39'24"W, área nativa localizada a 1 km ao norte do ponto demarcado.....	13
Figura 5 – Área amostral de Mata Atlântica, localizada no município de Aiuruoca, MG. Visão panorâmica da área coletada.....	13
Figura 6 – Área de transição entre os Biomas Mata Atlântica e Cerrado, localizada no município de Araras, no Estado de São Paulo (Ponto Verde: área nativa em 22°2'59,7'S; 47°30'13,0'W - Ponto Vermelho: área cultivada em 22°2'59,5'S, 47°30'11,9'W) em uso agrícola e nativa onde foi coletada amostra de solo classificado como latossolo.....	14
Figura 7 – Mata Atlântica, registro no município de Araras-SP, plantio de cana-de-áçucar.....	15
Figura 8 – Mata Atlântica, registro no município de Araras-SP, mancha de paisagem Mata Atlântica fragmentada de Cerrado.....	15
Figura 9 – Área de transição entre os Biomas Mata Atlântica e Cerrado, no Estado de São Paulo (Ponto Verde: área nativa em 23° 34'35.76" S 47° 30'58.95" W - Ponto Vermelho: área cultivada) em uso agrícola e nativa onde foi coletada amostra de solo classificado como latossolo.....	16
Figura 10 –Mata Atlântica, registro no município de Sorocaba-SP, plantio de	

laranja pera-rio.....	17
Figura 11 –Mata Atlântica, registro no município de Sorocaba-SP, Área Nativa.....	17
Figura 12 – Área de Cerrado no planalto paulista (22° 17' 18.65''S; 47° 54' 3.41''W) onde coletou-se solo. O solo apresenta textura arenosa. Em verde, área com vegetação nativa. Áreas com curva de nível são cultivadas com cana-de-açúcar e está marcada com ponto vermelho. a) área natural ao fundo, floresta primária; b) área agrícola cultivada.....	18
Figura 13 – a) área nativa (Itirapina-SP); b) plantio de cana-de-açúcar.....	18
Figura 14 – Área de Cerrado no planalto central (Ponto Verde: Área nativa em 15°36'45.0"S 47°44'22.3"W- Ponto Vermelho: Área cultivada em 15°36'37.4"S 47°44'32.2"W) em uso agrícola e nativa onde foi coletada amostra de solo classificado como latossolo. Solo enviado por colaboradores da EMBRAPA Cerrados.....	19
Figura 15 – Área de Pampas (Ponto Verde: Área nativa em -30.09957, -51681657; Ponto Vermelho: Área cultivada em -30.109881, -51.676991). Solo enviado por colaboradores da UFRGS.....	20
Figura 16 – a) área de plantio; b) área nativa com vegetação típica de pampa.....	20
Figura 17: Área de Pampas em Pelotas – RS (Ponto Verde: área nativa está localizada em 31°51'05.7"S 52°16'38.3"W - Ponto Vermelho: área cultivada com plantio de melância está localizada a 31°50'56.5"S 52°16'35.5"W). Solo enviado por colaboradores da EMBRAPA milho e surgo.....	21
Figura 18 – a) campo nativo com floresta primária; b) área agrícola cultivada com melancias.....	21
Figura 19 – Área de Caatinga em São João – PE (Ponto Verde: área nativa em 08 48'41,01078" 36. 24'19,93683"; Ponto Vermelho: área cultivada: 08 48' 40,28236" 36.24' 27,65224").....	22
Figura 20 – Pastagem da região de São João – PE.....	23
Figura 21: Área de Caatinga em Mossoró – RN (5° 07' 46,3"S 37° 29' 40,7"W de Greenwich). Ponto Vermelho: Plantação de milho; Ponto Verde: Área Nativa. Solo enviado por colaboradores da UFERSA.....	23
Figura 22 : a) área cultivada com milho, uso de fertilizante inorgânico; b) área nativa, Mossoró - RN.....	24

Figura 23 – Área de Caatinga em Petrolina – PE (-9.326184, -40.508542). Ponto Vermelho: Plantação de uva; Ponto Verde: Área Nativa. Solo enviado por colaboradores da EMBRAPA Semi-Árido.....	24
Figura 24– Frasco contendo uma válvula de torneira de 4 vias com 2 fechaduras fêmea e macho do tipo luer com bloqueio de rotação (QOSINA, NY, EUA) acoplada à um tubo Bev-A-Line® (LI-COR Biosciences, NE, EUA; P / N 8150-250) inserido na tampa do frasco.....	33
Figura 25 – Consumo médio de CH ₄ por bioma nos amostrais de solo Natural e Agrícola com e sem adição de N-(NH ₄) ₂ SO ₄	37
Figura 26 – Relação do consumo de CH ₄ em solos naturais com e sem adição de N- (NH ₄) ₂ SO ₄ . A significância na redução de consumo é $p < 0,05$ e o coeficiente de correlação sobre o efeito de redução de consumo na presença de N- (NH ₄) ₂ SO ₄ é $r^2 = 0,95$	38
Figura 27 - Diagrama de ordenação restrita ao consumo de CH ₄ nos dois primeiros eixos da análise de redundância (RDA) com base nas características químicas e físicas dos solos de diferentes locais de amostragem e sua relação com o uso do solo (agrícola ou natural), com fertilizante ou não.....	41
Figura 28 – Relação do consumo médio de CH ₄ entre os solos agrícolas e o solos naturais.....	43
Figura 29 – Ilustração do resultado do teste de Tukey que separa os resultados de consumo de CH ₄ em grupos por diferença significativa entre a variância dos dados.....	44
Figura 30 – Correlação entre os fatores químicos e o fluxo de CH ₄ . r = correlação de Person entre as variáveis; p = nível de significância. A espessura das setas representam a intensidade de correlação (forte ou fraca), as cores das setas são coerentes com a polaridade da correlação (positiva ou negativa), setas tracejadas não estão relacionadas diretamente com o fluxo de CH ₄	45

Lista de Tabelas

Tabela 1 – Consumo de CH ₄ , Química e Textura do Solo.....	39
Tabela 2 – Consumo de CH ₄ sem e com adição de N- (NH ₄) ₂ SO ₄ e efeito de inibição em solos naturais.....	40

Lista de Abreviaturas, Siglas e Fórmulas

Al: Alumínio

AOB: Bactéria oxidadora de amônio (do inglês, *Ammonia oxidizing bacteria*)

B: Boro

C: Carbono

Ca: Cálcio

CaCl₂: Cloreto de cálcio

CaCO₃: Carbonato de cálcio

CC: Capacidade de campo

CETESB: Companhia Ambiental do Estado de São Paulo

CH₄: Metano

CO₂: Dióxido de carbono

CTC: Capacidade de troca de cátions

Cu: Cobre

Fe: Ferro

GEE: Gases do Efeito Estufa

H: Hidrogênio

H₂O: Água

IAC: Instituto Agronômico de Campinas

IPCC: Painel Intergovernamental sobre Mudanças Climáticas (do inglês, *International Panel on Climate Change*)

K: Potássio

Mg: Magnésio

Mn: Manganês

1. Introdução

Os ecossistemas naturais exercem funções importantes para manutenção do equilíbrio ambiental, denominadas como serviços ambientais. Os serviços ecossistêmicos de um bioma são classificados como serviços de suporte, abastecimento, regulação e culturais, abrangem, por exemplo, a manutenção da biodiversidade e do potencial genético; a ciclagem da água e os estoques de carbono e nitrogênio (FEARNSIDE, 2006; MILLENIUM ECOSYSTEM ASSESSMENT, 2005).

Os estoques de carbono e nitrogênio são classificados como serviços de regulação e auxiliam na manutenção e no equilíbrio do balanço de gases do efeito estufa (FEARNSIDE, 2006). As florestas, por exemplo, exercem a função de realizar a ciclagem do carbono (C) através da assimilação de gás carbônico (CO₂). Além do CO₂, outros gases de efeito estufa (GEE) como o metano (CH₄) e o óxido nitroso (N₂O) tem seu ciclo dependente dos processos que ocorrem no solo que suportam esses ecossistemas (FEARNSIDE, 2006; BUSTAMANTE *et al.* 2009). Nesse contexto, um dos possíveis impactos da mudança do uso da terra, ao converter áreas naturais em agrícolas, é a redução da capacidade do meio em regular os níveis de gases de efeito estufa na atmosfera. O impacto da mudança do uso da terra sobre o ciclo do C tem sido amplamente discutido, visto que, assim como as plantas de um ecossistema nativo, áreas agrícolas também teriam grande capacidade em realizar a ciclagem do carbono se bem manejadas (BAYER *et al.*, 2013; MELLO *et al.*, 2014). No entanto, observações realizadas em clima temperado demonstraram que a conversão de áreas nativas em áreas agrícolas resulta em parcial ou total inibição da capacidade do solo em consumir CH₄ (POWLSON *et al.*, 1997). Solos bem drenados são os principais sumidouros de CH₄ oxidado biologicamente (KELLER *et al.*, 1983).

Os biomas Mata Atlântica, Amazônia, Cerrado, Pampas e Caatinga estão entre os principais biomas que sofrem pressões antrópicas devido à mudança do uso e ocupação do solo, principalmente através das atividades de agricultura, pecuária e mineração (ANDERSON & SHIMABUKURO, 2003; SANTOS & EPIPHANIO, 2009 GARCIA *et al.*, 2011; EVANGILISTA, 2011; ALVES *et al.*, 2011; SILVA, 2012). Estas pressões antrópicas geram fortes discussões a respeito do uso, manejo e a capacidade de suporte

dos biomas diante das alterações do uso do solo sobre a parcimônia da sustentabilidade. Uma das formas de avaliar o impacto sobre a mudança do uso da terra é mensurar os serviços ambientais proporcionados pelos respectivos biomas. Por sua vez, um dos mecanismos de conservação dos ecossistemas que podem ser adotados é o pagamento por serviços ambientais, no caso de serviços com valoração pecuniária, conforme já é realizado pelo Programa Produtor de Água gerenciado pela Agência Nacional de Águas (BERNARDES & SOUZA-JUNIOR, 2010; MANFREDINI *et al.*, 2014). A valoração de serviços ambientais relacionados a regulação das emissões de GEE poderia seguir os mesmos princípios estabelecidos pelo Protocolo de Kyoto para comercialização de créditos de C.

2. Revisão da Literatura

2.1 Gases do efeito estufa e Potencial de Aquecimento Global

O gás Carbônico (CO₂), Metano (CH₄) e Óxido Nitroso (N₂O) são os principais GEE relacionados com a agricultura e mudança do uso da terra (IPCC, 2007), sendo que cada um deles tem efetividade maior ou menor em reter calor (IPCC, 2013).

Para mensurar o impacto dos GEE's é utilizado o Potencial de Aquecimento Global (PAG) de cada gás. Esse valor é uma medida relativa que compara os gases utilizando como referência o CO₂ (IPCC, 2001), o mais importante GEE relacionado ao aquecimento global. Nesse critério, o CO₂ recebe o valor de 1, já o CH₄ possui PAG 34 e o N₂O 298 (IPCC, 2013). Esse cálculo leva em consideração a capacidade do gás em reter calor e o seu tempo de residência na atmosfera, assim como o efeito em cascata resultado da maior emissão em razão do aquecimento global. Desde o século XVIII, no período pré-industrial, as concentrações dos gases CO₂, CH₄ e N₂O têm aumentado 40%, 150%, e 20%, respectivamente (IPCC, 2013). Atribui-se de 20 a 30% do aquecimento global aos efeitos do CH₄ na atmosfera (IPCC, 2007). A partir de 2007, as concentrações de CH₄ voltaram a aumentar após um período de declínio, atingindo 1824 ppb em 2013 (KIRSCHKE *et al.*, 2013). Esse valor é 2,5 vezes maior do que a concentração verificada no período pré-industrial, o que faz do CH₄ o segundo gás mais importante relacionado ao aquecimento global (IPCC, 2013). O único processo biológico responsável pelo consumo do CH₄ é sua oxidação a CO₂ por organismos metanotróficos (Keller *et al.*, 1983).

2.2 Fontes e Sumidouros de Metano

As emissões de CH₄ podem ser divididas em três categorias: Biogênicas, Termogênicas e Pirogênicas (KIRSCHKE *et al.*, 2013). As fontes biogênicas compreendem as emissões geradas por microrganismos metanogênicos, fermentação entérica em ruminantes, decomposição de matéria orgânica, metabolismo de cupins, outros insetos e anelídeos. As fontes termogênicas são resultado de processos geológicos no qual são gerados os combustíveis fósseis, como gás natural entre outras formações; e as emissões pirogênicas são resultado da combustão incompleta de biomassa e

decorrentes da queima de combustíveis fósseis, incêndios florestais e biocombustíveis (KIRSCHKE *et al.*, 2013).

Os processos que resultam em oxidação do CH₄ podem ser de origem biótica ou abiótica. Os de origem abiótica estão predominantemente relacionados com a presença de radicais hidroxila (OH[•]) na troposfera, que possui alto potencial oxidante. Os processos de oxidação biológica são realizados por microrganismos nas zonas aeróbicas em ecossistemas aquáticos e terrestres (oxidação microbiana) (CURRY, 2007; KIRSCHKE *et al.*, 2013; NISBET *et al.*, 2014). Da estimativa total de CH₄ oxidado no globo terrestre, 90% da oxidação ocorre na troposfera pelos radicais OH[•], seguida pelos solos, que contribuem com 4% da oxidação através de atividade microbiana. Os oceanos são capazes de oxidar 3% de CH₄ através de atividade microbiana e também devido à reação com íon de CL. Já na camada estratosférica, 3% da oxidação ocorre devido reação de CH₄ com CL⁻ e O²⁺ (CURRY 2007; NISBET *et al.*, 2014).

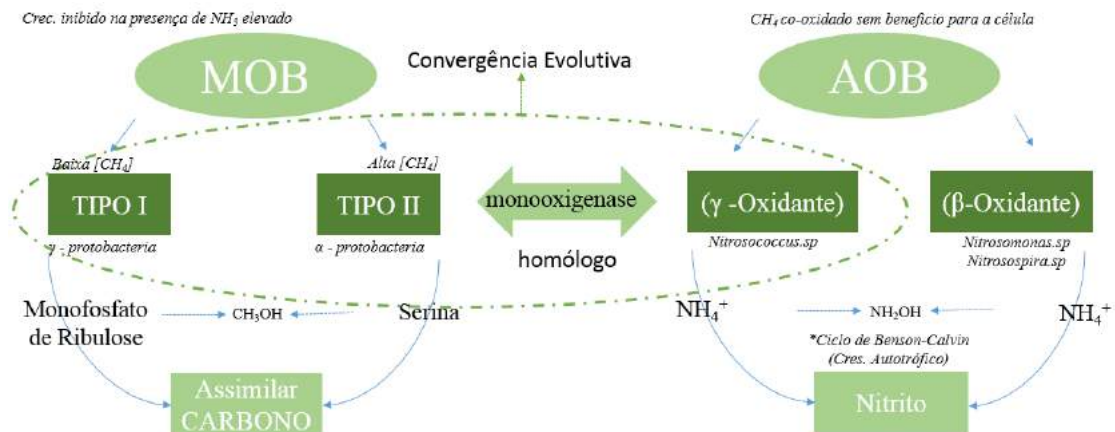
O solos porosos favorecem o nicho das bactérias metanotróficas. Estes microrganismos utilizam a enzima metano monooxigenase (MMO) para converter CH₄ em gás CO₂ e água, sendo encontradas em todo tipo de ecossistema (HUBER-HUMER *et al.*, 2008). No entanto, o grau de saturação de água do solo pode ser fator limitante. A oxidação ótima de CH₄ em solos porosos ocorrem em umidade entre 40 e 80% sendo que a oxidação máxima ocorre em solo com teor de água em 45% do volume de poros preenchidos por água (HUMER & LECHNER, 1999; HILGER & HUMER, 2003). O fator crítico parece ser a quantidade de volume de poros do solo disponível para troca de gás com diferentes teores de umidade, pois em condições de umidade elevada, o CH₄ deve atingir os microrganismos por difusão aquosa, que é muito mais lento que a difusão gasosa (HUMER & LECHNER, 1999).

2.3 Oxidação do Metano pela Comunidade Microbiana do Solo

2.3.1 Nicho ecológico

Os microrganismos metanotróficos são separados em quatro subgrupos (Figura 1), sendo dois subgrupos conhecidos como MOB (*methane oxidizing bacteria*), que são metanotróficos exclusivos, e dois subgrupos conhecidos como AOB (*ammonia oxidizing bacteria*) cuja comunidades são capazes de assimilar CH₄ e NH₄⁺ (OREMLAND & CULBERTSON, 1992; HOLMES *et al.*, 1999). A comunidade MOB é dividida em dois

tipos, a comunidade do tipo I, que utiliza monofosfato de ribulose para assimilar carbono e a comunidade do tipo II, que utiliza serina para a assimilação (HOLMES *et al.*, 1999). Bactérias do grupo AOB possuem a habilidade de acoplar a oxidação de hidroxilamina com a produção de energia e crescimento celular, enquanto MOB não possuem esta habilidade. Por outro lado, AOB não possuem a habilidade de assimilar metanol (HOLMES *et al.*, 1999; JONES & MORITA 1983; DAM *et al.*, 2014). Define-se então que o nicho da oxidação do CH₄ é exclusivamente ocupado pela comunidade de MOB, que consegue ter ganho energético e assimilar C através da oxidação de CH₄.



‘Figura 1 – Representação dos quatro subgrupos de microrganismos metanotróficos, sendo dois subgrupos conhecidos como MOB (*methane oxidizing bacteria*), que são metanotróficos exclusivos, e dois subgrupos conhecidos como AOB (*ammonia oxidizing bactéria*) cujo as comunidades são capazes de assimilar CH₄ e NH₄⁺. Esquema Adaptado: HOLMES *et al.* 1999.

A oxidação de NH₄⁺ e CH₄ são funções homólogas e podem ser mediadas pelas mesmas enzimas em bactérias oxidadoras de CH₄ (MOB) e NH₄⁺ (AOB) (JONES & MORITA, 1983, BODELIER, 2011). Desta forma, inicialmente espera-se que NH₄⁺ possa inibir a oxidação de CH₄ devido a competição por sítios ativos, competição do amônio com o CH₄ pela enzima monooxigenase ou também pela presença da hidroxilamina ou de nitrito (NO₂⁻) (BODELIER, 2011; WANG & INESON, 2003).

A especificidade de um grupo em relação ao outro pode ocasionar o colapso por competição do outro grupo em razão da falta de energia e fonte de C; ou pelo acúmulo de espécies tóxicas de N (eg. hidroxilamina, nitrito) de acordo com a evolução da oxidação de NH₄⁺. (JONES & MORITA 1983, DAM *et al.*, 2014). Por consenso, quanto mais

específica é uma função desempenhada pelo microrganismo, maior diversidade é requerida para ocupar o respectivo nicho, uma vez que raros (micro) organismos exercem essas funções, portanto, a diversidade é benéfica visto que provavelmente aumenta a redundância das funções potenciais da microbiota (JONES & MORITA, 1983; DAM *et al.*, 2014; MARTINY *et al.*, 2013).

Para MOB a probabilidade de redundância é ainda menor, visto que esta função se tem apresentado taxa-dependente (MARTINY *et al.*, 2013). Essa relação tem sido mostrada tanto para solos de várzea, onde se espera altas concentrações do gás, quanto em solos bem drenados, que são sumidouro de CH₄ atmosférico (PESTER *et al.*, 2010, BODELIER *et al.*, 2013, LAUBER *et al.*, 2013). A baixa redundância do grupo MOB e a competição por sítio ativo com NH₄⁺, pode implicar em impactos indiretos da fertilização nitrogenada sobre o balanço de GEE na atmosfera através da inibição da oxidação de CH₄.

Os dois tipos de MOB apresentados (I e II), se diferem em relação as concentrações de CH₄ requeridas para assimilação do gás, onde um possui alta afinidade ao gás (tipo II) e outro com baixa afinidade ao gás (tipo I), e conseqüentemente, ocupam esse nicho em condições de baixa e alta disponibilidade do gás CH₄, respectivamente (BENDER & CONRAD 1992). A maioria absoluta dos isolados de MOB pertencem ao grupo com baixa afinidade a CH₄, portanto, organismos com alta afinidade ao gás e presentes em solos bem drenados estão entre os menos abundantes (BENDER & CONRAD 1992).

2.3.2 Metabolismo Metanotrófico

- *Crescimento*

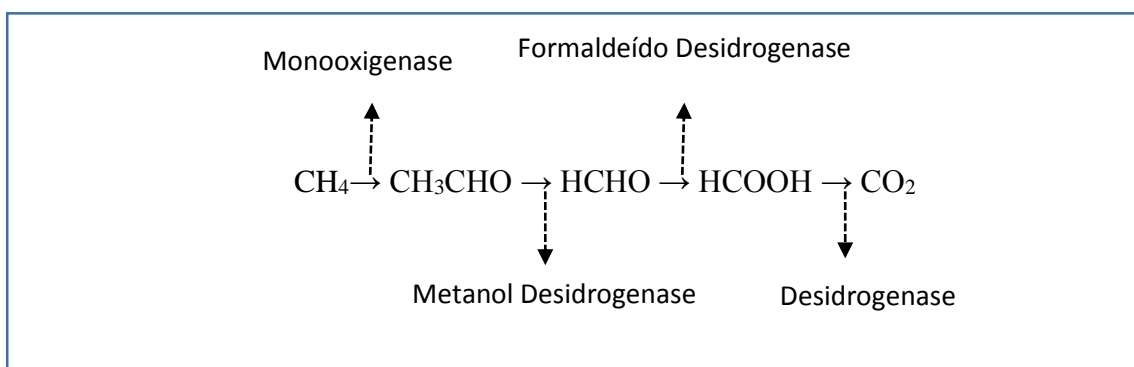
A maioria dos microrganismos metanotróficos crescem melhor em pH moderado (5,0 – 8,0) e no intervalo de temperatura entre 20 a 35 °C (BODEGOM *et al.*, 2001; SEMRAU *et al.*, 2010; MAYLAN *et al.*, 2016). Porém, existem microrganismos que se desenvolvem em condições mais extremas, como por exemplo, microrganismos psicófilos (extremófilos que vivem em condições de baixa temperatura), que possuem crescimento ideal em temperaturas abaixo de 15°C; microrganismos termófilicos, que possuem crescimento ideal em temperaturas maiores que 40°C; microrganismos alcalinidófilos, que possuem crescimento ideal em pH maior que 9,0; e microrganismos

acidófilos, que possuem crescimento ideal em pH menor que 5,0 (BODEGOM *et al.*, 2001; SEMRAU *et al.*, 2010; MAYLAN *et al.*, 2016).

- *Metanotrofia*

A enzima MMO catalisa o processo de oxidação do metano na presença de oxigênio e é encontrada em duas formas: particulada (pMMO) e solúvel (sMMO). A forma particulada (pMMO) está localizada na membrana citoplasmática de todos os metanotróficos (HAKEMIAN & ROSENZWEING 2007). A enzima MMO é codificada pelo gene funcional *pmoA* em metanotróficos do tipo I (baixa concentração de CH₄), no entanto, a enzima sMMO é codificada pelo gene funcional *mmoX* em metanotróficos do tipo II (altas concentrações de CH₄) (SEMRAU *et al.*, 2010).

A oxidação de CH₄ ocorre na primeira etapa da via metabólica através da enzima MMO (HAKEMIAN & ROSENZWEING, 2007). Apesar da diversidade de metanotrófos e da ampla gama de ambientes nos quais eles são encontrados, a via geral pela qual os microrganismos oxidam CH₄ em CO₂ é similar, gerando metanol, formaldeído e outros intermediários metabólicos (equação 1).



Equação 1 –Esquema Simplificado da Oxidação de CH₄ a CO₂

As enzimas sMMO e pMMO possuem crescimento médio controlado pela concentração de cobre (HAKEMIAN & ROSENZWEING 2007). Cobre é um fator chave para regulação da expressão dos genes que codificam sMMO e essencial para regulação de pMMO (SCOTT *et al.*, 1981; STANLEY *et al.*, 1983; SU *et al.* 2014). O gene funcional *pmoA* necessita, além de cobre, ferro para que ocorra expressão gênica (KOLBERG *et al.*, 2004).

pMMO é uma metaloenzima composta por três unidades: pmoA (subunidade β), pmoB (subunidade α) e pmoC (subunidade γ). No entanto, a localização dos sítios ativos dos metais não é conhecida (HAKEMIAN & ROSENZWEING 2007; SU *et al.* 2014). Balasubramanian *et al.* (2010) sugere que o sítio ativo de cobre está localizado nos domínios da subunidade α , todavia é necessário a combinação das três subunidades para o funcionamento ótimo do processo de oxidação de CH₄.

2.3.3 Fatores que controlam o consumo de CH₄

De fato, a diversidade microbiana tem sido relacionada com capacidade de consumo de CH₄ (PESTER *et al.*, 2010, LAUBER *et al.*, 2013). Considerando que áreas nativas tendem a ter maior diversidade microbiana em razão da maior complexidade de substratos disponíveis (HOOPER, 2000; NICODEMO, 2009), espera-se que além do efeito do fertilizante, a mudança do uso da terra também interfira na capacidade do solo em consumir CH₄. A disponibilidade de metais micronutrientes é outro fator que podem ter interferência no consumo de CH₄ e estão relacionadas com a fertilidade do solo. Tem-se verificado através de estudos fisiológicos e bioquímicos que a disponibilidade de ferro e cobre, por exemplo, podem limitar a oxidação de CH₄ em vias aeróbicas, indicando que a mudança da fertilidade do solo pode modificar a comunidade microbiana (GLASS & ORPHAN, 2012; HO *et al.*, 2013).

Considerando a interação entre o N e a comunidade promove a oxidação do CH₄, acredita-se que a mudança do uso do solo e o uso de fertilizante contribua significativamente para as emissões de gases do efeito estufa (BODELIER, 2011). No Brasil, a aplicação de fertilizantes nitrogenados tem aumentado em torno de 4.000% nas últimas cinco décadas (MARTINELLI & FILOSO, 2008). Tal aumento deve-se tanto à expansão agrícola quanto à intensificação da agricultura. Por exemplo, a área plantada com cana-de-açúcar aumentou mais de 8 milhões de hectares nos últimos 50 anos (MACEDO *et al.*, 2008, MARTINELLI & FILOSO, 2008). Em estimativas recentes, a dose de N aplicada aumentou de menos de 60 kg ha⁻¹ para 120 kg N ha⁻¹ (MACEDO *et al.*, 2008). A área plantada com outras culturas com maior demanda de N, como milho e citros, também tem aumentado (CASER *et al.*, 2012, BUSTAMANTE *et al.*, 2009). Diante desse fato, destaca-se a preocupação em estudar o efeito do fertilizante nos fluxos gasosos em ecossistemas agrícolas.

Em geral, os solos bem drenados apresentam baixa abundância microrganismos anaeróbicos, consomem CH_4 atmosférico e, por via de regra, esses fluxos são mostrados como negativos (KELLER *et al.*, 1983). Dessa forma, solos com textura mais grossa e mais drenados apresentariam maior capacidade de oxidar CH_4 . (BOECKX *et al.*, 1997).

3. Objetivos

Como tem-se observado que a agricultura e o uso de fertilizante nitrogenado estão relacionados com a inibição do consumo de CH₄ (POWLSON *et al.*, 1997 BODELIER, 2011). Baseando-se na interação entre oxidação de CH₄ e NH₄⁺ por microrganismos oxidadores de metano do grupo MOB e AOB (BENDER & CONRAD, 1992), a hipótese deste trabalho é de que a adubação nitrogenada interrompe o consumo de CH₄. Desta forma, a mudança do uso e ocupação do solo teria uma relação indireta com a interrupção dessa atividade no solo, e não uma relação de causa e efeito. Para avaliar esta hipótese foram definidos os seguintes objetivos:

- Comparar a capacidade de consumo de CH₄ de solos sob vegetação nativa e cultivados;
- Avaliar o efeito do fertilizante nitrogenado sobre a capacidade do solo em oxidar CH₄;
- Avaliar quais fatores físico-químicos estão relacionados com a capacidade do solo em consumir CH₄ após receber fertilização nitrogenada.

4. Material e Métodos

4.1 Delimitação experimental e áreas de coleta

Os solos foram coletados em diferentes regiões e biomas do Brasil, em amplo gradiente latitudinal, que representam climas distintos com diferentes variabilidades em relação a temperatura e precipitação. Os solos de diferentes biomas foram coletados aos pares em duas áreas adjacentes, sendo uma amostra do solo com vegetação nativa e outra amostra de solo com histórico de adubação e uso agrícola (mudança de uso do solo). Os biomas com maiores pressões agrícola são enfoque desse trabalho, como cerrado, Mata Atlântica, Caatinga e Pampas. Considerando cada bioma estudado, as amostras tanto de vegetação nativa quanto a área com histórico de adubação e uso agrícola foram incubadas com e sem a adição de nitrogênio [N-(NH₄)₂SO₄]. Para evitar o efeito residual da adubação, os solos foram coletados após a colheita da cultura e antes do próximo preparo de solo. Para solos de cada localidade houve 4 tratamentos distintos, com quatro repetições, sendo eles:

- 1 - Solo incubado da área de mata sem adição de N;
- 2- Solo incubado da área de mata com adição de N;
- 3- Solo da área com histórico de adubação sem adição de N;
- 4- Solo da área com histórico de adubação com adição de N.

4.1.1 Mata Atlântica

➤ *Município São Luiz do Paraitinga – SP (Serra do Mar)*

A área amostral localizada no município de São Luiz do Paraitinga (Figura 2), no Estado de São Paulo, encontra-se entre o Planalto Atlântico e as cadeias montanhosas da Serra do Mar, no Parque Estadual da Serra do Mar, Núcleo Santa Virgínia, próximo da crista de cadeias de montanhas onde se encontra uma floresta nativa (altitude de 989 m) (23°19'22.0"S; 45°05'43.6" W) (Figura 3-a). A área com histórico de adubação (plantio de milho há pelo menos 10 anos) está localizada nos limites de um parque estadual, a cerca de 18 km para o oeste (-23°34'53.4"; -47°31'35.0") na elevação de 820m (Figura 3-b). Nesta área já existem estudos relacionados aos fluxos de gases de efeito estufa, conduzidos em 2011 pela pesquisadora Janaina Braga do Carmo e colaboradores.

Nesse estudo foi verificado como a mudança do uso da terra afeta o fluxo de CH₄, CO₂ e N₂O, e apontados que solos transformados em pastagem (atividade agrícola) emitem pouco CH₄ no inverno e consomem menos CH₄ que as áreas florestadas no verão chuvoso. Por já haver um histórico da área, a coleta de solo foi realizada no mesmo local do experimento de Carmo *et al.*, (2012).



Figura 2 – Área amostral de Mata Atlântica, Estado de São Paulo (Ponto Verde: área nativa em 23°19'22.0"S; 45°05'43.6" W - Ponto Vermelho: área cultivada em - 23°34'53.4"; -47°31'35.0"). Município de São Luiz do Paraitinga.

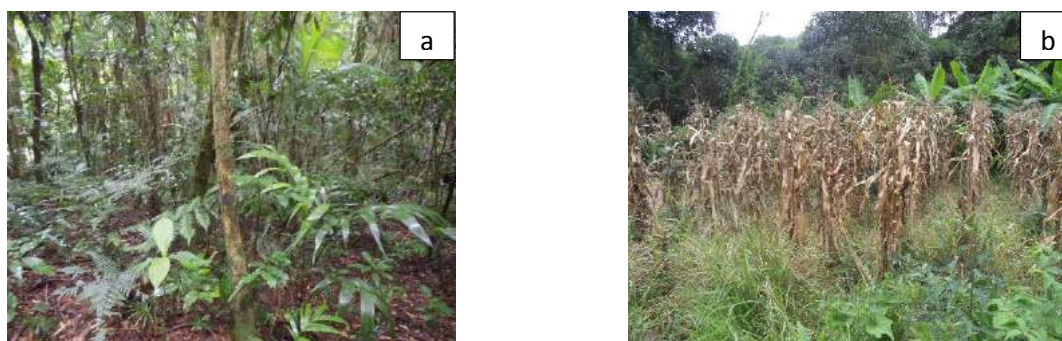


Figura 3 – Área amostral de Mata Atlântica. Fotos registradas no município de São Luiz do Paraitinga – SP. a) -área de Floresta nativa ; b) área com histórico de adubação (plantação de milho).

➤ *Município de Aiuruoca – MG, (Serra da Mantiqueira).*

A área amostral localizada no município de Aiuruoca no Estado de Minas Gerais representa amostras do bioma Mata Atlântica (Figura 4 e 5). A amostra de solo de mata foi obtida de uma área de floresta com vegetação típica de mata atlântica e a amostra

de solo com histórico de adubação foi coletada de uma área agrícola com cultivo de oliveira, no qual há 4 anos recebe adubação com 100 kg ha^{-1} de N na forma de nitrato de amônio, 120 kg ha^{-1} de K_2O na forma de KCl e 40 kg ha^{-1} de P_2O_5 na forma de superfosfato simples, da mesma forma em que é realizado em culturas de cana-de-açúcar. Este é o primeiro estudo científico com fluxo de gases nesta região.

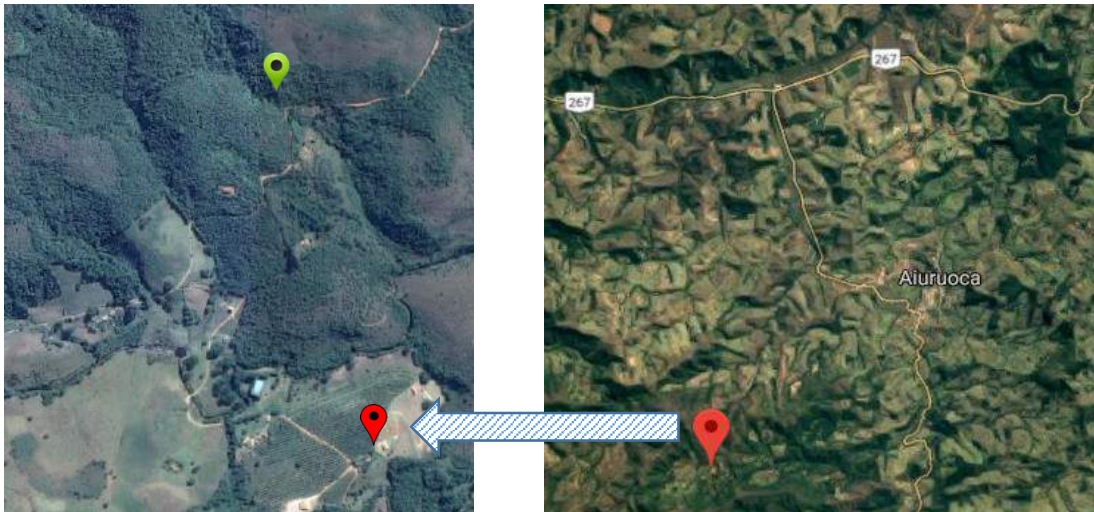


Figura 4 – Área amostral de Mata Atlântica, localizada no município de Aiuruoca, MG. Localização: $22^{\circ}1'5''\text{S}44^{\circ}39'24''\text{W}$, área nativa localizada a 1 km ao norte do ponto demarcado.



Figura 5 – Área amostral de Mata Atlântica, localizada no município de Aiuruoca, MG. Visão panorâmica da área coletada (*Google Earth*).

4.1.2 Ecótono, transição Cerrado Mata Atlântica

➤ *Município de Araras – SP*

A área experimental está localizada no município de Araras no Estado de São Paulo (22°22' S, 47°30' O). O solo é classificado como Latossolo vermelho-amarelo, de acordo com o Sistema Brasileiro de Classificação de Solo (EMBRAPA, 2006). A área é arrendada e cedida pela Usina São João. Nesta área, existe manchas de Floresta Estacional Decidual com vestígio de fragmentação da Mata Atlântica em transição com vegetação de Cerrado (Figura 6). O experimento recorreu em uma destas manchas de vegetação (predominantemente Mata Atlântica) para a amostragem de solo sob plantio de cana-de-açúcar com histórico de adubação e solo nativo conforme o a figura 7 e 8, respectivamente.

Esta área foi estudada pela Universidade Federal de São Carlos (UFSCar) *campus* Sorocaba, onde foram quantificados os fluxos de gases entre 2011 e 2012 (Pitombo et al. 2017). A cana-de-açúcar cultivada nesta região (variedade RB-845210) é cortada sem queima e a adubação é feita através da aplicação de 100 kg ha⁻¹ de N na forma de nitrato de amônio; 120 kg ha⁻¹ de K₂O na forma de KCl e 40 kg ha⁻¹ de P₂O₅ na forma de superfosfato simples.

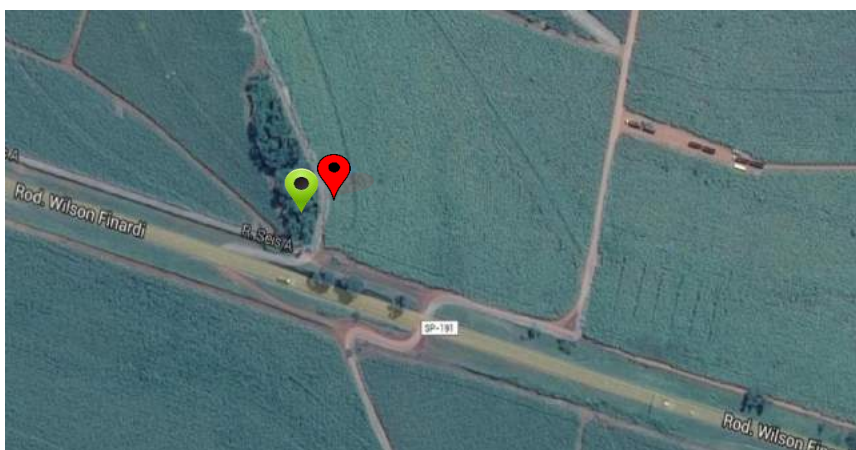


Figura 6 – Área de transição entre os Biomas Mata Atlântica e Cerrado, localizada no município de Araras, no Estado de São Paulo (Ponto Verde: área nativa em 22°2'59,7''S;

47°30'13,0"W - Ponto Vermelho: área cultivada em 22°2'59,5"S, 47°30'11,9"W) em uso agrícola e nativa onde foi coletada amostra de solo classificado como Latossolo.



Figura 7 – Mata Atlântica, registro no município de Araras-SP, plantio de cana-de-áçucar.



Figura 8 – Mata Atlântica, registro no município de Araras-SP, mancha de paisagem Mata Atlântica fragmentada de Cerrado.

➤ *Município de Sorocaba - SP*

O solo foi coletado em uma área de propriedade particular de produção comercial de diversas variedades de citros, denominada FAZENDA SÃO PEDRO, localizada no município de Sorocaba, região sudeste do estado de São Paulo, Brasil (23° 34'35.76" S; 47° 30'58.95" W), (Figura 9, 10 e 11). A classificação climática de Köppen-Geiger considera o clima regional como Cfa subtropical quente (temperado úmido com verão quente), o qual apresenta temperatura média anual mínima de 21,4°C e máxima de 30,1°C no verão e mínima de 12,2°C no inverno, bem como a precipitação anual de 1.285 mm (SILVA et al, 2007). O solo predominante na propriedade foi classificado como Latossolo Vermelho (EMBRAPA, 2006).

A área plantada com citros é de 333,7 ha na qual são cultivadas com laranjeiras da variedade pera-rio. A coleta do solo foi feita em área sob cultivo inorgânico, talhão 117 B. O Solo é estudado pela Universidade Federal de São Carlos *campus* Sorocaba. Nesta área, a adubação geralmente ocorre nos meses de Agosto, Novembro e Fevereiro. A área é tratada com adubação nitrogenada de 2,1 kg/planta no qual é usado fertilizante químico, fórmula 15-10-15 em parcelas de 900g/planta (o que equivale a 55,10 kg N/ha).

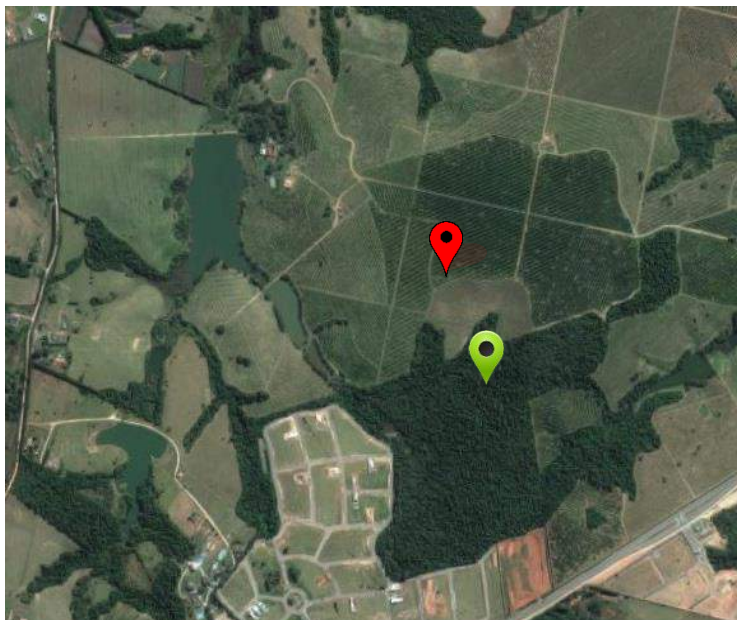


Figura 9 – Área de transição entre os Biomas Mata Atlântica e Cerrado, no Estado de São Paulo (Ponto Verde: área nativa em 23° 34'35.76" S 47° 30'58.95" W - Ponto Vermelho:

área cultivada) em uso agrícola e nativa onde foi coletada amostra de solo classificado como Latossolo.



Figura 10 –Mata Atlântica, registro no município de Sorocaba-SP, plantio de laranja pera-rio.



Figura 11 –Mata Atlântica, registro no município de Sorocaba-SP, Área Nativa.

4.1.3 Cerrado

➤ Município de Itirapina-SP

A área selecionada no município de Itirapina está inserida no Bioma Cerrado *stricto sensu* (Figura 12 e 13). O solo foi coletado na cidade de Itirapina, SP. A adubação da cana-de-açúcar é feita com aplicação de 100 kg ha^{-1} de N na forma de nitrato de amônio; 120 kg ha^{-1} de K_2O na forma de KCl e 40 kg ha^{-1} de P_2O_5 na forma de superfosfato simples.



Figura 12 – Área de Cerrado no planalto paulista ($22^{\circ} 17' 18.65''\text{S}$; $47^{\circ} 54' 3.41''\text{W}$) onde coletou-se solo. O solo apresenta textura arenosa. Em verde, área com vegetação nativa. Áreas com curva de nível são cultivadas com cana-de-açúcar e está marcada com ponto vermelho. a) área natural ao fundo, floresta primária; b) área agrícola cultivada com cana-de-açúcar.

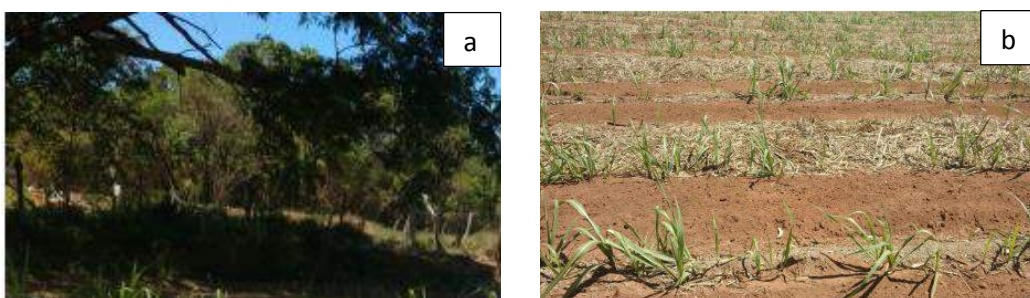


Figura 13 – a) área nativa (Itirapina-SP); b) plantio de cana-de-açúcar.

➤ Município de Planaltina – Brasília-DF

O solo é classificado como Latossolo Vermelho. As coletas de solo na área localizada em Planaltina, Brasília foram feitas em duas áreas (Figura 14); A área nativa possui vegetação primária típica de cerrado, já a área cultivada possui rotação entre milho e soja desde 1998, a adubação é feita anualmente com aproximadamente 400 kg de NPK suplementado de Zn (0-20-20) por hectare na cultura de soja e 400 kg de NPK suplementado de Zn (4-30-16) na cultura de milho. A amostra obtida do solo cultivado foi retirada no período de colheita do milho. A área localizada em Planaltina, Brasília é estudada pela Embrapa Cerrado. A figura 14 mostra os locais coletados.



Figura 14 – Área de Cerrado no planalto central (Ponto Verde: Área nativa em 15°36'45.0"S 47°44'22.3"W- Ponto Vermelho: Área cultivada em 15°36'37.4"S 47°44'32.2"W) em uso agrícola e nativa onde foi coletada amostra de solo classificado como Latossolo. Solo enviado por colaboradores da EMBRAPA Cerrados.

4.1.4 Pampas

➤ *Município de Porto Alegre - RS*

O solo é estudado pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul (figura 15 e 16). De acordo com as informações cedidas pela Universidade, as amostras do solo nativo representam solo sob campo nativo há 30 anos, com baixa fertilidade natural, nunca cultivado. Já a amostra de solo com histórico de adubação representa solo cultivado no sistema Pousio Invernal/Milho durante 33 anos com adubação anual no milho de 50 kg de P_2O_5 ha^{-1} e 50 kg de K_2O ha^{-1} , e 180 kg ha^{-1} de N na forma de ureia.

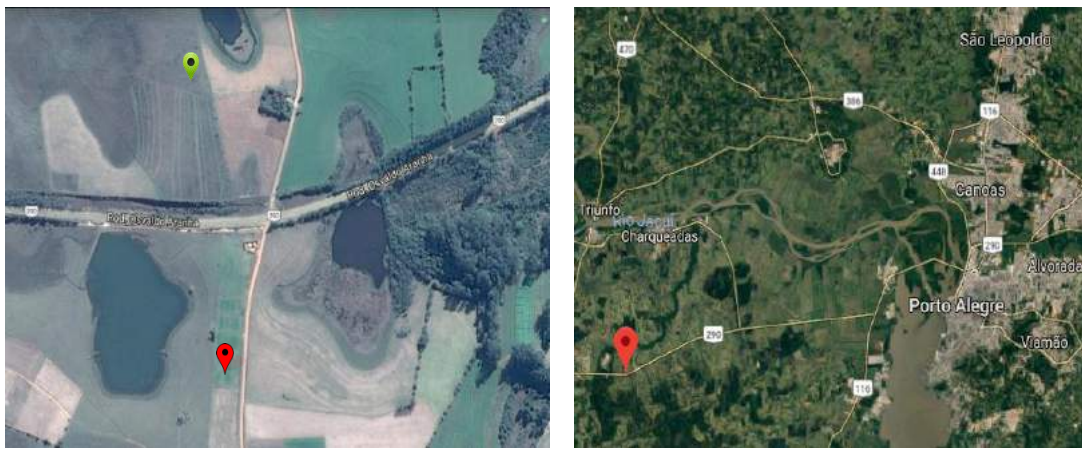


Figura 15 – Área de Pampas (Ponto Verde: Área nativa em -30.09957, -51.681657; Ponto Vermelho: Área cultivada em -30.109881, -51.676991). Solo enviado por colaboradores da UFRGS.

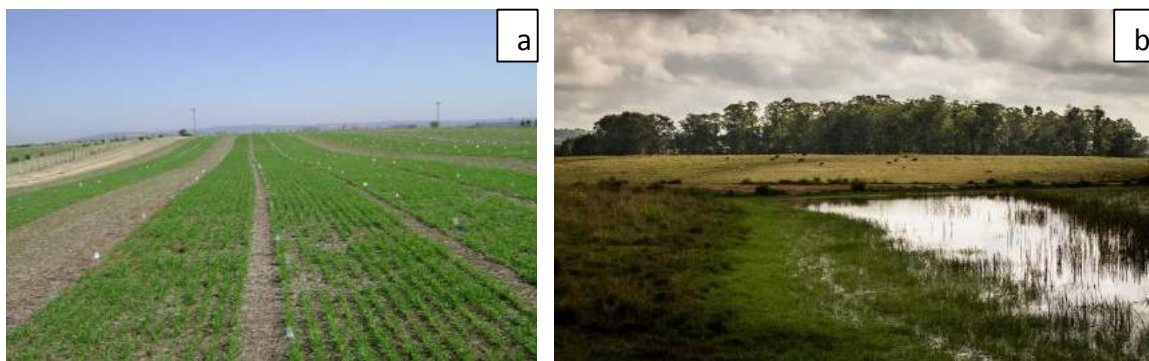


Figura 16 – a) área de plantio; b) área nativa com vegetação típica de pampa (*Google Earth*).

➤ *Município de Pelotas - RS*

A área é estudada pela EMBRAPA milho e sorgo, no município de Pelotas – RS (Figura 17 e 18), a área nativa está localizada em 31°51'05.7"S 52°16'38.3"W e a área cultivada com plantio de melancia está localizada a 31°50'56.5"S 52°16'35.5"W. O plantio de melancia, que anteriormente era pasto, é mantida desde 2012 sem rotação de cultura. A adubação é feita com uma tonelada de NPK 10-10-10 por hectare por plantio.

A coleta foi realizada conforme a figura abaixo:

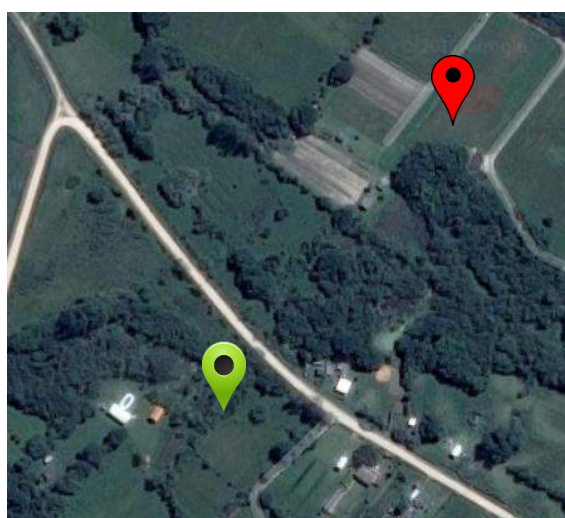


Figura 17: Área de Pampas em Pelotas – RS (Ponto Verde: área nativa está localizada em 31°51'05.7"S 52°16'38.3"W - Ponto Vermelho: área cultivada com plantio de melancia está localizada a 31°50'56.5"S 52°16'35.5"W). Solo enviado por colaboradores da EMBRAPA milho e sorgo.



Figura 18: a) campo nativo com floresta primária; b) área agrícola cultivada com melancias.

4.1.5 Caatinga

➤ Município de São João – PE

A coleta de solo foi realizada no município de São João, na mesorregião do agreste meridional do estado de Pernambuco (área nativa: 8. 48'41,01078" 36. 24'19,93683"; área cultivada: 08 48' 40,28236" 36.24' 27,65224") (Figura 19 e 20). O clima predominante é “As” conforme a classificação de Köppen, que equivale ao semi-árido. A precipitação média anual é de 1310 mm. O solo da área é classificado como Neossolo Regolítico (EMBRAPA, 2006). Complementando o histórico da área cultivada, a *Brachiaria decumbens* foi plantada em consórcio com milho (milho para forragem), em plantio direto. Foi realizada fertilização com superfosfato simples e em cobertura, adubação de sulfato de amônio e sulfato de potássio (100 kg ha^{-1} de N e 100 kg ha^{-1} de P_2O_5). A área é estudada pela Universidade Federal do Pernambuco (UFPE).



Figura 19 : Área de Caatinga em São João – PE (Ponto Verde: área nativa em 08 48'41,01078" 36. 24'19,93683"; Ponto Vermelho: área cultivada: 08 48' 40,28236" 36.24' 27,65224").



Figura 20 - Pastagem da região de São João – PE

➤ *Solo de Mossoró – RN*

A região da coleta de solo está localizada na estrada Mossoró-Baraúna, cerca de 30 km de Mossoró, FAZENDA CRIS FRUTAS, entre coordenadas: 5° 07' 46,3''S e 37° 29' 40,7''W de Greenwich (Figura 21 e 22). O clima é classificado como BSw'h' da classificação de Köppen, que equivale ao clima semi-árido quente e cuja época das chuvas pode não ocorrer anualmente. O solo é classificado como cambissolo háplico. Complementando informações da área, o solo foi coletado em plantio de milho com adubação inorgânica e em uma área nativa adjacente, ambas inseridas no bioma Caatinga. A área é estudada pela Universidade Federal rural do Semi-Árido (UFERSA).

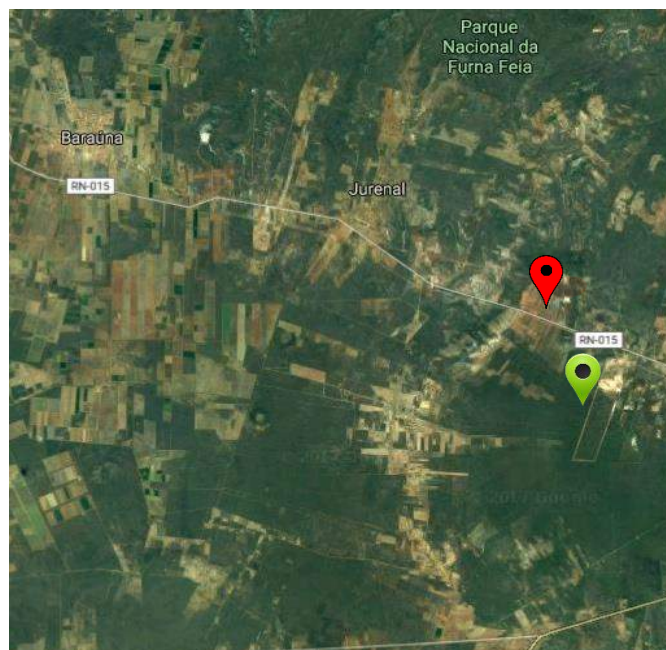


Figura 21: Área de Caatinga em Mossoró – RN ($5^{\circ} 07' 46,3''S$ $37^{\circ} 29' 40,7''W$ de Greenwich). Ponto Vermelho: Plantação de milho; Ponto Verde: Área Nativa. Solo enviado por colaboradores da UFERSA.

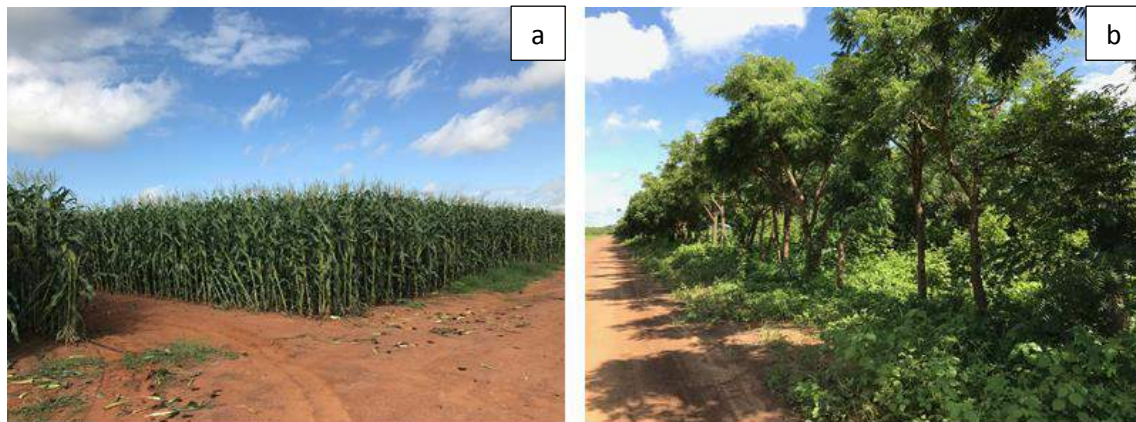


Figura 22 : a) área cultivada com milho, uso de fertilizante inorgânico; b) área nativa, Mossoró - RN.

➤ *Solo de Petrolina – PE*

O solo é estudado pela EMBRAPA Semi-Árido. O Campo Experimental de Bebedouro (Figura 23) está localizado no Perímetro Irrigado Bebedouro, a 20 km da sede da Embrapa Semiárido e a 40 km do município de Petrolina, PE, na região do Submédio São Francisco. Possui uma área de aproximadamente 97 hectares. A área nativa possui vegetação primária típica da caatinga. Na área agrícola, ocorre produção de uva tratada com adubação orgânica e mineral (pesada).



Figura 23 – Área de Caatinga em Petrolina – PE (-9.326184, -40.508542). Ponto Vermelho: Plantação de uva; Ponto Verde: Área Nativa. Solo enviado por colaboradores da EMBRAPA Semi-Árido.

Os solos com vinhedos próximos ao vale do rio São Francisco (que compreende a mesorregião de semi-árido do Pernambuco) são considerados de baixa fertilidade, baixa matéria orgânica (10g/kg) e com baixos níveis de N e P (SILVA *et al.*, 2016). Os viticultores da região aplicam cerca de 20 a 60 m³ ha⁻¹ de estrume de cabra, (correspondendo a 100 a 400 kg ha⁻¹ N por ciclo de cultivo), contribuindo assim para o aumento da matéria orgânica e outros nutrientes nesses solos (SILVA *et al.*, 2016). O solo da área foi classificado como Argissolo Vermelho-Amarelo Eutrófico Plintossólico, textura média, com 810 g kg⁻¹ de areia, 130 g kg⁻¹ silte e 60 g kg⁻¹ de argila na camada de 0.00-0.20 m (SILVA *et al.*, 2016).

4.2 Caracterização do solo

4.2.1 Coleta

Os solos foram coletados na camada 0-20 cm. Aproximadamente 10 kg de solo foram coletados e secos ao ar. Após secagem, o solo foi passado por peneira de 2 mm e homogeneizado. Para a montagem de 8 microcosmos (4 repetições, com ou sem adição de N) foram necessários de 3kg a 5kg de solo peneirado, dependendo da densidade aparente da amostra de solo. O período de coleta foi realizado de abril de 2016 a junho de 2017 nos pares experimentais de cada bioma selecionado. Por fim, foram realizadas análises de fertilidade do solo para determinar a disponibilidade de nutrientes e quantidade de matéria orgânica, e então, correlacioná-los com o potencial de consumo de metano. Em solos de clima temperado utiliza-se o método de preservação em baixa temperatura. Em de clima tropical e subtropical cuja estação seca e úmida é bem definida, acredita-se que a secagem não interfere no potencial microbiano do solo uma vez que este processo faz parte do ciclo anual do ambiente. A secagem também não alterou a capacidade dos solos em consumir CH₄ no trabalho de Roslev *et al.*, (1997), apesar de interferir na eficiência.

4.2.2 Caracterização do solo, Aparelhagem e Procedimento de Preparo

Os procedimentos de caracterização do solo para montagem dos microcosmos seguiu os procedimentos descritos na norma CETESB/L6.350, conforme detalhado a seguir. A obtenção das variáveis de densidade de partículas, densidade aparente,

porosidade e umidade do solo foram necessárias para definir o volume de gases no interior dos microcosmos, assim como a porosidade do solo preenchida com água.

4.3.3 Análise de pH em CaCl₂

O pH das amostras de solo foi analisado em CaCl₂ 0,01 mol⁻¹. As medidas foram feitas adicionando 10 cm⁻³ de solo e 25 mL de CaCl₂ 0,01 mol⁻¹ em um erlenmeyer, que permaneceu em repouso por 15 min. Após o período de repouso, a amostra foi agitada em mesa de agitação por 5 min, a 240 rpm. Após a agitação, as amostras permaneceram em repouso por 30 min para posterior leitura do pH utilizando um pHmêtro modelo mPA-210 da MS Tecnoyon.

A acidificação do solo é um processo natural que pode ser acelerado ou intensificado em sistemas agrícolas, principalmente pela aplicação de fertilizantes de reação ácida ou pela concentração de Al⁺³ (alumínio) no solo. Acreditamos que durante o tratamento das amostras incubadas pode haver alteração do pH e isso pode influenciar na ação metanotrófica. Desta forma, o pH também foi medido ao final do período de incubação dos microcosmos.

4.3.4 Umidade residual

Sabendo que a metanotrofia ocorre em condição ideal de umidade, é importante conhecer a umidade residual do solo para determinar a quantidade de água a ser adicionada para regular o microambiente criado dentro do microcosmos. A umidade residual foi determinada pesando-se em um cadinho, 10 g de solo, o qual foi seco em estufa a 105°C por 2 horas. A umidade residual é a razão da massa de água absorvida pelo solo com a massa de solo seca:

$$\% \text{ Umidade} = \frac{[(mc + ma) - (mt)]}{ma - [(mc + ma) - (mt)]} \times 100$$

Onde,

mc = massa do cadinho;

ma = massa da amostra;

mt = massa total (massa do cadinho + massa da amostra) após seco em estufa.

Antes de montar o experimento, todas as amostras foram submetidas a análise de umidade residual.

4.3.5 Densidade aparente, capacidade de campo e espaço dos poros preenchidos por água

Densidade aparente é a relação entre a massa de uma amostra de solo seco a 110°C e o volume dessa amostra não deformada, incluindo os espaços ocupados pelo ar e pela água (EMBRAPA, 2010). A densidade aparente da amostra foi utilizada para calcular a massa de solo necessária para a montagem do microcosmo a fim de se obter 300 mL de solo. Na determinação da densidade aparente, também foi possível determinar a capacidade de campo aproveitando o mesmo procedimento.

De acordo com a Embrapa “*a capacidade de campo é a quantidade de água retida pelo solo após a drenagem ter ocorrido ou cessado em um solo previamente saturado por chuva ou irrigação; é a quantidade de água retida pelo solo quando a condutividade hidráulica não saturada se torna tão pequena que o fluxo de água pode ser considerado como sendo zero*” (EMBRAPA, 2010).

A densidade aparente foi medida utilizando um anel volumétrico de 100 cm³, previamente aferido (V₁). Um papel de filtro (qualitativo – gramatura em 80 g/m², diâmetro em 70mm) com tamanho adequado para ser fixado por colagem ao fundo do anel, utilizando-se uma fita colante. Após a colagem, o conjunto foi imerso em uma caixa com água destilada suficiente para umedecer e saturar o papel de filtro. O conjunto foi retirado da caixa, drenado o excesso de água, pesado (m₁) e seco a 110°C até peso constante (m₂). Após esse procedimento, esse conjunto foi preenchido com amostra, compactada com leves batidas até completar o anel com solo, o excesso de solo foi aparado como auxílio da espátula ao nível da altura do anel. O conjunto foi seco a 110°C por 24 horas, esfriado em dessecador e pesado (m₃).

O conjunto contendo a amostra seca foi imerso na caixa com água destilada até cerca da metade da altura do anel. Quando a amostra se mostrou saturada (umidade visível), foi colocada em dessecador até drenagem completa. A unidade completa foi pesada em condições de saturação (m₄). A densidade aparente foi calculada por:

$$r_A = \frac{m_3 - m_2}{V_1}$$

Onde,

r_A é a densidade aparente, em g cm^{-3} ;

m é a massa, em g;

V é o volume do anel, em cm^{-3} .

A capacidade de campo foi calculada por:

$$CC = \frac{(m_4 - m_3) - (m_1 - m_2)}{m_3 - m_2} \times 100$$

Onde: CC é a capacidade de campo, em $\text{g H}_2\text{O}/100 \text{ g}$ de solo;

m é a massa, em g.

4.3.6 Porosidade Total e Poros preenchidos por água.

Para atingir uma respiração basal do solo é necessário que o microambiente seja regulado com quantidade de água inferior a quantidade adicionada no tratamento principal. A condição ótima de umidade para que ocorra a metanotrofia é 45% de água que preenche os poros em relação a porosidade total. Sendo assim, a pré-incubação ocorreu a 40% de poro preenchido por água (WFPS – *water filled-pore space*) e 45% WFPS foi nosso tratamento principal.

$$\text{Porosidade Total} = \frac{m_{ss} - \text{umidade residual}}{d_p} \times 100$$

Onde,

m_{ss} = massa de solo seca;

d_p = densidade de partículas.

Em uma semana de pré-incubação os fluxos se estabilizam e atingem condições basais. Posteriormente, o experimento foi regulado a 45% WFPS, no qual os fluxos com os tratamentos foram observados por 10 dias.

Sendo assim, o fertilizante [sulfato de amônio: $N-(NH_4)_2SO_4$.] e solução de exsudato de planta foram diluídos em água num volume suficiente para serem distribuídos igualmente na superfície do solo.

4.3.7 Densidade de partículas

Densidade de partículas é a relação entre a massa de uma amostra de solo seco a $110\text{ }^\circ\text{C}$ e o volume dessa amostra não deformada, excluindo espaços ocupados pelo ar e pela água. A densidade de partículas não é afetada pelo arranjo dos sólidos do solo, nem pela textura e porosidade. Depende apenas da natureza mineralógica e do conteúdo de matéria orgânica (CAMARGO et al., 2009). A densidade de partículas é utilizada para calcular o volume ocupado pelo solo no microcosmo e, conseqüentemente, o volume de gás no interior do frasco.

A densidade de partículas foi medida adicionando a um balão volumétrico (100 mL), previamente pesado, 20 g de solo e posteriormente, completando o seu volume com água destilada. O conjunto balão + solo + água foi pesado.

Dessa forma, o volume de água adicionado ao balão foi calculado por:

$$D = \frac{m}{V}$$

Onde: D é a densidade, em g cm^{-3} (para água, foi usado 1 g cm^{-3});

m é a massa, em g;

V é o volume, em mL

Sabendo-se o volume de água, podemos determinar o volume do solo:

$V_s = 100\text{mL}$ (volume do balão) – V; onde V_s é o volume que o solo ocupa no balão.

Obtendo-se o valor do volume do solo, conseguimos determinar a densidade de partículas:

$$dp = \frac{m}{V_s}$$

Onde, dp é a densidade de partícula.

4.3.8 *Análise granulométrica*

A determinação da distribuição percentual das partículas primárias do solo foi realizada pelo princípio de desagregação mecânica da amostra, dispersão e avaliação da proporção relativa das partículas primárias por sedimentação em meio aquoso (Camargo et al., 2009). Essa determinação teve como objetivo conhecer a proporção de areia, silte e argila nas amostras de solo utilizadas no experimento, possibilitando avaliar a sua relação entre as emissões dos GEE. Essa determinação foi feita transferindo para um erlenmeyer uma massa de 10 g da amostra, 50 mL de solução dispersante (20 g de hidróxido de sódio em 5 litros de água destilada) e 50 g de hexametáfosfato de sódio ($(\text{NaPO}_3)_6$). A mistura foi agitada utilizando uma mesa agitadora em 240 rpm até completa dissolução dos reagentes por um período de 16 horas. Após esse período, a areia foi separada do silte e argila por uma peneira com malha de 0,053 mm, a areia foi reservada em um Erlen Meyer de 50 mL, o fluido que ultrapassou a peneira foi transferido para uma proveta de 500 mL e o volume foi completado com água destilada. A temperatura do ambiente determina o tempo de decantação da solução na proveta e pode variar de 5h: 13 min (temperatura de 10°C) a 3h:15 min (temperatura de 29°C).

De acordo com Camargo et al. (2009), o tempo necessário para a sedimentação da partícula, numa temperatura de 20 °C, é de 4 h para argila, calculado segundo a lei de Stokes:

$$V = \frac{2}{9} \times g \times r^2 \times \frac{dp - dsol}{\eta}$$

Onde: g é 980,7 cm/s²;

r é o raio da partícula;

d_p é o peso específico da partícula (considerado $2,65 \text{ g cm}^{-3}$);

d_{sol} é o peso específico da solução;

η é a viscosidade da água à temperatura considerada.

Dessa forma, após o tempo necessário para a sedimentação, foi introduzida na proveta uma pipeta de 10 mL a uma profundidade de 5 cm para a amostragem de argila. As alíquotas foram transferidas para cápsulas de porcelana previamente zeradas e secas em estufa a 105°C por 8 horas. Cabe mencionar que o procedimento foi feito com a prova em branco (solução dispersante e água destilada). As cápsulas foram retiradas da estufa, esfriadas em dessecador contendo cloreto de cálcio anidro e pesadas rapidamente em balança de precisão, para obtenção do peso da argila + dispersante (A+D) e da argila + silte + dispersante (A+S+D).

Os resultados foram expressos em porcentagem da terra fina seca ao ar (TFSA). Das alíquotas pesadas, foi subtraído o peso do dispersante que, neste experimento, correspondeu a cerca de 0,014 g.

Argila (%) na TFSA = $[\text{peso da argila + dispersante (A+D)} - \text{peso do dispersante (D)}] \times 500$

Silte (%) na TFSA = $[\text{peso da argila + silte + dispersante (A+S+D)} - \text{peso da argila (A)} - \text{peso do dispersante (D)}] \times 500$

Areia grossa (%) na TFSA = $\text{peso da areia grossa (AG)} \times 10$

Areia fina (%) na TFSA = $100 - (\% \text{ argila} + \% \text{ silte} + \% \text{ areia grossa})$.

4.3.9 Análises de macro e micronutrientes

A finalidade da determinação dos parâmetros de fertilidade é determinar a quantidade de nutrientes contida nas amostras de solo e correlacioná-las com a capacidade do solo em consumir CH_4 . Dessa forma, a matéria orgânica do solo foi determinada por cromatografia após queima; o pH foi medido em solução de Cloreto de Cálcio centimolar (SHOEMAKER-MCLEAN-PRATT). Fósforo, Cálcio, Magnésio e Potássio foram extraídos do solo por uma mistura de resina trocadora de cátions e ânions em meio aquoso após agitação de 16 horas. Os micronutrientes, como Zinco (Zn), Cobre (Cu) e Ferro (Fe) foram extraídos em solução DTPA (ácido dietilenotriaminopentácético), de acordo com

Glass & Orphan (2012) e determinados pelo método de espectrometria de absorção atômica por plasma utilizando equipamento MP-AES (Microwave Plasma - Atomic Emission Spectrometry), marca *Agilent* modelo 4200. Conforme descrito na introdução, micronutrientes podem ser limitantes para o consumo de CH₄ (HO et al., 2013).

4.3.10 Preparo dos Microcosmo

Para o preparo dos microcosmos, 300 mL de solo peneirado (ABNT 2 mm) foi acondicionado em frascos tipo reagente selados, com capacidade de 1 L e com portas de amostragem de gases.

De acordo com o resultado do ensaio de densidade aparente, foi calculada a massa necessária para obter-se um volume de 300 mL de solo conforme descrito a seguir:

$$D = \frac{m}{V}$$

Onde: D é a densidade aparente do solo, em g cm⁻³;

m é a massa, em g;

V é o volume, em mL.

Os microcosmos foram mantidos a temperatura de 25°C. Diariamente e após a coleta de gases, 1 mL de solução que simula os exsudatos na rizosfera (BAUDOIN et al., 2003) adaptada por van Zwieten et al., (2014) foram adicionados ao solo em todos os tratamentos para manter a respiração basal do solo. A solução risosférica foi constituída de 18,538 mmol L⁻¹ de glucose, 18,538 mmol L⁻¹ de frutose, 9,27 mmol L⁻¹ de sacarose, 4,634 mmol L⁻¹ de ácido cítrico, 9,27 mmol l⁻¹ L⁻¹ de ácido láctico, e 6,952 mmol L⁻¹ de ácido succínico.

A incubação dos experimentos foi realizada em frascos tipo reagente com capacidade de 1 L, com tampas adaptadas com sistema de amostragem, como mostra a Figura 24. As seringas utilizadas para a coleta de gases (Becton, Dickinson and Co., Franklin Lakes, NJ, EUA) foram adaptadas com uma válvula de torneira de quatro vias adicionado de tampa não ventilada (QOSINA, Nova Iorque, EUA).

A pré-incubação foi feita com condição de umidade ajustada para 40% WFPS, durante 7 dias. Após a pré-incubação, os frascos receberam o tratamento com e sem

N-(NH₄)₂SO₄. (o equivalente de 100kg N/ha), foram incubados por 10 dias a 25°C com iluminação natural. Todos os frascos receberam diariamente 5000 µg mL⁻¹ de carbono (solução rizosférica). A umidade foi corrigida diariamente. Todos os experimentos foram feitos em quadruplicata. **4.3 Coleta e Análise Dos Gases**

Diariamente, durante um período de 10 dias, foram coletadas amostras de gases dos frascos incubados para a determinação de CH₄, nos intervalos de tempo de 1; 30; 60 e 90 min. O procedimento de coleta de gás foi o mesmo para todos os experimentos.

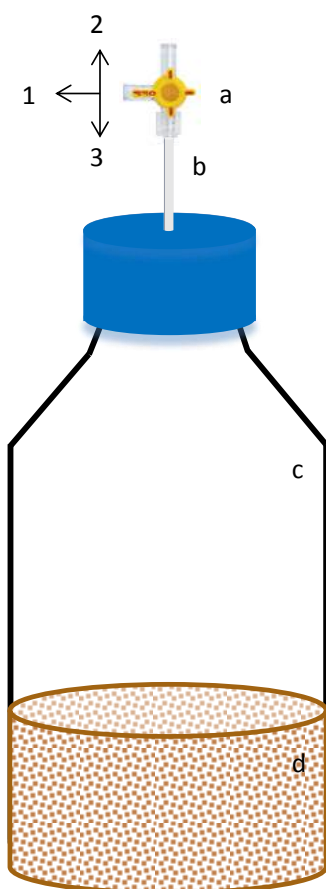


Figura 24– Frasco contendo uma válvula de torneira de 4 vias com 2 fechaduras fêmea e macho do tipo luer com bloqueio de rotação (QOSINA, NY, EUA) acoplada à um tubo Bev-A-Line® (LI-COR Biosciences, NE, EUA; P / N 8150-250) inserido na tampa do frasco.

Depois de fechar os frascos, o bloqueio da válvula foi mantido na posição 3; para coleta de amostras, o bloqueio da válvula foi colocado na posição 1; após a coleta da

amostra, foi rapidamente direcionado para a posição 2 e retornado para a posição 3 (Figura 3). Esta última etapa permite o equilíbrio da pressão de gás no interior do frasco.

As amostras de gás foram coletadas utilizando uma seringa de 20 mL e analisadas no mesmo dia por cromatografia gasosa com captura de elétrons para N₂O e por detecção de ionização de chama para o CO₂ e CH₄ utilizando um cromatógrafo GC 2014 Shimadzu, Kyoto, Japan, calibrado diariamente com padrões de N₂O, CH₄ e CO₂ em diferentes concentrações. O sistema foi equipado com uma coluna empacotada HayeSepTM N (1.5 m, 80-100 mesh) para a separação de N₂O; e com uma coluna empacotada ShimaliteTM Q (0,5 M, 100-180 mesh) para a separação de CH₄. Foram utilizados como gases de arraste hélio e nitrogênio.

Para calcular o fluxo de gases das 4 amostras, 20 mL de amostra foram recolhidas no intervalo de tempo de 1; 30; 60 e 90 min após o fechamento do frasco em cada amostra.

O fluxo de gás foi determinado de acordo com a equação abaixo:

$$\text{Fluxo} = \frac{\frac{\Delta GEE}{\Delta t} \times \text{n}^\circ \text{ moles de ar no interior do frasco}}{m_{\text{solo}}} \times MM_{\text{gás}} \times \frac{M_e \times n}{MM_{\text{gás}}} \times 24$$

Onde, o fluxo é expresso em $\mu\text{g kg solo}^{-1} \text{ dia}^{-1}$;

$\Delta GEE / \Delta t$ é a variação da concentração de cada GEE no interior do frasco, durante o tempo de coleta em que o frasco está fechado, em $\mu\text{mol mol}^{-1} \text{ h}^{-1}$;

m_{solo} é a massa de solo seco, em kg;

$MM_{\text{gás}}$ é a massa molecular do gás;

M_e é a massa atômica do elemento de interesse;

n é o número de elemento de interesse na molécula de gás;

24 é fator de conversão para dia.

4.4 Análise estatística

Para testar a hipótese que os solos sob vegetação nativa diferem no consumo de CH₄ dos solo sob manejo agrícola, foi proposto uma Análise de Variância (ANOVA). A mesma análise foi proposta para testar a hipótese que solo sob vegetação nativa tratados com N-(NH₄)₂SO₄ diferem no consumo de CH₄ dos solo sob vegetação nativa sem tratamento.

Para verificar como as propriedades físico-químicas dos solos se comportam, se relacionam ou influenciam o consumo de CH₄ no solo, foi proposto uma Teste de Correlação de Pearson no solos sob vegetação nativa sem tratamento com sulfato.

Para explorar e reduzir as dimensões multivariadas foi proposta um Análise de Redundância (RDA) no qual foram criados eixos de ordenação que melhor explicassem a química do solo em função do consumo de CH₄.

Por fim, uma análise de agrupamento foi proposta através de um Teste Tukey.

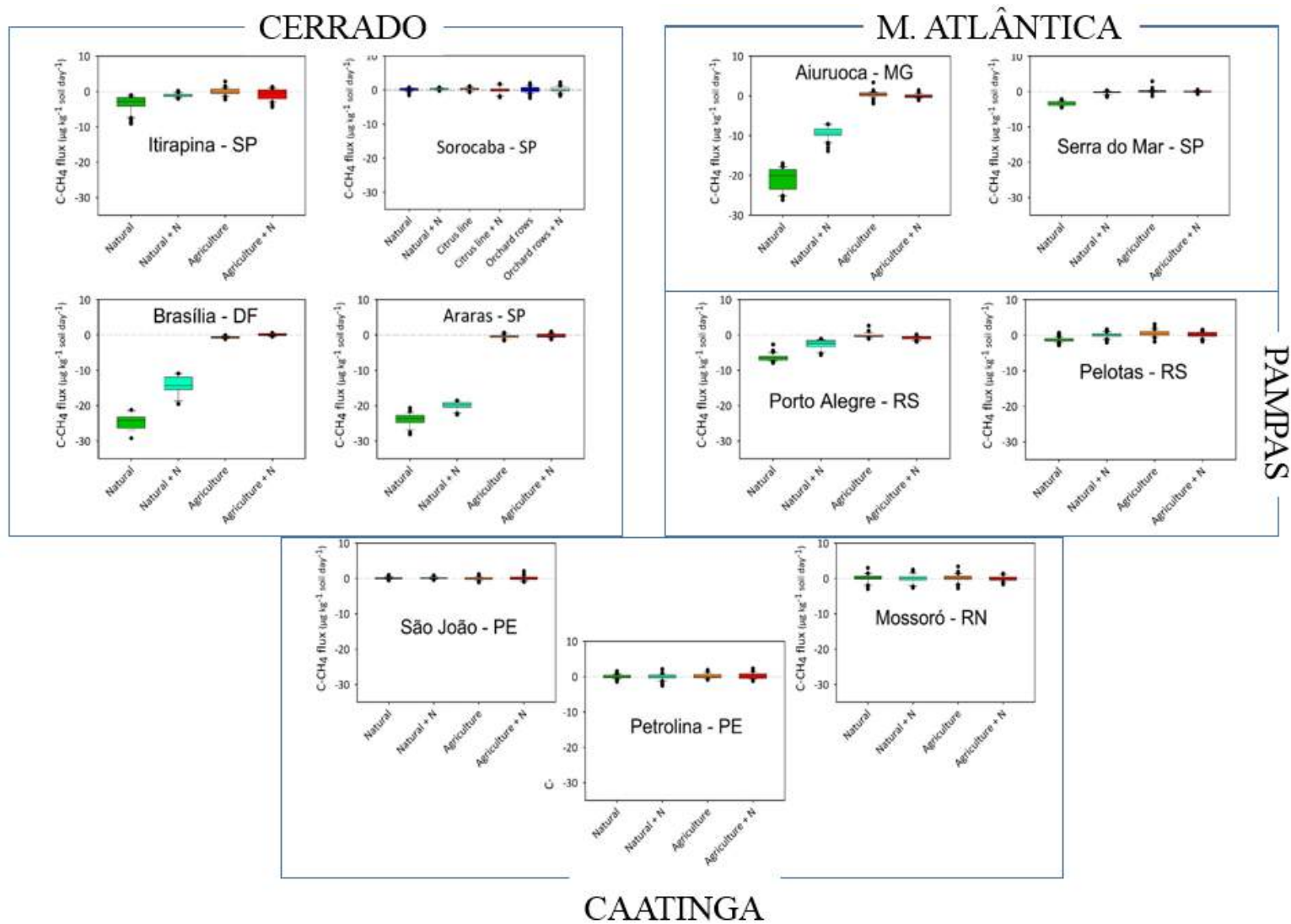
A ANOVA ,Teste de Correlação de Pearson e Teste Tukey foram feitos através do software Microsoft Excel acoplado a extensão XLSTAT para análises estatísticas.

A RDA foi feita através do software CANOCO 4.5 (ter BRAAK & SMILAUER 2002).

5. Resultados

5.1 Consumo de CH₄

Os fluxos médios de C-CH₄ são apresentados na Tabela 1. Verificou-se que solos de áreas adjacentes que inicialmente consumiam CH₄ perdem essa capacidade quando em condições de cultivo, independentemente do bioma que são provenientes e da cultura adotada. Por outro lado, os solos naturais (i.e. solos que não sofreram conversão para área agrícola) apresentam capacidade de consumo de CH₄ que varia de 0 μg C-CH₄ kg solo⁻¹ dia⁻¹ a 27,18 μg C-CH₄ kg solo⁻¹ dia⁻¹ (amostral de Araras-SP). As amostras de solos oriundos do Bioma Caatinga e o solo de Sorocaba não apresentaram capacidade de consumir CH₄ (Figura 25).



F Figura 25– Consumo de CH₄ por bioma nos amostrais de solo Natural e Agrícola com e sem adição de N- (NH₄)₂SO₄.

5.2 Efeito do Sulfato de Amônio no consumo de CH₄

Uma característica dos solos agrícolas é o fato que todos possuem um histórico de adubação no qual foi inserido N na forma de adubo orgânica ou inorgânico. Para testar se a adição de N foi significativa para interrupção do consumo de CH₄, foi proposto uma análise de variância (ANOVA) entre os solos naturais e os solos naturais com adição de N-(NH₄)₂SO₄. O resultado indica que há diferença significativa entre as variáveis ($p < 0,05$), indicando que a adição de N diminui significativamente o consumo de CH₄ no solo (Figura 26). No entanto, apesar de diminuir o consumo, os solos permanecem como sumidouros do gás após a adição do fertilizante nitrogenado (Tabela 2).

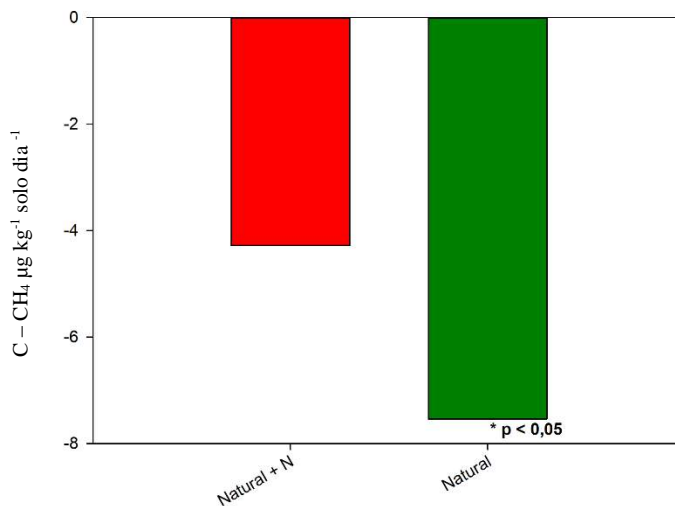


Figura 26 – Relação do consumo médio de CH₄ em solos naturais com e sem adição de N-(NH₄)₂SO₄. A significância na redução de consumo é $p < 0,05$ e o coeficiente de correlação sobre o efeito de redução de consumo na presença de N-(NH₄)₂SO₄ e $r^2 = 0,95$.

Os resultados apresentados na Tabela 2 e Figura 25, mostram o efeito da adição de fertilizante nitrogenado contendo amônio no consumo de CH₄. Verificou-se que há diminuição do consumo de CH₄ de forma significativa ($p < 0,0001$) quando adicionado N-(NH₄)₂SO₄ nos solos naturais, no entanto alguns solos são mais resistentes do que outros à adição do fertilizante. Posteriormente realizou-se teste de comparação de médias (Tukey) para avaliar o efeito da adição do fertilizante em cada solo. A perda de capacidade de consumir CH₄ variou de 16,87 a 100%. Os solos que apresentaram maior resistência ao uso do fertilizante são os solos de Araras, Brasília e Aiuruoca.

Tabela 1 – Consumo de CH₄, Química e Textura do Solo.

Sítio	Uso do solo	Fluxo de C-CH ₄ ($\mu\text{g kg solo}^{-1}\text{dia}^{-1}$)	pH	NH ₄ ⁺ (mg/kg)	NO ₃ ⁻ (mg/kg)	Areia (%)	argila (%)	silte (%)
Araras	Natural	-23,7 ± 0,5	6,1	7,5	24,6	31,2	52,5	16,3
	Agrícola	0,4 ± 0,2	4,7	5,5	2,7	44,7	47,8	7,5
Sorocaba	Natural	0,2 ± 0,1	6,4	1,0	49,9	34,3	53,4	12,3
	Agrícola	0,3 ± 0,1	5,0	1,4	9,2	51,9	35,5	12,7
Brasília	Natural	-24,0 ± 0,8	4,2	8,0	6,6	44,0	50,0	6,0
	Agrícola	-0,7 ± 0,1	5,0	8,8	21,7	48,6	43,1	8,3
Itirapina	Natural	-3,4 ± 0,6	3,9	6,4	1,7	90,8	7,4	1,8
	Agrícola	-0,2 ± 0,3	5,3	1,9	1,0	91,2	2,5	6,3
Porto Alegre	Natural	-6,5 ± 0,3	4,3	1,2	4,9	47,7	24,0	28,3
	Agrícola	-0,2 ± 0,1	4,4	7,1	9,0	47,4	23,8	28,7
Pelotas	Natural	-1,3 ± 0,2	4,1	2,2	0,7	83,2	8,8	8,0
	Agrícola	0,2 ± 0,2	5,8	1,4	1,4	87,7	6,7	5,6
São Luiz	Natural	-3,4 ± 0,1	3,8	4,9	41,0	64,2	24,1	11,7
	Agrícola	0,1 ± 0,1	6,2	0,9	16,4	66,5	17,5	15,9
Aiuuruoca	Natural	-20,5 ± 1,1	3,9	13,3	7,8	72,5	24,1	3,4
	Agrícola	0,2 ± 0,3	6,9	5,8	30,7	57,7	37,7	4,5
São João	Natural	1,3 ± 0,8	4,0	9,5	4,1	90,1	2,5	7,4
	Agrícola	0,1 ± 0,2	4,7	3,7	3,3	91,9	2,7	5,4
Petrolina	Natural	0,1 ± 0,2	4,5	0,5	10,1	80,0	7,7	12,3
	Agrícola	0,2 ± 0,2	6,4	0,3	23,6	88,8	4,7	6,5
Mossoró	Natural	0,2 ± 0,2	6,2	0,1	16,6	51,4	39,6	9,0
	Agrícola	0,1 ± 0,2	6,9	0,2	16,6	51,5	40,9	7,6

Tabela 2 – Consumo de CH₄ sem e com adição de N- (NH₄)₂SO₄ e efeito de inibição em solos naturais

Área		Fluxo de C-CH ₄ ($\mu\text{g kg solo}^{-1}\text{dia}^{-1}$)		%	P valor
<i>Sítio</i>	<i>Uso do solo</i>	<i>Natural</i>	<i>Natural + N</i>	<i>Inibição</i>	<i>Significância</i>
Araras	Natural	-23,7 ± 0,5*	-19,7±0,4	16,87	0,0001
	Agrícola	-0,4 ± 0,2	-0,2±0,2	-	-
Sorocaba	Natural	0,2 ± 0,1	0,3±0,1	-	-
	Agrícola	0,3 ± 0,1	0,0±0,4	-	-
Brasília	Natural	-24,0 ± 0,8	-14,0±0,7	41,66	0,0001
	Agrícola	-0,7 ± 0,1	0,0±0,1	-	-
Itirapina	Natural	-3,4 ± 0,6	-1,0±0,1	70,58	0,0001
	Agrícola	-0,2 ± 0,3	-2,6±0,4	-	-
Porto Alegre	Natural	-6,5 ± 0,3	-2,9±0,4	55,38	0,0001
	Agrícola	-0,2 ± 0,1	-0,7±0,1	-	-
Pelotas	Natural	-1,3 ± 0,2	0,0±0,2	100	0,07
	Agrícola	0,2 ± 0,2	0,2±0,2	-	-
São Luiz	Natural	-3,4 ± 0,1	-0,2±0,1	94,11	0,0001
	Agrícola	0,1 ± 0,1	0,0±0,1	-	-
Aiuruoca	Natural	-20,5 ± 1,1	-10,0±0,4	51,22	0,0001
	Agrícola	0,2 ± 0,3	0,1±0,2	-	-
São João	Natural	1,3 ± 0,8	0,2±0,2	-	-
	Agrícola	0,1 ± 0,2	0,1±0,2	-	-
Petrolina	Natural	0,1 ± 0,2	-0,1±0,3	-	-
	Agrícola	0,2 ± 0,2	-0,4±0,8	-	-
Mossoró	Natural	0,2 ± 0,2	0,2±0,2	-	-
	Agrícola	0,1 ± 0,2	0,1±0,2	-	-

A análise de redundância apresentou espaço de ordenação nos quais os dois primeiros eixos explicam quase metade da distribuição ilustrada na Figura 27. O fato de o dois eixos explicarem apenas 3% das ordenação da distribuição na análise de redundância pode ter ocorrido devido ao fato de estarmos tratando apenas uma variável ambiental (consumo de CH₄). Isso indica que o eixo nos quais são tratados as variáveis ambientais que compõem os atributos químicos e físicos solo têm a maior explicação da distribuição da ordenação apresentada na ilustração.

Um total de (soma dos eixos) 45,4% de toda a variação foi explicado pelos dois eixos da RDA (Figura 27). Os resultados da RDA, que foram feitos em função do consumo de CH₄, mostram que os amostrais de solo agrícola se organizam de maneira diferente dos solos naturais.

Os solo agrícolas e os amostrais de Sorocaba (nativo e agrícola), estão relacionados com fósforo (P), Potássio (K), Zinco (Z), Boro (B), Nitrato (NO₃⁻) e pH;

Os solos do bioma Caatinga estão relacionados com teor de areia, sódio (Na) e Amônio (NH₄⁺), os solos das áreas naturais do Pampas, Itirapina (cerrado) e São Luiz do Paraitinga (Serra do Mar - mata Atlântica) estão relacionados com teor de silte e concentração final de NH₄⁺ (baixa nitrificação);

Os solos naturais de Araras (Ecótono Cerrado/ Mata Atlântica), Aiuruoca (Mata Atlântica) e Brasília (Cerrado) estão relacionados com Ferro (Fe), Alumínio (Al), Matéria Orgânica (MO), NH₄⁺, Nitrogênio (N), Carbono (C), argila e Manganês (Mn).

A imagem permite que observemos três grupos bem definidos: amostrais de solos que não consomem CH₄, amostrais de solo com consumo intermediário (dentro da faixa 27,18 – 0,00 µg C-CH₄ kg solo⁻¹dia⁻¹) e amostrais que são bons consumidores de CH₄. Esse grupos são comprovados pelo teste de Tukey (Figura 29)

O amostral que não consome CH₄ se agrupou com os solos agrícolas e o solos naturais provenientes do bioma Caatinga e região de Sorocaba-SP.

O amostral com consumo intermediário CH₄ ($\bar{X} = -3,83 \mu\text{g Kg}^{-1} \text{ solo dia}^{-1}$) se agrupou com os solos provenientes da região de São Luiz do Paraitinga – SP, Itirapina – SP, Porto Alegre – RS e Pelotas – RS. Além de ser um grupo que consome pouco CH₄. Outra característica comum que une o grupo é o alto teor de areia na composição da textura.

O amostral que apresenta maior consumo de CH₄ ($\bar{X} = -22,69 \mu\text{g Kg}^{-1} \text{ solo dia}^{-1}$) se agrupou com os solos provenientes da região de Brasília – DF, Araras-SP e Aiuruoca-MG. Além de possuírem a característica de serem grandes consumidores de CH₄, outra atributo que une este grupo é o fato de serem resistentes a adição de N-(NH₄)₂SO₄. Este resultado demonstra que mesmo após a comunidade metanotrófica ser exposta a alta concentração de NH₄⁺, o consumo de CH₄ não foi interrompido.

Ainda interpretando a ilustração (figura 27), podemos observar que os amostrais de solos agrícolas se distribuem de maneira distintas dos amostrais proveniente de áreas naturais sob o critério de consumo CH₄ e química do solo. Destacando que os agrupamentos formados tiveram forte influência das características físicas e químicas locais do solo, ou seja, independe do bioma que é proveniente.

5.4 Efeito da mudança do uso da terra sobre o consumo de CH₄

Testamos se há diferença significativa entre os amostrais de solos agrícolas e solos naturais com análise de variância entre os dois grupos (ANOVA). O resultado informou que há diferença significativa ($p < 0,05$) entre a variância do conjunto de dados dos solos naturais e dos solos agrícolas. Como os solos agrícolas pertencem ao grupo que não consomem CH₄ e se divergem significativamente com os solos naturais, podemos interpretar que a mudança do uso do solo seja um dos fatores que contribuam para a interrupção do consumo de CH₄ (Figura 28).

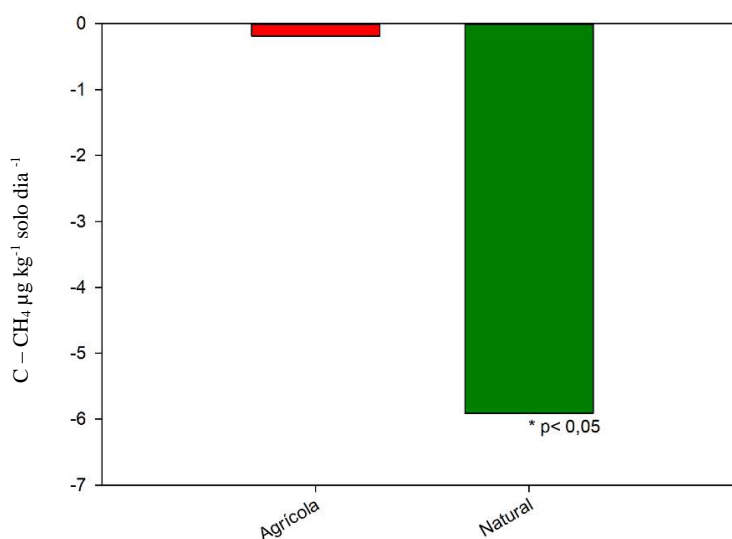


Figura 28 – Relação do consumo médio de CH₄ entre os solos agrícolas e o solos naturais

Em média, os solos agrícolas não consomem CH₄ e os solos naturais consomem o valor médio entre 6,0 (considerando os representantes do bioma caatinga e Sorocaba-SP) a 9,37 6 μg Kg⁻¹ solo dia⁻¹ (desconsiderando os amostrais naturais que não consomem CH₄).

Os amostrais que consomem CH₄ são referidos como solos que apresentam metanotrofia, são solos naturais e divergem dos conjuntos de solos agrícolas, dos representantes da caatinga e do amostral observado em Sorocaba-SP. Por isso, foi proposto um teste univariável (Tukey) entre as amostras de solos naturais para observar como se o agrupamento resultante (Figura 29) condiz com o observado pela análise RDA (Figura 27). Com significância p < 0,05, os solos naturais se agrupam da seguinte maneira:

A (Mossoró – RN, Petrolina – PE, São João - PE, Sorocaba-SP e Pelotas –RS); B (Itirapina –SP, São Luiz do Paraitinga –SP); C (Porto Alegre – RS); D (Aiuruoca –MG); E (Araras – SP, Brasília – DF)

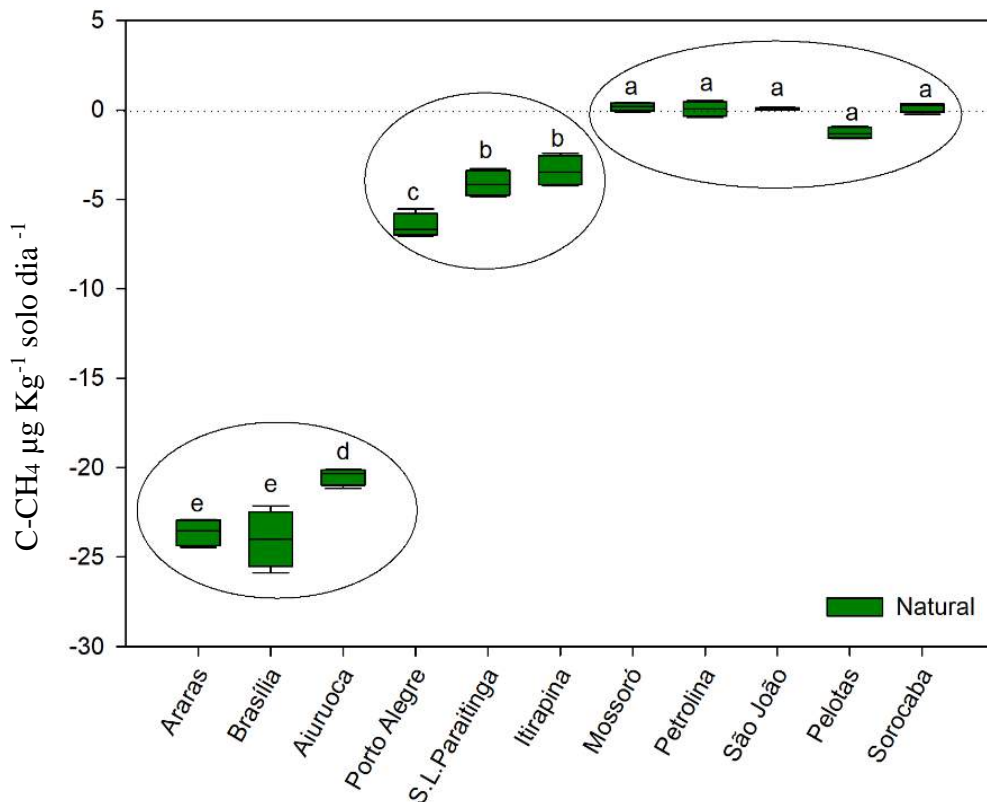


Figura 29 – Ilustração do resultado do teste de Tukey que separa os resultados de consumo de CH₄ em grupos por diferença significativa entre a variância dos dados.

O resultado do teste Tukey corroboram com os resultados apresentados na Figura 27, onde os maiores consumidores de CH₄ se agrupam em um arranjo distinto dos amostrais de consumo intermediário e os que não consomem CH₄. Ainda na figura 27, podemos observar que o consumo de CH₄ está relacionado com atributos químicos e por isso fizemos um teste de correlação (Figura 30).

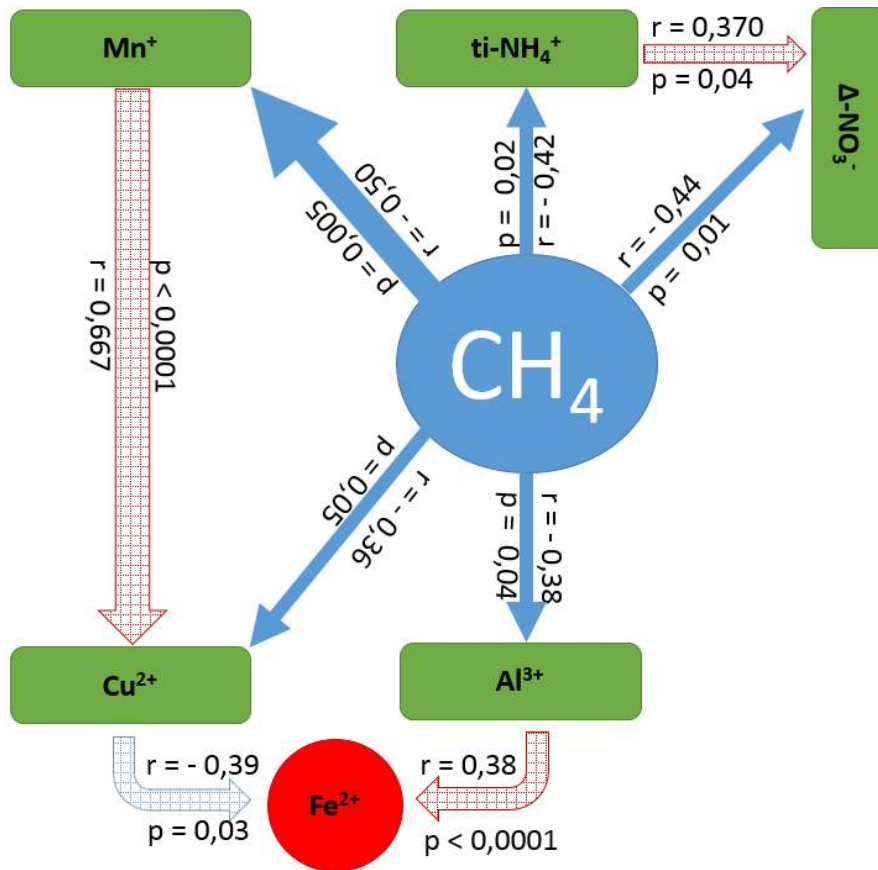


Figura 30 – Correlação entre os fatores químicos e o fluxo de CH₄. r = correlação de Person entre as variáveis; p = nível de significância. A espessura das setas representam a intensidade de correlação (forte ou fraca), as cores das setas são coerentes com a polaridade da correlação (positiva ou negativa), setas tracejadas não estão relacionadas diretamente com o fluxo de CH₄.

O diagrama da Figura 30 reduziu o campo aos parâmetros mais importantes relacionados ao consumo de CH₄, demonstrando que cinco atributos químicos se mostraram significativamente relacionados com o consumo de CH₄. Neste trabalho, observamos que os fatores químicos manganês (Mn), NH₄⁺, NO₃⁻, Cu²⁺, Alumínio (Al³⁺) estão negativamente correlacionados com os padrões observados no consumo de CH₄

(Figura 29) e sódio (Na^+) está positivamente correlacionado ($r = 0,402$; $p = 0,03$) com os padrões de emissão de CH_4 . Somente os amostrais provenientes do bioma da caatinga foi encontrado Na^+ , estes amostrais, além de não consumirem CH_4 , em determinados momentos emitiram CH_4 , apresentando uma média positiva em relação ao fluxo. Desta maneira, podemos interpretar que Na^+ está correlacionado (positivamente) com a emissão de CH_4 e quanto maior a quantidade de Na^+ , maior é a concentração de CH_4 .

6. Discussão

6.1 Fatores que interferiram no consumo de CH₄

Os resultados deste estudo demonstraram que o consumo de metano (que é realizado exclusivamente por microrganismos metanotróficos) está mais relacionado com características físicas e químicas do solo, assim como o uso e ocupação (Figura 30). Entende-se que quando há uso agrícola, por exemplo, o solo é movimentado, inserem nutrientes, há alteração química como correção do pH e pode haver alteração física como compactação do solo que diminui a densidade e a capacidade do solo de absorver água. Todos estes fatores são variáveis consideradas neste trabalho.

6.2 Limitantes para o consumo de CH₄

Sabendo que crescimento populacional dos microrganismos do grupo MOB (metanotrofia) é inibido pela disponibilidade de N-NH₃ e N-NH₄, esperava-se que a principal causa da ausência de consumo de CH₄ em solos agrícolas, hipótese desse trabalho, seria a adição de fertilizante nitrogenado. Para tanto, os solos coletados de áreas nativas foram submetidos a adição do fertilizante. Embora a diminuição do consumo de CH₄ pelo efeito da adição de fertilizante nitrogenado seja significativa ($p < 0,05$), não verificou-se a interrupção do consumo de CH₄ como ocorreram com os amostrais dos solos agrícolas. A maioria dos solos naturais continuam executando o seu serviço ecossistêmico como dreno deste gás (Figura 25), indicando que a adição de nitrogênio na forma de fertilizante pode não ser o principal causador da inabilidade do solo como consumidor de CH₄.

Um resultado que corrobora para o efeito secundário da adição de NH₄⁺ sobre o consumo de CH₄ foi obtido na análise de correlação para avaliar quais parâmetros estariam correlacionados com o consumo de CH₄ em solos nativos. Os resultados, representados na Figura 30, demonstram que o maior consumo de CH₄ foi verificado nos solos com maior teor inicial de NH₄ e que também apresentaram o maior teor final de NO₃⁻, que indicaria o potencial de nitrificação do solo. Desta forma, esses resultados indicam que em condições naturais de nitrificação e consumo de CH₄ são nichos ecológicos que ocorrem simultaneamente e não competiriam.

- *Cobre*

De fato, é relatado na literatura que há relação de alguns metais com o metabolismo de microorganismos metanotróficos (GLASS & ORPHAN 2012). A atividade enzimática microbiana é intermediada por co-fatores que frequentemente contêm metais e as atividades enzimáticas são especificamente relacionadas com Cu e Fe. Estes metais estão presentes em estruturas importantes para que ocorra metanotrofia por via aeróbica e anaeróbica, como por exemplo, nas enzimas metano monooxigenase (MMO), metano monooxigenase particulado (pMMO) (MURRELL et al. 2000; HAKEMIAN & ROSENZWEIN et al. 2007) e em gene que envolve nitrato-redutase dependente de CH₄ (MEDINETS et al. 2015).

Embora Fe⁺² não tenha demonstrado correlação significativa com consumo de CH₄, há correlação (r = -0,399) significativa (p < 0,03) entre Cu⁺² e Fe⁺², ambos metais importantes para que ocorra metanotrofia e redução de NH₄⁺ até NO₃⁻.

- *Manganês*

A partir dos resultados obtidos foi observado que além da correlação do consumo de CH₄ com Cu⁺², há uma forte relação (p < 0,0001) do consumo de CH₄ com Mn. De acordo com Szpuna (2005), após Fe e Ni, o metal mais importante para metanotrofia é o Mn. Todavia, com nossa metodologia não podemos afirmar que esta relação é diretamente relacionada atividade enzimática, pois nos experimentos não foram feitas análises moleculares ou bioquímicas. No entanto, é possível inferir sobre a relação com atividade metanotrófica, já que apenas microorganismos metanotróficos são capazes de consumir CH₄, e conseqüentemente, envolve estruturas moleculares dependente de metais (eg. MMO e pMMO).

- *Amônio e Nitrato*

A maioria dos desnitrificadores são microorganismos aeróbicos facultativos, que na ausência de O₂ utilizam NO⁻ como receptor de elétrons (FELGATE *et al.*, 2012). O processo biológico para atividade redox (redução de NO⁺ para NO⁻) envolve Fe⁺² e Mn⁺ (MEDINETS *et al.*, 2015). Por outro lado, o grupo AOB, que oxida NH₄⁺, necessita de Cu²⁺ e Fe⁺² como cofator enzimático para executar este processo e por fim ocorrer crescimento celular e ganho energético (MURRELL *et al.*, 2000; GLASS & ORPHAN

2012). Os resultados deste estudo demonstraram que o consumo de CH₄ possui correlação negativa significativa com as concentrações de NH₄⁺ inicial do experimento [a forma de (NH₄)₂SO₄; (p < 0,02)] e correlação negativa significativa com o aumento das concentrações de NO₃⁻ no final do experimento (Figura 30). O aumento de NO₃⁻ na fase final do experimento demonstra que ocorreu nitrificação, processo que envolve Cu⁺² (como co-fator) e NH₄⁺ resultando em NO₃⁻, que por sua vez, necessita de Fe⁺² para ser reduzida de NO₂⁻ (Nitrito) (MEDINETTS *et al.*, 2015). Assim, as correlações entre NH₄⁺, NO₃⁻ e CH₄ são negativas, indicando que o consumo de CH₄ não foi favorecido pela adição de N.

A interferência de N na metanotrofia observada em nosso resultado corrobora com a hipótese proposta inicialmente no trabalho: A adição de N-(NH₄)₂SO₄ reduz o consumo de CH₄, diminui o potencial de consumo de CH₄ em solos naturais e interrompe o consumo em solos agrícolas, destacando uma necessidade para um manejo sustentável sob a necessidade de fazer a manutenção do serviço ecossistêmicos executados pelos microrganismos dos solos drenados, no qual convertem CH₄ em compostos que possuem menor interferência no ambiente, como o CO₂ e H₂O.

- *Salinidade e presença de Sódio*

Não se sabe ao certo o efeito o sódio no metabolismo de oxidação de CH₄, entende-se que é um importante cofator para obtenção de energia e está presente na forma de NAD e NADH, todavia, a disponibilidade de Na⁺ não interfere no processo de oxidação de CH₄ em nível molecular (ALVAREZ-COHEN & McCARTY, 1991). Por outro lado, a salinidade é uma ameaça para as comunidades microbianas, pois restringe a capacidade metabólica dos microrganismos a biodegradação, o que tende a reduzir a atividade microbiana no solo (PEREIRA *et al.*, 2004; FREITAS, 2016). O sódio tem potencial de salinizar o solo e, como consequência da salinidade, ocorre diminuição da biomassa de microrganismos e baixa atividade enzimática (PEREIRA *et al.*, 2004).

A salinidade pode explicar outras relações observadas neste trabalho, os solos agrícolas, assim como os solos salinizados naturalmente com sódio provenientes do bioma da caatinga, não apresentam consumo de CH₄. Os fertilizantes inorgânicos, comumente aplicados no manejo agrícola, possuem em sua composição sais como sulfato de Mg, Zn, Mn, Cu e Co, que pode acarretar na salinização do solo, perda da diversidade e interrupção da metanotrofia (PEREIRA *et al.*, 2004).

Pereira *et al.*, (2004) observaram que a biomassa de microrganismos em áreas cultivadas era menor que a biomassa em áreas nativas, o que indica que a atividade microbiana em solo agrícola é menor. Por esta razão, acredita-se que a salinização do solo seja uma possível explicação para a maioria dos solos testados que não consumiram CH₄.

7. Conclusão

Solos naturais consomem CH_4 , desempenhando a função de drenar o acúmulo do gás da superfície terrestre. A adição de $\text{N}-(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ diminuiu a capacidade de consumo de CH_4 dos solos naturais. Embora a hipótese inicial tenha sido que a adição de $\text{N}-(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ interromperia o consumo de CH_4 , verificamos que, apesar de não interromper, a adição de $\text{N}-(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ diminuiu de forma significativa a função do solo em consumir o gás.

Os solos naturais que apresentaram salinidade não consumiram CH_4 . A salinidade restringe a capacidade metabólica dos microrganismos a biodegradação, o que tende a reduzir a atividade microbiana no solo. Este fator justifica a ausência de metanotrofia em solos salinizados, como é o caso das áreas de Mossoró-RN, São João – PE e Petrolina-PE.

Observamos que nenhum solo de área cultivada consumiu CH_4 de forma significativa. Em alguns casos houve inclusive emissão de CH_4 . No uso agrícola, além da adição de N, o solo é movimentado, sofre correção do pH e são inseridos nutrientes/minerais que podem ser tóxicos para grupos metanotróficos ou favorecer nichos específicos para outras comunidades de microrganismos (eg. nitrificantes). A depleção ou deslocamento dos microrganismos metanotróficos justificaria a ausência de metanotrofia nessas áreas.

A adição de $\text{N}-(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ não foi o fator determinante para que o solo perca a capacidade de drenar o gás, indicando que a mudança do uso da terra (para uso agrícola) seja a razão pelo qual o solo deixe de desempenhar o serviço ambiental de converter CH_4 para CO_2 e H_2O .

8. Referências

- ALVAREZ-COHEN, L., & MCCARTY, P. L. Effects of toxicity, aeration, and reductant supply on trichloroethylene transformation by a mixed methanotrophic culture. **Applied and environmental microbiology**, 57(1), 228-235, 1991.
- ALVES, S. D. S., LUPATINI, M., SULEIMAN, A. K. A., JACQUES, R. J. S., & ROESCH, L. F. W. Mudanças Do Uso Do Solo Alteram A Estrutura Das Comunidades De Archaeas No Bioma Pampa. Anais do Salão Internacional de Ensino, **Pesquisa e Extensão**, v. 3, n. 2, 2011.
- ANDERSON, L. O., ROJAS, E. H. M., & SHIMABUKURO, Y. E. Avanço da soja sobre os ecossistemas cerrado e floresta no Estado do Mato Grosso. **Simpósio Brasileiro de Sensoriamento Remoto**, v. 11, p. 19-25, 2003.
- BALASUBRAMANIAN, R., SMITH, S. M., RAWAT, S., YATSUNYK, L. A., STEMMLER, T. L., & ROSENZWEIG, A. C. Oxidation of methane by a biological dicopper centre. **Nature**, 465(7294), 115-119, 2010.
- BAUDOIN, E., BENIZRI, E., GUCKERT, A. Impact of artificial root exudates on the bacterial community structure in bulk soil and maize rhizosphere. **Soil Biol. Biochem**, v. 35, p. 1183-1192, 2013.
- BAYER, C., GOMES, J., VIEIRA, F. C. B., ZANATTA, J. A., de Cássia Piccolo, M., & Dieckow, J. Oxidação de metano em solo a longo prazo sob plantio direto no Sul do Brasil. **Semina: Ciências Agrárias**, 34(4), 1695-1706, 2013.
- BENDER, M., and R. CONRAD. Kinetics of CH₄ oxidation in oxic soils exposed to ambient air or high CH₄ mixing ratios. **Fems Microbiology Ecology** 101:261-270, 1992.
- BERNARDES, C., & SOUSA JÚNIOR, W. C. Pagamento por serviços ambientais: experiências brasileiras relacionadas à água. **ENCONTRO NACIONAL DA ANPPAS**, v.5, p. 4-7, 2010.

BODEGOM, P. et al. Methane oxidation and the competition for oxygen in the rice rhizosphere. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, DC, v. 67, n. 8, p. 3586-3597, 2001.

BODELIER, P. L. E., M. MEIMA-FRANKE, C. A. HORDIJK, A. K. STEENBERGH, M. M. HEFTING, L. BODROSSY, M. VON BERGEN, AND J. SEIFERT. Microbial minorities modulate methane consumption through niche partitioning. **Isme Journal** , v. 7, p. 2214-2228, 2003.

BOECKX, P., VAN CLEEMPUT, O., VILLARALVO, I. Methane oxidation in soils with different textures and land use. **Nutrient Cycling in Agroecosystems** v. 49, p. 91-95, 1997.

BUSTAMANTE, M. M. C., KELLER, M., & SILVA, D. A. (2009). Fontes e Sumidouros de Gases Traço na Amazônia e Cerrado. **Amazonia and Global Change Geophysical Monograph Series** 186.

CAMARGO, O.A.; MONIZ, A.C.; JORGE, J.A.; VALADARES, J.M.A.S. Métodos de Análise Química, Mineralógica e Física de Solos do Instituto Agronômico de Campinas. Campinas, Instituto Agronômico, 2009. 77 p. (Boletim técnico, 106, Edição revista e atualizada).

CARMO, J. B; SOUSA-NETO, E. R; DUARTE-NETO, P.J.; OMETTO, J.P.H.B.; MERTINELLI, L.A. Conversion of the coastal Atlantic forest to pasture: Consequences for the nitrogen cycle and soil greenhouse gas emissions. **Agriculture, Ecosystems e Environment**, v. 148, p. 37-43, 2012.

CASER, D. V., CAMARGO, A. M. M. P.; BUENO, C. R. F; CAMARGO, F. P.; ANGELO, J. A.; OLIVETTE, M. P. D. A e FRANCISCO, V. L. F. S. Previsões e Estimativas das Safras Agrícolas do Estado de São Paulo, Ano Agrícola 2011/12, 4º Levantamento, Abril de 2012. **Análises e Indicadores do Agronegócio**, 2012.

CURRY, C. L. Modeling the soil consumption of atmospheric methane at the global scale. **Global Biogeochemical Cycles**, 21(4), 2007.

DAM, B., S. DAM, Y. KIM, AND W. LIESACK. (2014). Ammonium induces differential expression of methane and nitrogen metabolism-related genes in *Methylocystis* sp strain SC2. **Environmental Microbiology** 16:3115-3127.

EMBRAPA MILHO E SORGO. Sistema de Produção, ISSN 1679-012X Versão Eletrônica - 6ª edição. Set. 2010. Disponível em <http://www.cnpms.embrapa.br/publicacoes/milho_6_ed/glossario.htm> Acesso em 02/02/2016.

EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Solos (Rio de Janeiro, RJ). Sistema brasileiro de classificação de solos. 2. ed. – Rio de Janeiro :EMBRAPA-SPI, p.306, 2006.

EVANGELISTA, A. D. R. S. O processo de desmatamento do bioma caatinga: riscos e vulnerabilidades socioambientais no território de identidade do sisal, Bahia. **Revista Geográfica de América Central**, 2(47), 2011.

FEARNSIDE, PHILIP M. Desmatamento na Amazônia: dinâmica, impactos e controle. **Acta Amazônica**, 36 (3), 395-400, 2006.

FELGATE, H., GIANNOPOULOS, G., SULLIVAN, M. J., GATES, A. J., CLARKE, T. A., BAGGS, E. & RICHARDSON, D. J. The impact of copper, nitrate and carbon status on the emission of nitrous oxide by two species of bacteria with biochemically distinct denitrification pathways. **Environmental microbiology**, 14(7), 1788-1800, 2012.

FREITAS, F. C. D. M. (2016). Atividade microbiana em função da salinidade do solo. Dissertação de Mestrado. UFERSA, Mossoró-RN, 2016.

GLASS, J. B., & ORPHAN, V. J. Trace metal requirements for microbial enzymes involved in the production and consumption of methane and nitrous oxide. **Frontiers in Microbiology**, 3, 2012.

HAKEMIAN, A. S., & ROSENZWEIG, A. C. The biochemistry of methane oxidation. **Annu. Rev. Biochem.**, 76, 223-241.7, 2007.

HILGER, H. ET HUMER, M. "Biotic Landfill Cover Treatments for Mitigating Methane Emissions," *Environmental Monitoring and Assessment*, Vol. 84, No. 1, pp 71-84, 2003.

HO, A., LÜKE, C., REIM, A., FRENZEL, P. Selective stimulation in a natural community of methane oxidizing bacteria: Effects of copper on pmoA transcription and activity. *Soil Biology and Biochemistry* 65, 211-216, 2013.

HOLMES, AJ; ROSLEV, P; MCDONALD, IR; IVERSEN, N; HENRIKSEN, K; MURRELL, JC (1999). "Characterization of methanotrophic bacterial populations in soils showing atmospheric methane uptake". **Applied and environmental microbiology** 65 (8): 3312–8. PMC 91497. PMID 10427012, 1999.

HOOPER, D. U.; BIGNELL, D. E.; BROWN, V. K.; BRUSSAARD, L.; DANGERFIELD, J. M.; WALL, D. H.; WARDLE, D. A.; COLEMAN, D. C.; GILLER, K. E.; LAVELLE, P.; PUTTEN, W. H. V. D. ; RUITER, P. C. D.; RUSEK, J.; SILVER, W. L.; TIEDJE, J. M.; WOLTERS, V. Interactions between aboveground and belowground biodiversity in terrestrial ecosystems: patterns, mechanisms, and feedbacks. **Bioscience**, v. 50, n. 12, p. 1049-1060, 2000.

HUBER-HUMER, M., J. GEBERT, H. HILGER. "Biotic systems to mitigate landfill methane emissions," **Waste Management Research**, Vol. 26, No. 1, pp 33-46, 2008.

IBAMA. Instituto Brasileiro do Meio Ambiente (2015). **Projeto de Monitoramento do Desmatamento do Biomas Brasileiros por Satélite - PMDBBS**. Disponível em <http://siscom.ibama.gov.br/>

IPCC (INTERGOVERNMENTAL PANEL ON CLIMATE CHANGE) (2001): Third Assessment Report, Climate Change 2001. **Intergovernmental Panel on Climate Change**, Geneva, Suíça.

IPCC (INTERGOVERNMENTAL PANEL ON CLIMATE CHANGE) (2006). Guidelines for National Greenhouse Gas Inventories, **Prepared by the National Greenhouse Gas Inventories Programme**. Japão: IGES, 2006.

IPCC (INTERGOVERNMENTAL PANEL ON CLIMATE CHANGE). (2013): Summary for Policymakers. In: Climate Change 2013: The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change [Stocker, T.F., D. Qin, G.-K. Plattner, M. Tignor, S. K. Allen, J. Boschung, A. Nauels, Y. Xia, V. Bex and P.M. Midgley (eds.)]. **Cambridge University Press**, Cambridge, United Kingdom and New York, NY, USA, 2013.

IPCC. (INTERGOVERNMENTAL PANEL ON CLIMATE CHANGE) (2007): The physical science basis, contribution of working group I to the fourth assessment report of the IPCC. Cambridge: University Press, 2007.

JONES, R. D., AND R. Y. MORITA.. Methane oxidation by *Nitrosococcus oceanus* and *Nitrosomonas europaea*. **Applied and Environmental Microbiology** 45:401-410, 1983.

KELLER, M., GOREAU, T. J., WOFSY, S. C., KAPLAN, W. A., & MCELROY, M. B. Production of nitrous oxide and consumption of methane by forest soils. **Geophysical Research Letters**, 10(12), 1156-1159, 1983.

KIRSCHKE, S., BOUSQUET, P., CIAIS, P., SAUNOIS, M., CANADELL, J. G., DLUGOKENCKY, E. J.,& CAMERON-SMITH, P. Three decades of global methane sources and sinks. **Nature Geoscience**, 6(10), 813, 2013.

KOLBERG M, STRAND KR, GRAFF P &ANDERSSON K K. Structure, function, and mechanism of ribonucleotide reductases. **Biochim Biophys Acta** 1699: 1–34, 2004.

LAUBER, C. L., K. S. RAMIREZ, Z. AANDERUD, J. LENNON, AND N. FIERER. Temporal variability in soil microbial communities across land-use types. **Isme Journal** 7:1641-1650, 2013.

MACEDO, I. C., J. E. A. SEABRA, AND J. E. A. R. SILVA. 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 & Bioenergy** 32:582-595, 2008.

MALYAN, S.K. et al. Methane production, oxidation and mitigation: a mechanistic understanding and comprehensive evaluation of influencing factors. **Science of The Total Environment**, Amsterdam, v. 572, p. 874-896, 2016.

MANFREDINI, F. N., GUANDIQUE, M. E. G., & DE MORAIS, L. C. Análise do Programa “Produtor de Águas”: no contexto dos projetos de Pagamentos por Serviços Ambientais (PSA) implementados no Brasil. **Revibec: revista iberoamericana de economía ecológica**, (23) 47-62, 2014.

MARTINELLI, L. A., AND S. FILOSO (2008). Expansion of sugarcane ethanol production in Brazil: Environmental and social challenges. **Ecological Applications** 18:885-898, 2008.

MARTINY, A. C., K. TRESEDER, AND G. PUSCH. Phylogenetic conservatism of functional traits in microorganisms. **Isme Journal** 7:830-838, 2013.

- MEDINETS, S., SKIBA, U., RENNENBERG, H., & BUTTERBACH-BAHL, K. A review of soil NO transformation: associated processes and possible physiological significance on organisms. **Soil Biology and Biochemistry**, 80, 92-117, 2015.
- MELLO, F.F.C., CERRI, 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 Clim. Change** 4, 605-609, 2014.
- MILLENNIUM ECOSYSTEM ASSESSMENT. ECOSYSTEMS AND HUMAN Well-Being: Biodiversity Synthesis, Published by **World Resources Institute**, Washington, DC, 2005.
- MURRELL, J. C., GILBERT, B., & MCDONALD, I. R. Molecular biology and regulation of methane monooxygenase. **Archives of Microbiology**, 173(5), 325-332, 2000.
- NICODEMO, M.L.F. Uso de Biomassa Microbiana para Avaliação da qualidade de solo em Sistemas Silvopastoris. **Embrapa Pecuária Sudeste**. (1) 11-12, 2009.
- NISBET, E. G., DLUGOKENCKY, E. J., & BOUSQUET, P. Methane on the rise—again. **Science**, v. 343, n. 6170, p. 493-495, 2014.
- OREMLAND, R. S.; CULBERTSON, C. W. "Importance of methane-oxidizing bacteria in the methane budget as revealed by the use of a specific inhibitor". **Nature**, v. 356, n. 6368, 1992.
- PEREIRA, S. V., MARTINEZ, C. R., PORTO, E. R., OLIVEIRA, B. R. B., & MAIA, L. C. Atividade microbiana em solo do Semi-Árido sob cultivo de *Atriplex nummularia*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 39(8), 757-762, 2004.
- PESTER, M., N. BITTNER, P. DEEVONG, M. WAGNER, AND A. LOY. A 'rare biosphere' microorganism contributes to sulfate reduction in a peatland. **Isme Journal** 4:1591-1602, 2010.
- PITOMBO, L. M., CANTARELLA, H., PACKER, A. P. C., RAMOS, N. P., & CARMO, J. B. Straw preservation reduced total N₂O emissions from a sugarcane field. **Soil Use and Management**, 33(4), 583-594, 2017.
- POWLSON, D.S., GOULDING, K.W.T., WILLISON, T.W., WEBSTER, C.P., HÜTSCH, B.W. The effect of agriculture on methane oxidation in soil. **Nutrient Cycling in Agroecosystems** 49, 59-70, 1997.

ROSLEV, P., IVERSEN, N., & HENRIKSEN, K. A. J. Oxidation and assimilation of atmospheric methane by soil methane oxidizers. **Applied and Environmental Microbiology**, 63(3), 874-880, 1997.

SANTOS, P. S., & EPIPHANIO, J. C. N. Avaliação histórica da expansão agrícola sobre o Cerrado no município de Luís Eduardo Magalhães, Bahia. Anais In: **Simpósio Brasileiro de Sensoriamento Remoto**, 19, 6181-6188, 2009.

SCOTT D, BRANNAN J & HIGGINS I. The effect of growth conditions on intracytoplasmic membranes and methane monooxygenase activities in *Methylosinus trichosporium* OB3b. *J Gen Microbiol* 125: 63–72, 1981.

SEMRAU, J. D., DISPIRITO, A. A., & YOON, S. Methanotrophs and copper. **FEMS Microbiology Reviews**, 34(4), 496-531, 2010.

SHOEMAKER, H. E.; MCLEAN, E. O.; PRATT, P. F. Buffer Methods for Determining Lime Requirement of Soils With Appreciable Amounts of Extractable Aluminum 1. **Soil Science Society of America Journal**, v. 25, n. 4, p. 274-277, 1961.

SILVA, D. J., BASSOI, L. H., ROCHA, M. G. D., SILVA, A. O. D., & DEON, M. D. I. Organic and Nitrogen Fertilization of Soil under ‘Syrah’ Grapevine: Effects on Soil Chemical Properties and Nitrate Concentration. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, 40, 2016.

SILVA, M. D. Os cultivos florestais do pampa, no sul do Rio Grande do Sul: desafios, perdas e perspectivas frente ao avanço de novas fronteiras agrícolas. **Floresta**, 42(1), 215-226, 2012.

STANLEY SH, PRIOR SD, LEAK DJ & DALTON H. Copper stress underlies the fundamental change in intracellular location of methane monooxygenase in methane-oxidizing organisms: studies in batch and continuous cultures. **Biotechnol Lett.** 5:487–492, 1983.

SU, Y., KONG, J. Y., ZHANG, X., XIA, F. F., & HE, R. Copper in methane oxidation: a review. *Ying yong sheng tai xue bao: The Journal of Applied Ecology*, 25(4), 1221-1230, 2014.

ter Braak CJF, Smilauer P (2002) CANOCO reference manual and CanoDraw for windows user's guide: software for canonical community ordination (version 4.5). Microcomputer Power, Ithaca. www.canoco.com

van-Zwieten, L., Singh, B. P., Kimber, S. W. L., Murphy, D. V., Macdonald, L. M., Rust, J., & Morris, S. (2014). An incubation study investigating the mechanisms that impact N₂O flux from soil following biochar application. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, 191, 53-62, 2014.

Apêndice

➤ CERRADO

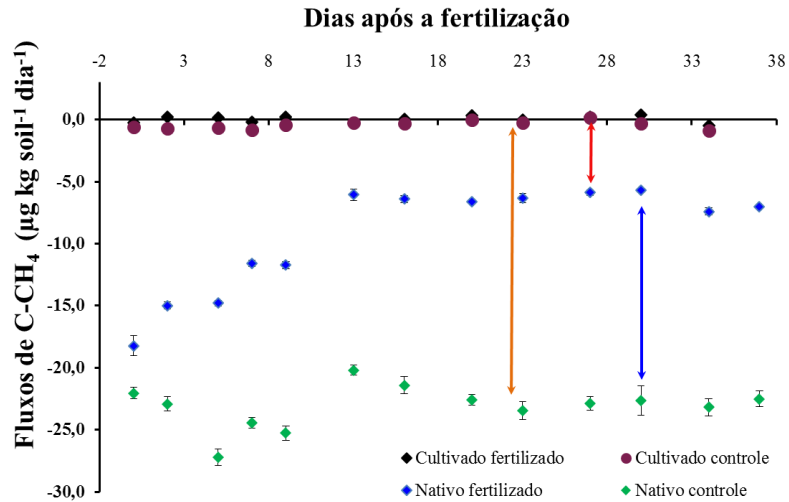


Figura 31 - Solo do município de Planaltina, Brasília – DF. Foi feito incubação por 40 dias para verificar a estabilidade do fluxo e testar o microcosmo. A estabilidade ocorreu após o 10º dia, os demais experimentos foram padronizados com base neste modelo. Seta laranja: diferença entre solo de área natural e solo de área cultivada; seta vermelha: diferença entre o eixo (zero) e o tratamento com adição de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$; seta azul: diferença entre solo de área nativo sem e com adição de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$.

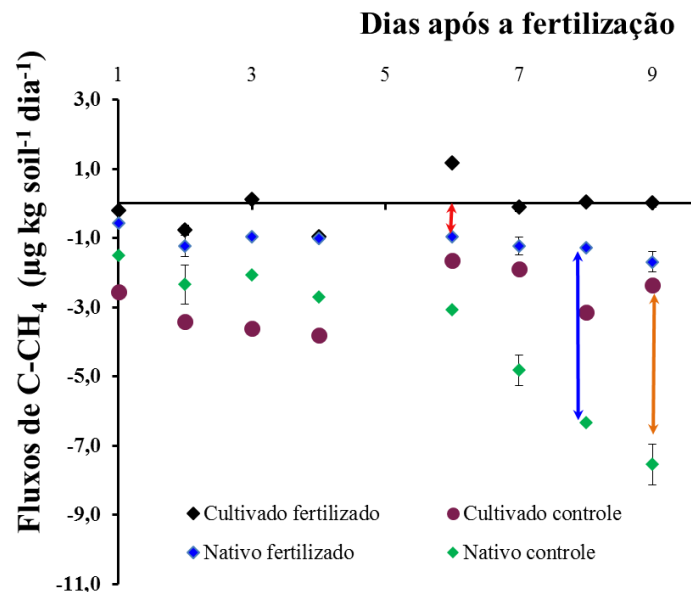


Figura 32 - Solo do município de Itirapina-SP. Foi feito incubação por 10 dias.. Seta laranja: diferença entre solo de área natural e solo de área cultivada; seta vermelha: diferença

entre o eixo (zero) e o tratamento com adição de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$; seta azul: diferença entre solo de área nativo sem e com adição de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$.

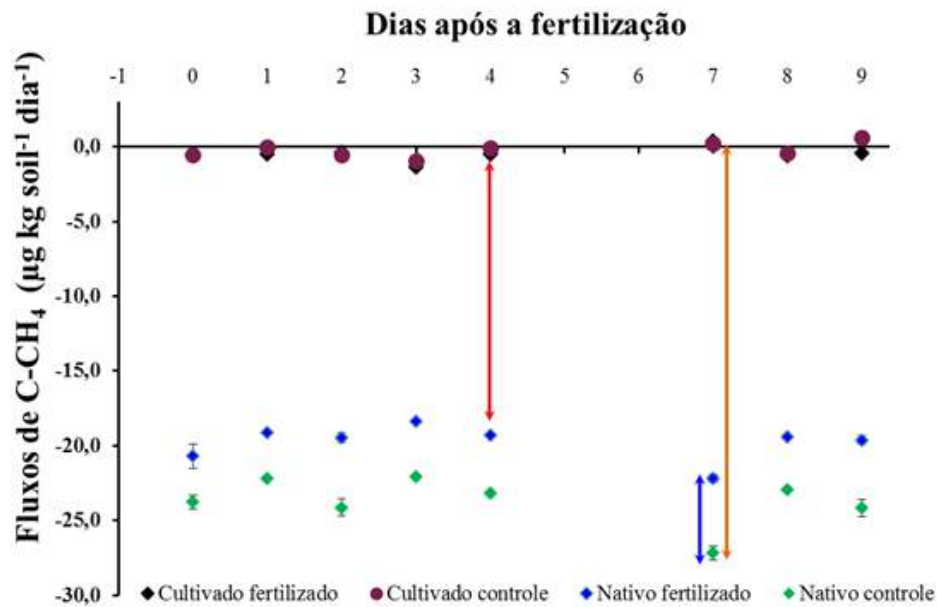


Figura 33 - Solo do município de Araras-SP. Foi feito incubação por 10 dias.. Seta laranja: diferença entre solo de área natural e solo de área cultivada; seta vermelha: diferença entre o eixo (zero) e o tratamento com adição de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$; seta azul: diferença entre solo de área nativo sem e com adição de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$.

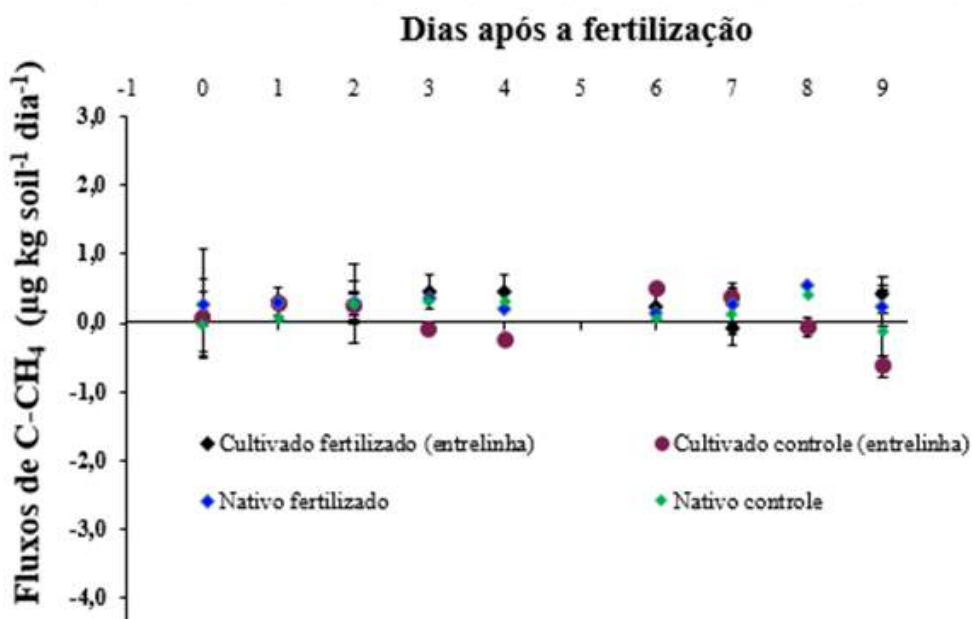


Figura 34 - Solo do município de Sorocaba-SP. Foi feito incubação por 10 dias.

➤ MATA ATLÂNTICA

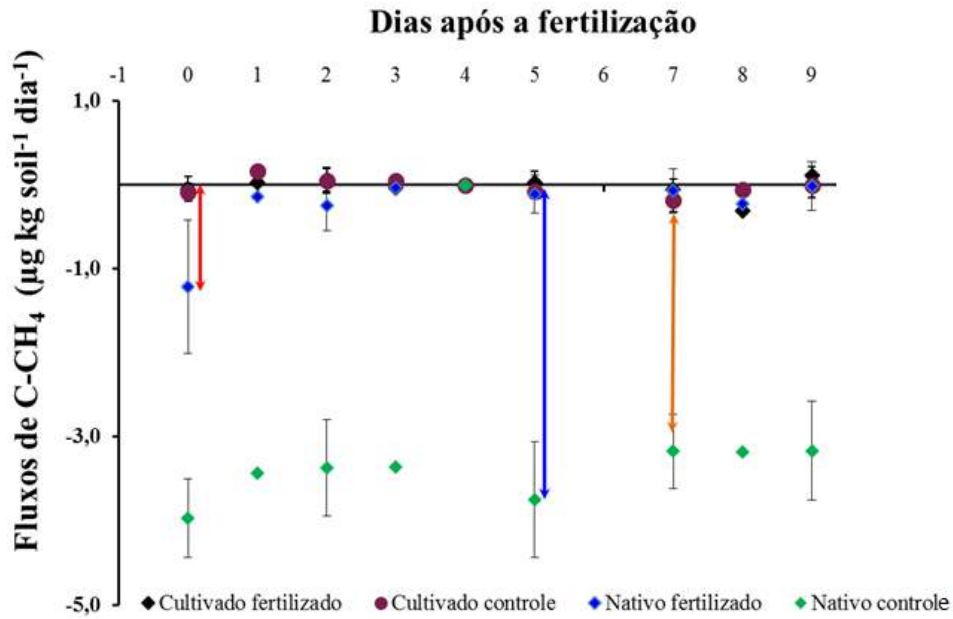


Figura 35 - Solo do município de São Luiz do Paraitinga-SP. Foi feita incubação por 10 dias.. Seta laranja: diferença entre solo de área natural e solo de área cultivada; seta vermelha: diferença entre o eixo (zero) e o tratamento com adição de (NH₄)₂SO₄; seta azul: diferença entre solo de área nativo sem e com adição de (NH₄)₂SO₄.

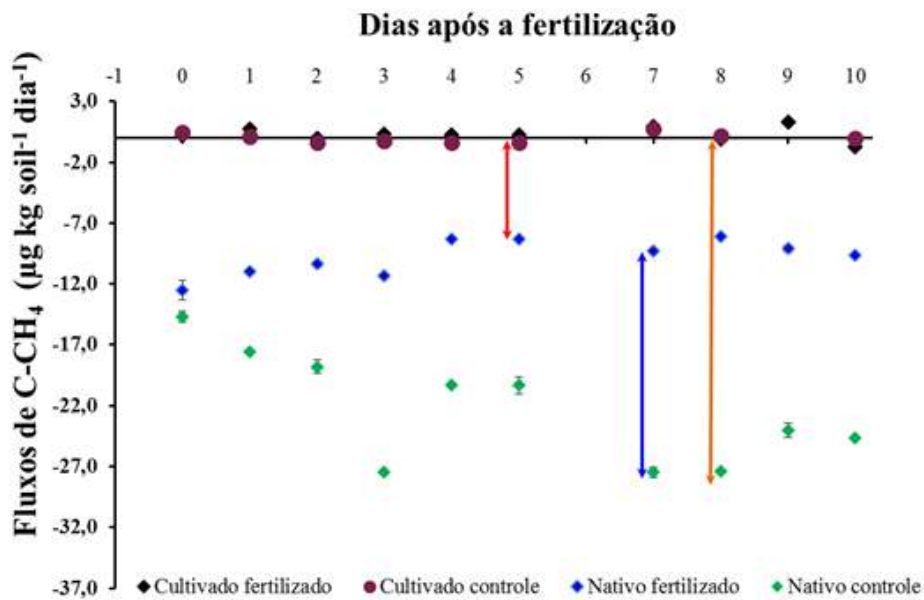


Figura 36 - Solo do município de Aiuruoca - MG. Foi feita incubação por 10 dias.. Seta laranja: diferença entre solo de área natural e solo de área cultivada; seta vermelha: diferença entre o eixo (zero) e o tratamento com adição de (NH₄)₂SO₄; seta azul: diferença entre solo de área nativo sem e com adição de (NH₄)₂SO₄.

➤ PAMPAS

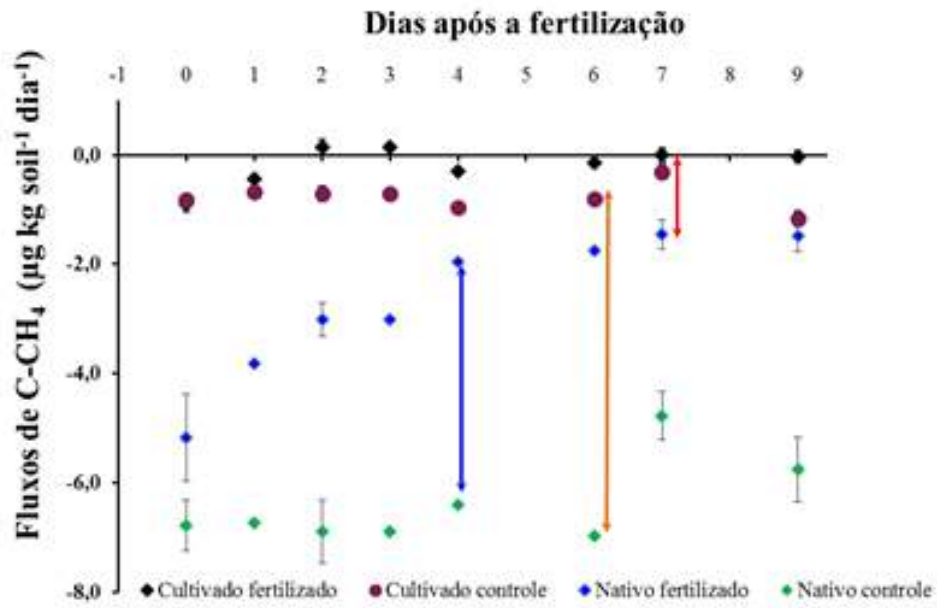


Figura 37 - Solo do município de Porto Alegre - RS. Foi feito incubação por 10 dias.. Seta laranja: diferença entre solo de área natural e solo de área cultivada; seta vermelha: diferença entre o eixo (zero) e o tratamento com adição de (NH₄)₂SO₄; seta azul: diferença entre solo de área nativo sem e com adição de (NH₄)₂SO₄.

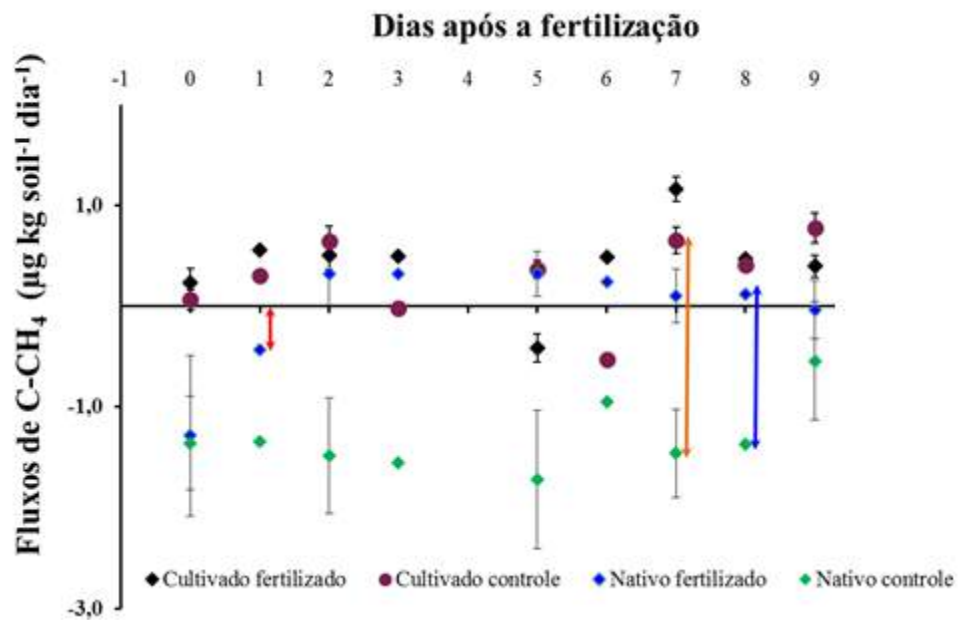


Figura 38 - Solo do município de Pelotas - RS. Foi feito incubação por 10 dias.. Seta laranja: diferença entre solo de área natural e solo de área cultivada; seta vermelha: diferença entre o eixo (zero) e o tratamento com adição de (NH₄)₂SO₄; seta azul: diferença entre solo de área nativo sem e com adição de (NH₄)₂SO₄.

➤ CAATINGA

Solo: Petrolina – PE

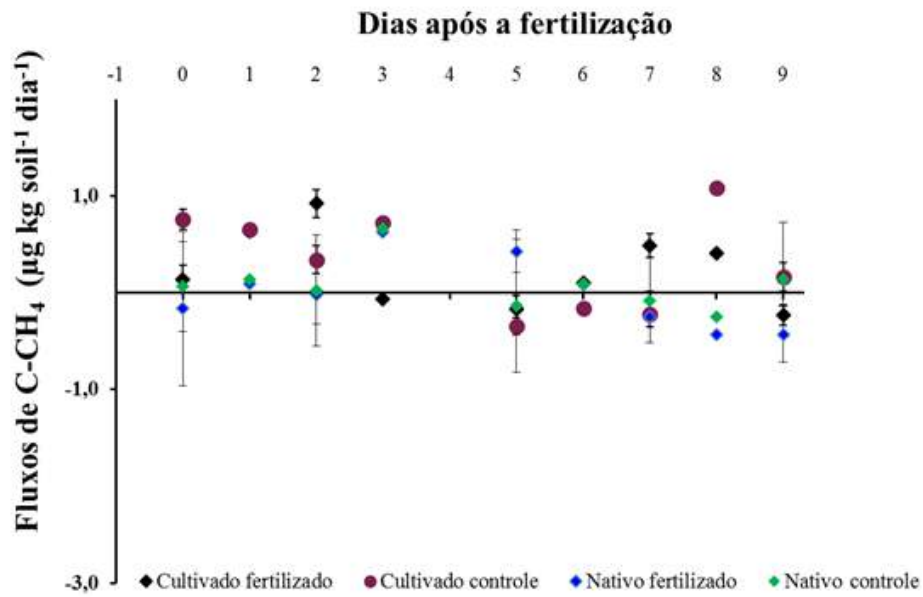


Figura 39 - Solo do município de Petrolina - PE. Foi feito incubação por 10 dias.

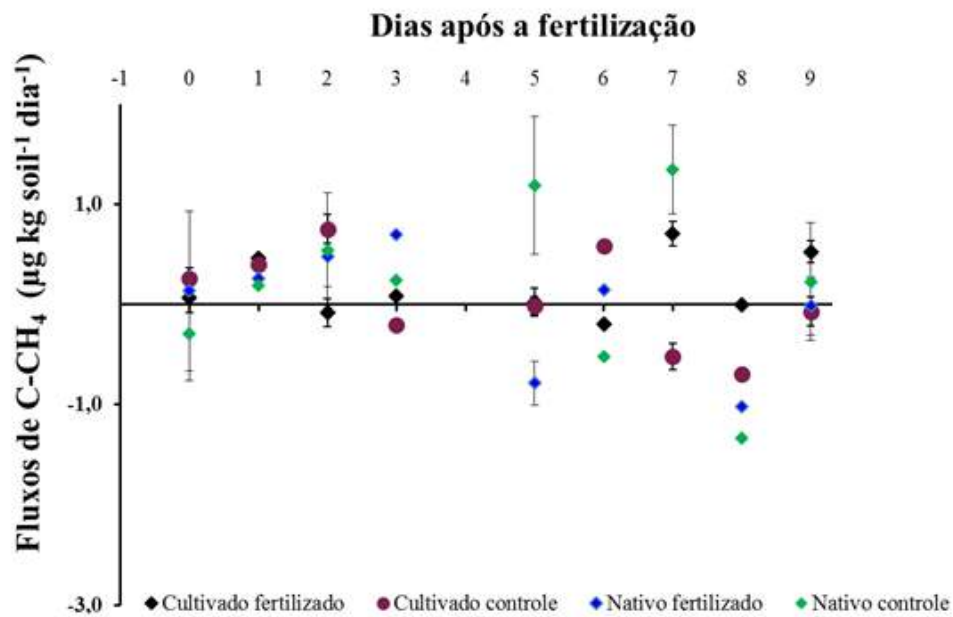


Figura 40 - Solo do município de Mossoró-RN. Foi feito incubação por 10 dias.

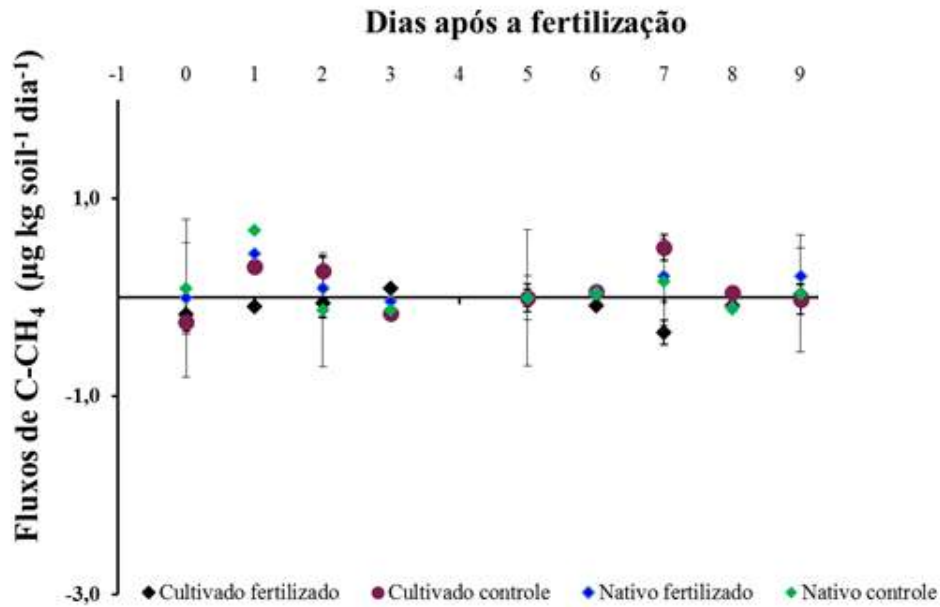


Figura 41 - Solo do município de São João-PE. Foi feito incubação por 10 dias.

➤ AMAZÔNICO

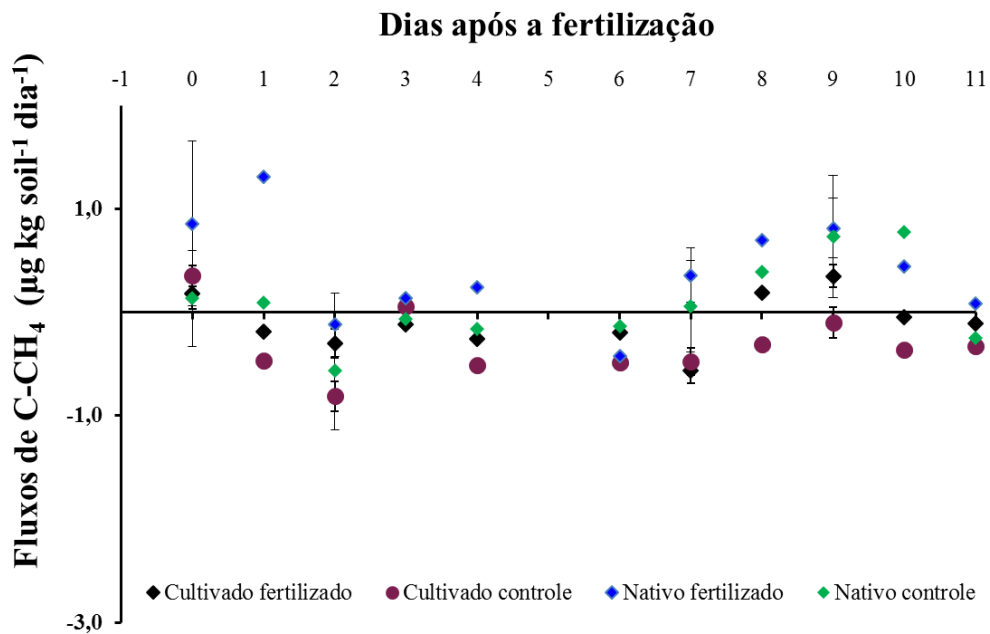


Figura 42 - Solo do município de Santarém-PA. Amostra (A). Foi feito incubação por 12 dias. Este experimento não foi utilizado devido à escassez de informações sobre a área. No entanto, podemos observar que a amostra de solo dessa área segue o mesmo comportamento dos solos do município de Sorocaba-SP e Pelotas-RS.

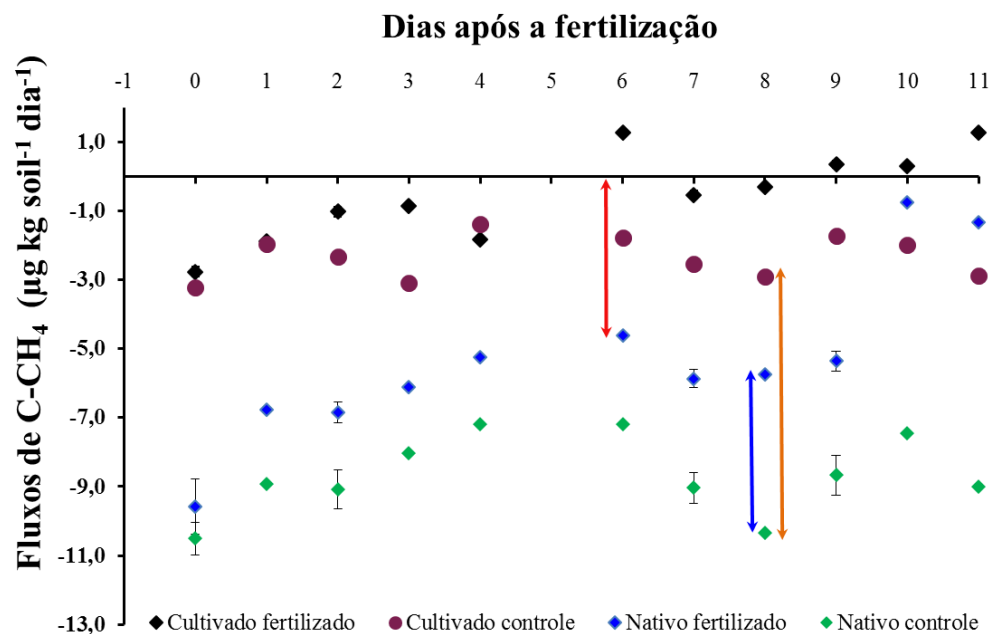


Figura 43 - Solo do município de Santarém-PA. Amostra (B). Foi feita incubação por 12 dias. Este experimento não foi utilizado fugir do delineamento do experimento, os pares de solo foram provenientes de área nativa e pastagem (sem histórico de adubação). No entanto, podemos observar que a amostra de solo da área nativa segue o mesmo comportamento do solo do município de Aiuruoca-MG e Araras-SP, enquanto a amostra da pastagem segue o comportamento do solo do município de Porto Alegre-RS.