



## **Influência da incorporação de cama de aviário e esterco bovino na diversidade bacteriana do solo**

*Influence of poultry litter and cattle manure incorporation on soil bacterial diversity*

SANT'ANNA, Gustavo Souza Lima<sup>1</sup>; SILVA, Maura Santos Reis de Andrade da<sup>2</sup>;  
CARVALHO, Lucas Amoroso Lopes de<sup>3</sup>; GONÇALVES, João Vitor da Silva<sup>4</sup>;  
PINHEIRO, Daniel Guariz<sup>5</sup>; ZONTA, Everaldo<sup>6</sup>; COELHO, Irene da Silva<sup>7</sup>

<sup>1</sup> Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, gsouzalimas@gmail.com; <sup>2</sup> Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, maura@ufrj.br; <sup>3</sup> Universidade Estadual Paulista, lucas.amoroso@unesp.br; <sup>4</sup> Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, joaovdsgoncalves@gmail.com; <sup>5</sup> Universidade Estadual Paulista, daniel.pinheiro@unesp.br; <sup>6</sup> Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, zontae@gmail.com; <sup>7</sup> Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, irenecs@yahoo.com

### **RESUMO EXPANDIDO**

#### **Eixo Temático: Manejo de Agroecossistemas**

**Resumo::** A utilização de resíduos de origem animal como fertilizantes orgânicos tem sido recomendada para melhorar a fertilidade e a biodiversidade do solo. Neste estudo, foram avaliados os efeitos da incorporação de esterco bovino e cama de aviário na comunidade bacteriana do solo através do sequenciamento do gene 16S rDNA. O experimento foi conduzido em uma área de produção orgânica, com delineamento em blocos casualizados e com três repetições por tratamento. Os três tratamentos aplicados foram: esterco bovino; cama de aviário e controle, sem a adição de fertilizantes. Aos 60 dias após a incorporação dos fertilizantes, foram coletadas amostras de solo. Os resultados obtidos revelaram que a incorporação da cama de aviário teve um impacto significativo na comunidade bacteriana do solo, resultando na redução da diversidade bacteriana e na alteração da estrutura da comunidade. Sendo assim, as diferenças nas composições dos adubos animais têm efeitos distintos sobre a comunidade bacteriana do solo.

**Palavras-chave:** alfa-diversidade; beta-diversidade; microbiologia do solo; produção orgânica; resíduos animais.

#### **Introdução**

Uma forma ecologicamente responsável de manejar os recursos naturais é através da utilização de recursos locais e da redução da produção de resíduos. Ao empregar os resíduos animais na agricultura, ocorre a sua conversão em fertilizantes em vez de se tornarem poluentes para o meio ambiente. Essa prática contribui para uma gestão eficiente dos resíduos animais e minimiza os impactos nos recursos naturais.

A utilização de resíduos de origem animal também tem sido amplamente recomendada como uma prática para manter a fertilidade e biodiversidade do solo. Desse modo, os resíduos provenientes da produção animal desempenham papel fundamental na agricultura, uma vez que são fontes de macro e micronutrientes, matéria orgânica e microrganismos benéficos para o solo (JANSSON;



HOFMOCKEL, 2018; PARENTE et al., 2021). Nesse viés, quando esses fertilizantes são incorporados ao solo, os microrganismos presentes também podem alterar a dinâmica dos nutrientes, influenciando a disponibilidade desses elementos para as plantas e, por conseguinte, impactando diretamente a produtividade das culturas (JAT et al., 2020).

Diferentes resíduos animais podem conter grupos microbianos distintos, que podem impactar a ecologia microbiana do solo e, conseqüentemente, a produtividade agrícola. Portanto, o objetivo deste trabalho foi avaliar os impactos na comunidade bacteriana do solo com a incorporação de esterco bovino e cama de aviário, utilizando o sequenciamento de Nova Geração do gene 16S rDNA.

## Metodologia

O experimento foi conduzido em uma unidade de produção orgânica (Sítio do Sol), filiada à ABIO (Associação de Agricultores Biológicos do Estado do Rio de Janeiro) e participante da associação de produtores SerOrgânico, situado nas coordenadas 22° 49' 19,79" S e 43° 44' 16,43" W, Reta dos 800, Piranema, zona rural do município de Seropédica-RJ. O solo da área foi classificado como Argissolo Amarelo. A área experimental consistia em uma pastagem de grama-batatais (*Paspalum notatum*) em estágio inicial de degradação, que foi arada e recebeu aplicação de 2,5 Mg ha<sup>-1</sup> de calcário dolomítico com poder relativo de neutralização total de 85,6% (PRNT = 85,6%, CaO = 40%, MgO = 10%). O calcário foi incorporado com microtrator com enxada rotativa na profundidade de 20 cm. E após 30 dias da calagem, o deu-se início ao experimento.

O delineamento experimental utilizado foi em blocos, casualizado com três repetições por tratamento. Os tratamentos foram compostos por: solos adubados com esterco bovino (CAM); cama de aviário (POL); e um tratamento controle (CTL), sem a adição de fertilizantes, totalizando 9 parcelas experimentais de 4 m<sup>2</sup> cada (2 x 2 m). As doses aplicadas foram calculadas para fornecer 100 kg ha<sup>-1</sup> de N. Após 60 dias da aplicação e incorporação dos fertilizantes no solo, foram coletadas 5 amostras simples para formar uma amostra composta, na camada de 0-10 cm por parcela experimental, totalizando 9 amostras.

A extração do DNA total das amostras de solos foi realizada utilizando o kit DNA PowerSoil (MO Bio Laboratories Inc.), seguindo o protocolo do fabricante. A preparação da biblioteca de amplicons e o sequenciamento da região variável V3-V4 do gene 16S rRNA foi realizada pela MacroGen, Inc. (dna.macrogen.com). As bibliotecas foram submetidas a remoção dos primers e leituras completas cuja média total do Phred Score (Q) fossem inferiores a Q20. Os pares de bibliotecas foram fundidas por sobreposição, e as leituras fundidas com tamanhos entre 390 e 430 bases foram submetidas ao pipeline "DADA2" (CALLAHAN et al., 2016). Para isso, utilizamos o pacote "dada2" (v.1.22.0) do programa estatístico "R" (v.4.1.2; R CORE TEAM, 2021). As ASVs foram anotadas taxonomicamente contra o banco de

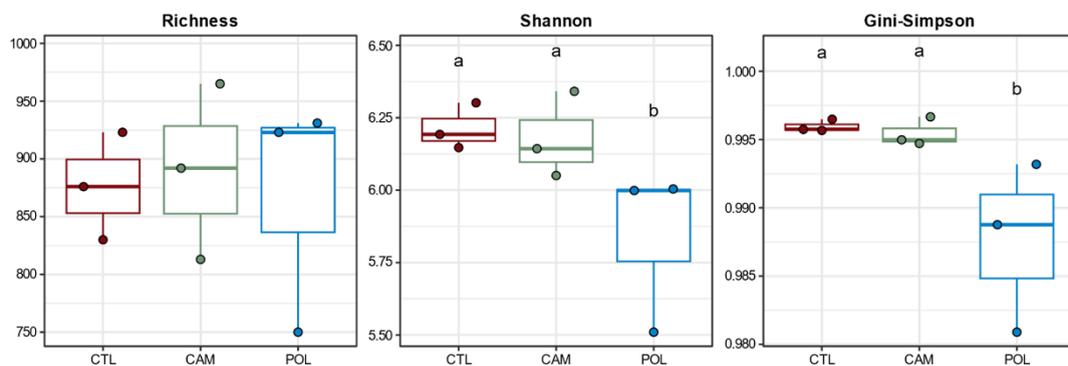


dados de sequências-referências SILVA (v.138; QUAST et al., 2013). Foram filtradas ASVs não-annotadas como bactérias ou arqueias, bem como aquelas cuja anotação remetia a cloroplastos ou mitocôndrias. Além disso, ASVs prevalentes em apenas uma única réplica foram desconsideradas.

A alfa diversidade foi estimada através da averiguação da riqueza observada e de medidas de diversidade (índice de Shannon e Gini-Simpson). As medidas obtidas foram comparadas estatisticamente através do teste de Kruskal-Wallis ( $p$ -valor  $\leq 0.1$ ) e o teste *post-hoc* Fisher's LSD foi utilizado para a comparação par-a-par e agrupamento das médias ( $p$ -valor  $\leq 0.1$ ). A análise de beta diversidade se deu pelo cálculo das dissimilaridades de Bray-Curtis. Realizou-se uma análise PERMANOVA para avaliar se houve diferença entre os tratamentos ( $p$ -valor  $\leq 0.1$ ). Adicionalmente, foi feita uma análise *post-hoc* para avaliar quais tratamentos diferiam entre si ( $p$ -valor  $\leq 0.1$ ). A fim de reduzir a multidimensionalidade das distâncias, realizou-se uma Análise de Coordenadas Principais (PCoA), da qual utilizou-se posteriormente para a plotagem do gráfico. As características estruturais das comunidades microbianas foram avaliadas a partir de redes de coocorrência.

## Resultados e Discussão

A riqueza estimada de espécies não se diferenciou entre os tratamentos, porém, a cama de aviário promoveu menores índices Shannon e Gini-Simpson em relação aos solos com esterco bovino e o tratamento controle (Figura 1).



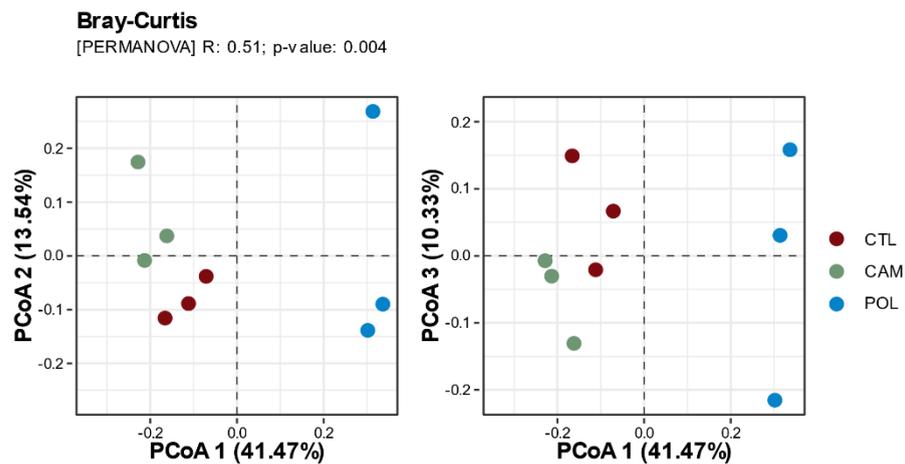
**Figura 1.** Alfa-diversidade bacteriana de solos após 60 dias de aplicação de esterco bovino (CAM), cama de aviário (POL) e sem a aplicação de fertilizantes (CTL).

Estudos relatam que os resíduos orgânicos proveniente de animais promovem aumento na diversidade bacteriana. Em contrapartida, os resultados do presente trabalho demonstraram que a abundância da diversidade bacteriana de solos adubados com esterco bovino pouco se diferenciou do solo controle, isto é, solo sem adição de fertilizante. Além disso, os solos adubados com cama de aviário apresentaram uma diminuição da diversidade bacteriana em relação ao controle. Isso implica que, com a redução da diversidade bacteriana do solo, reduz-se a habilidade do ecossistema de resistir a períodos de estresse e de efeitos ambientais



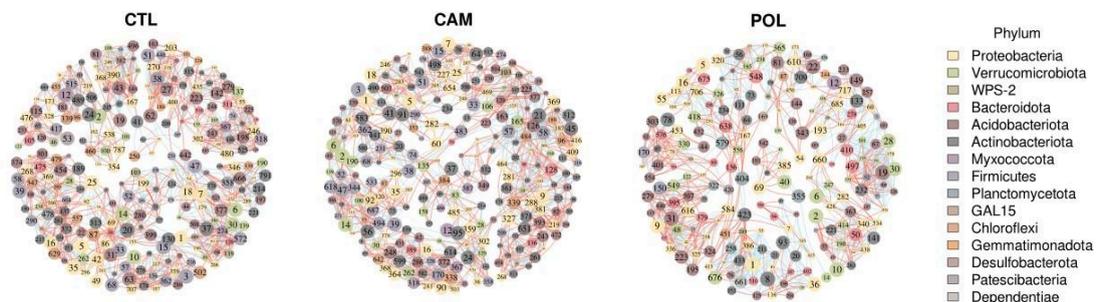
indesejáveis (GILLER et al., 1997). Porém, é importante salientar que a mineralização da matéria orgânica presente no esterco é um processo de longo prazo, difícil de exercer totalmente seu potencial nutricional na comunidade microbiana do solo em um período de curto prazo (ZHANG et al., 2021).

Em relação à estrutura das comunidades bacterianas do solo, os tratamentos analisados apresentaram diferenças significativas entre si ( $p < 0,05$ ) (Figura 2). Houve uma clara separação do tratamento de cama de aviário em relação ao tratamento controle e esterco bovino, o que indica que cama de aviário tem efeito distinto em relação aos demais tratamentos sobre a comunidade do solo. O tratamento com esterco bovino e o controle estão próximos, apesar de haver diferença significativa entre estes tratamentos.



**Figura 2.** Análise de Coordenadas Principais de solos após 60 dias de aplicação de esterco bovino (CAM), cama de aviário (POL) e sem a aplicação de fertilizantes (CTL).

A maior alteração na comunidade bacteriana utilizando-se a cama de aviário também foi observada através da análise de rede (Figura 3). O número de nós e número de ligações foram maiores nos solos do tratamento controle (255 e 1.610, respectivamente) e com esterco bovino (253 e 1.575, respectivamente) em relação aos solos com cama de aviário (205 e 1.125, respectivamente).



**Figura 3.** Análise de rede da comunidade bacteriana em solos com 60 dias após a aplicação de esterco bovino (CAM), cama de aviário (POL) e sem a aplicação de fertilizantes (CTL).



Uma rede mais complexa indica que há uma interação mais próxima entre os microrganismos, o que seria benéfico para resistir aos estresses ambientais (LING et al., 2016). Esta estabilidade da rede bacteriana, pode variar de acordo com a taxa de aplicação do esterco (LIU et al., 2020). No presente estudo, portanto, os solos que receberam cama de aviário apresentaram uma rede menos complexa, indicando menor potencial para resistir a estresses ambientais. E apesar de já ter sido relatada anteriormente (PIN VISO et al., 2021), os motivos pelos quais a cama de aviário promove menor diversidade bacteriana ainda não estão claros.

### **Conclusões:**

A incorporação de esterco bovino não provocou mudanças na composição bacteriana quando comparado ao controle, enquanto a cama de aviário levou à uma redução da diversidade bacteriana no solo. Esses resultados são importantes para compreender os impactos dos resíduos animais na comunidade bacteriana do solo, visando promover um agroecossistema sustentável e produtivo.

### **Referências bibliográficas**

CALLAHAN, Benjamin J.; MCMURDIE, Paul J.; ROSEN, Michael J.; HAN, Andrew W.; JOHNSON, Amy Jo A.; Holmes, SUSAN P. DADA2: High resolution sample inference from Illumina amplicon data. **Nat Methods**, v. 13, n. 7, p. 581–583, 2016.

GILLER, Ken E.; BEARE, Michael H.; LAVELLE, Patrick; IZAC, Anne-Marie N.; SWIFT, Mike J. Agricultural intensification, soil biodiversity and agroecosystem function. **Applied Soil Ecology**, v. 6, n. 1, p. 3–16, 1 ago. 1997.

JANSSON, Janet K.; HOFMOCKEL, Kirsten S. The soil microbiome — from metagenomics to metaphenomics. **Current Opinion in Microbiology**, v. 43, p. 162–168, 1 jun. 2018.

JAT, Hanuman S.; CHOUDHARY, Madhu; DATTA, Ashim; YADAV, Arvind K.; MEENA, Murlidhar; DEVI, Ritu; GATHALA, Mahesh K.; JAT, Mangi L.; MCDONALD, Andrew; SHARMA, Parbodh C. Temporal changes in soil microbial properties and nutrient dynamics under climate smart agriculture practices. **Soil and Tillage Research**, v. 199, p. 104595, 1 maio 2020.

LING, Ning; ZHU, Chen; XUE, Chao; CHEN, Huan; DUAN, Yinghua; PENG, Chang; GUO, Shiwei; SHEN, Qirong. Insight into how organic amendments can shape the soil microbiome in long-term field experiments as revealed by network analysis. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 99, p. 137–149, 1 ago. 2016.

LIU, Haiyang; HUANG, Xing; TAN, Wenfeng; DI, Hongjie; XU, Jianming; LI, Yong. High manure load reduces bacterial diversity and network complexity in a paddy soil under crop rotations. **Soil Ecology Letters**, v. 2, n. 2, p. 104–119, 1 jun. 2020.



PARENTE, Cláudio E. T.; BRITO, Elcia M. S.; CARETTA, César A.; CERVANTES-RODRÍGUEZ, Erick A.; FÁBILA-CANTO, Andrea P.; VOLLÚ, Renata E.; SELDIN, Lucy; MALM, Olaf. Bacterial diversity changes in agricultural soils influenced by poultry litter fertilization. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 52, n. 2, p. 675–686, 1 jun. 2021.

PIN VISO, Natalia D.; RIZZO, Pedro F.; YOUNG, Brian J.; GABIOUD, Emmanuel; BRES, Patricia; RIERA, Nicolás I.; MERINO, Lina; FARBER, Marisa D.; CRESPO, Diana C. The Use of Raw Poultry Waste as Soil Amendment Under Field Conditions Caused a Loss of Bacterial Genetic Diversity Together with an Increment of Eutrophic Risk and Phytotoxic Effects. **Microbial Ecology**, p. 1-14, 2022.

QUAST, Christian; PRUESSE, Elmar; YILMAZ, Pelin; GERKEN, Jan; SCHWEER, Timmy; YARZA, Pablo; PEPLIES, Jörg; GLÖCKNER, Frank O. The SILVA ribosomal RNA gene database project: improved data processing and web-based tools. **Nucleic Acids Research**, v. 41, n. D1, p. D590–D596, 1 jan. 2013.

R CORE TEAM. R core team (2021). **R: A language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <http://www.R-project.org>, 2021.

ZHANG, Xingxiao; ZHANG, Junzhe; JIANG, Linlin; YU, Xin; ZHU, Hongwei; ZHANG, Jianlong; FENG, Zhibin; ZHANG, Xiang; CHEN, Guozhong; ZHANG, Zhijian. Black Soldier Fly (*Hermetia illucens*) Larvae Significantly Change the Microbial Community in Chicken Manure. **Current Microbiology**, v. 78, n. 1, p. 303–315, 1 jan. 2021.