

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA**

**NORMAS PARA ELABORAÇÃO DE DISSERTAÇÃO E  
TESE**

Maringá, setembro de 2019

# **NORMAS PARA ELABORAÇÃO DE DISSERTAÇÃO E TESE**

## **1. REQUISITOS GERAIS**

Este manual contém os requisitos mínimos, estabelecidos pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Agronomia (PGA), da Universidade Estadual de Maringá (UEM), obrigatórios na apresentação formal da dissertação ou tese.

### **1.1. Número de exemplares e distribuição**

Para a defesa, o pós-graduando entregará na secretaria do PGA um requerimento marcando a data da defesa de sua dissertação ou tese. Após a defesa, tendo efetuado todas as correções, será entregue na secretaria do PGA o arquivo referente à versão final, em dois **arquivos digitalizados (ex: 2 CDs, 2 pen drive)**. Em caso de restrição, se o material da tese/dissertação for confidencial ou sigiloso este poderá ser mantida por 24 meses a partir da data de defesa. A extensão deste prazo suscita justificativa junto à coordenação do curso. Todo resumo estará disponível para reprodução, conforme legislação vigente na UEM.

### **1.2. Papel e processo de multiplicação**

#### **1.2.1. Papel**

O papel para impressão da dissertação ou tese é de cor branca, tipo pergaminhado, gramatura mínima de 75 g/m<sup>2</sup> formato-padrão da Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT) A4 (210 x 297 mm).

#### **1.2.2. Processo de multiplicação**

A multiplicação é feita utilizando método que reproduza o original com nitidez.

### **1.3. Preparo do material**

#### **1.3.1. Digitação**

O texto deve ser digitado em somente uma face do papel, em preto, permitindo-se cores nas figuras, em situações em que sejam absolutamente necessárias.

Os tamanhos das fontes estão no exemplo no final do texto destas normas.

O corpo das tabelas, das figuras e dos rodapés pode conter letras menores, desde que legíveis. Títulos e subtítulos podem ser apresentados em negrito.

Nomes científicos devem ser diferenciados pelo uso de itálico, itálico-negrito ou de outra fonte que os distinga do texto, mantendo uniformidade no corpo da tese ou do artigo científico.

#### **1.3.2. Espaçamento**

O original deve ser digitado em espaço um e meio. Espaço simples é usado apenas em tabelas longas, notas de rodapé, notas de fim de texto, títulos e subtítulos com mais de uma linha e citações bibliográficas.

#### **1.3.3. Margens e parágrafos**

De acordo com item: Arranjo do Conteúdo.

Todo parágrafo é iniciado a 15 mm, a partir da margem esquerda. Quando necessário para completar uma nota de rodapé, ou a última linha de capítulo ou de subdivisão, é permitido ultrapassar, em uma linha, o limite da margem inferior. O mesmo se aplica a tabelas, figuras e respectivas legendas.

Na primeira página de toda divisão principal da tese, o título é centralizado, sem pontuação.

Um novo parágrafo no final da página é constituído de, pelo menos, duas linhas. Se a página não o comportar, iniciar o parágrafo na página seguinte.

#### **1.3.4. Numeração das páginas**

Os números de página, de mesmo tipo e tamanho dos utilizados no texto, são colocados sem pontuação e centralizados na margem inferior da página.

As páginas preliminares são numeradas com algarismos romanos consecutivos, empregando-se letras minúsculas. O algarismo romano ii aparece na primeira página seguinte à página de aprovação da tese, a qual é contada, mas não numerada.

As páginas do texto, das referências e dos apêndices são numeradas consecutivamente com algarismos arábicos, começando com 1 (um) na primeira página do texto.

Não são aceitas folhas intercaladas numeradas, como, por exemplo, 15a, 15b, 15c etc.

A colocação horizontal ou vertical de tabelas ou de figuras não altera a posição do número da página e das margens.

#### **1.3.5. Teses em mais de um volume**

Se for necessária a encadernação em dois ou mais volumes, a separação entre eles é feita ao final de uma divisão principal. A página de rosto é idêntica para todos os volumes, salvo o acréscimo da expressão “Volume 1”, “Volume 2”, “Volume 3” etc., logo abaixo do título. As páginas preliminares aparecem somente no Volume 1. A numeração das páginas é contínua, desde o volume 1 até o final do último. Exemplo na página 27.

#### **1.3.6. Teses com subdivisões em capítulos**

A organização interna do texto da tese será com um RESUMO GERAL, INTRODUÇÃO GERAL, as divisões em capítulos. Após inicia-se a subdivisão em capítulos. Cada capítulo será iniciado com uma página que conterá o número do capítulo e o seu título, conforme exemplo apresentado na página 6.

Poderá ser inserido como capítulo o artigo já publicado, digitalizado, como o foi no periódico. Poderá ser inserido no idioma em que o mesmo foi publicado

#### **1.3.7. Notas e rodapés**

Notas e rodapés não são recomendados e serão usados apenas em casos de real necessidade, com aprovação da Comissão Orientadora. As notas podem estar localizadas:

a) No pé da página (rodapé).

b) No fim de cada capítulo, sendo neste caso tratadas como subdivisão de primeira ordem sob o título de “Notas”, que serão listadas no Sumário.

### **1.4. Tabelas e Figuras**

#### **1.4.1. Definições**

“Tabela ” geralmente designa dados numéricos tabulados, sendo incluído no corpo da tese e nos apêndices. “Figura” geralmente designa outros materiais, como gráficos, fotografias ou ilustrações, podendo ser incluída no corpo da tese e nos apêndices.

### **1.4.2. Apresentação de tabelas e figuras**

Independentemente do processo utilizado para multiplicar a tese, todas as tabelas e todas as figuras, exceto fotografias (veja parágrafo a seguir), usados no texto após a sua citação na mesma página, ou na página seguinte, terão de ser em papel que satisfaça os requisitos estabelecidos para a impressão da tese.

Tabelas ou figuras completas, inclusive legenda, devem ser colocadas na página dentro das margens, a não ser que a legenda seja longa demais. Neste caso, ver “1.4.4. Legendas de Tabelas e figuras”.

A parte inferior de uma figura ou de uma tabela volta-se para a margem inferior da página. Caso o tamanho ou formato exigirem que este elemento seja colocado horizontalmente, a sua parte inferior volta-se para margem direita da página.

Tabelas ou figuras com a extensão de meia página ou menos podem aparecer, junto com o texto, na mesma página, separados deste, acima e abaixo, por espaçamento normal.

Caso sejam maiores que meia página, devem ser colocados em folhas separadas, com a tabela posicionada na margem superior e a figura na margem inferior. Duas ou mais figuras ou tabelas pequenas podem ser agrupadas em uma única página, deixando entre elas um espaçamento normal do texto. Para o preparo de material com características especiais, consultar o PGA.

### **1.4.3. Numeração de tabelas e figuras**

Tabelas e figuras são numeradas em séries separadas. Exemplo: Tabela 1, Tabela 2, Tabela 3 etc.; Figura 1, Figura 2, Figura 3 etc... Nos apêndices, A, B, C etc., Tabelas e figuras devem receber a numeração da seguinte forma: 1A, 2A, 3A ...; 1B, 2B, 3B ...; 1C, 2C, 3C ...etc. Os números, em cada série, devem aparecer em ordem consecutiva. Caso haja apenas um apêndice, o número da Tabela ou da figura será seguido da letra A. Se a tese for dividida em capítulos, a numeração de Tabelas e figuras, para cada capítulo, começará a partir do número 1.

### **1.4.4. Legendas de tabelas e figuras**

As palavras “Tabela” e “Figura”, com apenas a inicial em maiúscula, e suas legendas, só a primeira palavra com a inicial em maiúscula, devem ser colocadas acima da tabela ou abaixo da figura, deixando um espaço duplo entre a última linha da legenda e a linha de cima da tabela ou abaixo da figura. Se a tabela, ou a figura, continuar na página seguinte ou subsequente, a legenda conterà, por exemplo: Tabela 18, Cont.; Figura 18, Cont.. A legenda não é repetida na continuação, e um espaço duplo deve ser deixado antes da continuação do corpo da tabela. A legenda da Tabela ou da figura não pode ser reduzida, quando a tabela ou a figura o forem. Se a legenda for demasiadamente longa para ser colocada acima da tabela ou abaixo da figura, dentro das margens estabelecidas, ela deve ser posicionada no verso da página anterior, sem numeração de página, e impressa pouco acima do meio.

As legendas devem seguir a mesma orientação, vertical ou horizontal, dos correspondentes tabelas e figuras.

Entre as linhas das legendas o espaço é simples.

Na legenda da tabela não há ponto-final, porém na da figura há o ponto-final.

## **2. ARRANJO DO CONTEÚDO**

### **2.1 Páginas iniciais**

## **2.2. Texto**

### **2.2.1. O corpo da tese**

A organização interna desse material deverá ser realizada na forma tradicional (INTRODUÇÃO, REVISÃO DE LITERATURA, MATERIAL E MÉTODOS, RESULTADOS E DISCUSSÃO, CONCLUSÕES E REFERÊNCIAS). Também poderá ser estruturado em capítulos, RESUMO GERAL, INTRODUÇÃO GERAL, as divisões em capítulos.

### **2.2.2. Introdução**

Essa parte pode ser tratada de diversas maneiras, conforme a estrutura da tese.

Pode ser o primeiro capítulo da tese. Nesse caso, a palavra INTRODUÇÃO, em letras maiúsculas, é centralizada, sem pontuação e sua colocação tem que estar em harmonia com os títulos dos capítulos seguintes.

O primeiro capítulo pode preceder as seções (ou artigos) que constituem a tese.

Oferece a idéia geral dos artigos contidos na tese. Nesse caso, a palavra INTRODUÇÃO, em letras maiúsculas, é centralizada, sem pontuação. O texto começa no topo da mesma.

Adicionalmente, cada seção ou artigo deverá ter sua introdução própria. Neste caso a palavra Introdução acompanhará o formato geral da subseção ou do artigo.

### **2.2.3. Revisão da literatura**

O título REVISÃO DE LITERATURA, em letras maiúsculas, é centralizado, sem pontuação; no topo da mesma.

### **2.2.4 Material e métodos**

O título MATERIAL E MÉTODOS, em letras maiúsculas, é centralizado, sem pontuação; no topo da mesma.

### **2.2.5 Resultados e discussão**

O título RESULTADOS E DISCUSSÃO, em letras maiúsculas, é centralizado, sem pontuação; no topo da mesma.

### **2.2.6. Conclusões**

Essa seção é comumente tratada como a última divisão do texto e faz-se necessária, também, na tese formada por artigos (a publicar ou publicados), dos quais fará a síntese conclusiva. O título CONCLUSÕES, em letras maiúsculas, é centralizado, sem pontuação; no topo da página. No caso de artigos científicos, as conclusões podem vir separadamente.

### **2.2.7. Recomendações (optativas)**

Essa seção, se o assunto permitir e se o autor desejar incluí-la, vem depois das conclusões. O título RECOMENDAÇÕES, em letras maiúsculas, é centralizado, sem pontuação, no topo da mesma.

### **2.2.8. Notas (optativas)**

Se todas as notas foram deixadas para o fim da tese (ver “1.3.7. Notas e Rodapés”), elas constituirão a última divisão maior do texto. O título NOTAS, em letras maiúsculas, é centralizado, sem pontuação; o texto começa a 30 mm do topo da mesma.

## **2.3. O material de referência**

### **2.3.1. Referências**

Qualquer tese que faça uso de trabalho de outrem, quer em citação direta, quer por referência, deve conter as referências listando tais fontes.

A seção começa com o título REFERÊNCIAS, em letras maiúsculas, centralizado e sem pontuação; no topo da mesma.

As referências bibliográficas têm que seguir as normas da ABNT, vigentes na data da defesa.

### **2.4. Apêndices (optativo)**

O Apêndice é comumente usado para acrescentar material ilustrativo suplementar, dados originais e citações longas demais para inclusão no texto ou que não sejam essenciais para a compreensão do assunto.

Esta seção é separada do material precedente por uma folha de rosto trazendo o título APÊNDICES (ou, se há apenas um, APÊNDICE), em letras maiúsculas, centralizado e sem pontuação. A folha é contada, mas não é numerada.

## MODELOS DE ESTRUTURA

Margem superior 3 cm

Configuração da página  
Papel branco, tipo A4

Tipo de Fonte:  
Times New Roman - TNR

Elemento textual - Espaçamento  
Entre linhas 1,5  
Tamanho da fonte: 12

Margem esquerda 3 cm

Margem direita 2 cm

Margem inferior 2 cm



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
DEPARTAMENTO DE AGRONOMIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

ALEXANDRE GEMELLI

Análise proteômica quantitativa de *Digitaria insularis* suscetível e  
resistente ao glyphosate

Maringá  
2017

ALEXANDRE GEMELLI

Análise proteômica quantitativa de *Digitaria insularis* suscetível e resistente ao glyphosate

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia do Departamento de Agronomia, Centro de Ciências Agrárias da Universidade Estadual de Maringá, como requisito parcial para obtenção do título de Doutor em Agronomia.

Área de concentração: Proteção de Plantas

Orientador: Prof. Dr. Rubem Silvério de Oliveira Jr.

Co-orientador: Prof. Dr. Jamil Constantim

Maringá  
2017

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)  
(Biblioteca Central - UEM, Maringá, PR, Brasil)

G322a Gemelli, Alexandre, 1988-  
Análise proteômica quantitativa de *Digitaria insularis* suscetível e resistente ao glyphosate / Alexandre Gemelli. -- Maringá, 2017.  
Xiii, 64 f. : il. color., figs., tabs., mapa

Orientador: Prof. Dr. Rubem Silvério de Oliveira Júnior.  
Coorientador: Prof. Dr. Jamil Constantin.  
Tese (doutorado) - Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Agronomia, área de concentração: Proteção de Plantas 2017.

1. Capim-amargoso (*Digitaria insularis*) - Identificação de proteínas. 2. Capim-amargoso (*Digitaria insularis*) - iTRAQ. 3. Capim-amargoso (*Digitaria insularis*) - Estresse oxidativo. 4. Capim-amargoso (*Digitaria insularis*) - Herbicida. I. Oliveira Júnior, Rubem Silvério de, orient. II. Constantin, Jamil, coorient. III. Universidade Estadual de Maringá. Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Agronomia. IV. Título.

CDD 21.ed. 632.954

FOLHA DE APROVAÇÃO

ALEXANDRE GEMELLI

Mecanismos *non-target-site* de resistência ao glyphosate em *Digitaria insularis* elucidados por análise proteômica baseada em marcadores isobáricos

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Agronomia do Departamento de Agronomia, Centro de Ciências Agrárias da Universidade Estadual de Maringá, como requisito para a obtenção do título de Doutor em Agronomia:

em 15 de Fevereiro de 2017

COMISSÃO JULGADORA

---

Dr. Caio Antonio Carbonari

---

Dr. Fábio César Sousa Nogueira

---

Dr. Osvaldo Ferrarese Filho

---

Dr. Jamil Constantin  
(Co-orientador)

---

Dr. Rubem Silvério de Oliveira Jr.  
(Orientador)

## **DEDICATÓRIAS**

Ofereço a Deus pelo dom da vida e pelas oportunidades que me dá para o meu crescimento como homem e espírito.

Aos meus pais, Eugênio Gemelli e Ester Bernardete Borin Gemelli, os quais nunca deixarão de ser os eternos “meus amigos”.

À minha irmã Aline Gemelli, a minha eterna parceira, pois sem ela eu nunca conheceria o verdadeiro sentimento da amizade.

À minha esposa Talita Mayara de Campos Jumes Gemelli, a mulher que me ensinou a amar.

## AGRADECIMENTOS

À Universidade Estadual de Maringá (UEM) e ao Programa de Pós-graduação em Agronomia (PGA), pela oportunidade de realização do Curso de Doutorado.

Ao Conselho Nacional do Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelo auxílio financeiro por meio da bolsa de estudos concedida durante todo o curso.

Ao meu orientador Dr. Rubem Silvério de Oliveira Jr., por sua amizade sincera, por seus valiosos conselhos desde meu ingresso no curso de Agronomia e por ser um professor tão dedicado à profissão, que considero um exemplo a ser seguido, devido ao seu grande empenho para a formação dos alunos assim como para a evolução da ciência das plantas daninhas.

Ao meu co-orientador Dr. Jamil Constantin, que contribuiu muito para o meu crescimento profissional e pessoal durante estes anos de convívio.

À professora Dr. Adriana Gonela, pela grande ajuda no desenvolvimento deste trabalho e por sua generosidade ao deixar o seu laboratório à disposição para a realização dos experimentos que compõem parte desta pesquisa.

À secretária do Programa de Pós-graduação em Agronomia, Érika Cristina T. Sato, pelo atendimento profissional e competente durante este período de convivência.

Aos funcionários do Departamento de Agronomia/UEM, Milton Lopes da Silva e Luis Machado Homem, pela presteza e apoio na condução dos experimentos.

Aos amigos e membros do Núcleo de Estudos Avançados em Ciência das Plantas Daninhas da Universidade Estadual de Maringá (NAPD/UEM), Denis Biffe, Eliezer Gheno, Fabiano Rios, Guilherme Braga, Hudson Takano, Jethro Osipe, Luiz Franchini, pela amizade e companheirismo durante este período e indispensável colaboração nos trabalhos desenvolvidos.

Ao professor Dr. Fabio Cesar Sousa Nogueira por seu enorme apoio e esforço para conclusão desta pesquisa. Pela gentileza com a qual nos recebeu em seu laboratório e principalmente por sua amizade, que espero cultivar com grande apreço durante minha vida.

Ao professor Dr. Gilberto Barbosa Domont pelo exemplo de profissional dedicado ao ensino e pesquisa e por seu grande carinho e amizade demonstrado ao nos receber em seu laboratório.

Aos coordenadores do Laboratório de Química de Proteínas, Instituto de Química, e Laboratório de Controle de Dopagem (LBCD) pertencentes a Universidade

Federal do Rio de Janeiro (UFRJ) por permitir esta pesquisa, assim como aos seus alunos e colaboradores pela amizade e atenção.

E a todos que de alguma maneira contribuíram para a conclusão deste trabalho, expresso meu

Muito obrigado!

## EPÍGRAFE

*“Não se descobre novas terras sem se  
consentir em perder de vista, primeiro e  
por muito tempo, qualquer praia”*

ANDRÉ GUIDÉ  
Prêmio Nobel de Literatura em 1947



## **BIOGRAFIA**

ALEXANDRE GEMELLI, filho de Eugênio Gemelli e Ester Bernardete Borin Gemelli, nasceu no município de Palotina, estado do Paraná, aos cinco dias do mês de junho do ano de 1988.

Em fevereiro de 2006, iniciou o curso de Engenharia Agrônômica na Universidade Estadual de Maringá (UEM). Durante o período de graduação, participou de projetos de pesquisa na área da Ciência das Plantas Daninhas, sob a orientação dos Professores Dr. Rubem Silvério de Oliveira Jr. e Dr. Jamil Constantin. Graduou-se em Engenharia Agrônômica em 21 de janeiro de 2011.

Em março de 2011, iniciou o curso de Pós-Graduação em Agronomia em nível de Mestrado, área de concentração em Proteção de Plantas, na Universidade Estadual de Maringá (UEM), sob orientação do professor Dr. Rubem Silvério de Oliveira Júnior e co-orientação do professor Dr. Jamil Constantin. Obteve o título de mestre em Agronomia em 08 de fevereiro de 2013.

Em março de 2013, iniciou o curso de Pós-Graduação em Agronomia em nível de Doutorado, área de concentração em Proteção de Plantas, na Universidade Estadual de Maringá (UEM), sob orientação do professor Dr. Rubem Silvério de Oliveira Júnior e co-orientação do professor Dr. Jamil Constantin.

## SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	1
2	REVISÃO DE LITERATURA .....	3
2.1	As plantas daninhas e a seleção de biótipos resistentes .....	3
2.2	O glyphosate.....	4
2.3	O capim-amargoso ( <i>Digitaria insularis</i> ).....	7
2.4	Mecanismos de resistência ao glyphosate em <i>D. insularis</i> e outras plantas daninhas.....	9
2.5	A proteômica.....	12
2.6	Crêterios para a escolha dos biótipos de <i>D. insularis</i> a serem estudados.....	17
2.7	OBJETIVOS .....	19
2.7.a	Geral.....	19
2.7.b	Específicos .....	19
3	MATERIAL E MÉTODOS.....	20
3.1	Coleta das folhas de <i>D. insularis</i> e aplica�o de glyphosate.....	23
3.2	Extra�o de proteínas .....	25
3.3	Solubiliza�o das amostras proteicas .....	27
3.4	Preparo das amostras proteicas para a digestão com tripsina .....	28
3.5	Digestão com tripsina.....	28
3.6	Limpeza e concentra�o das amostras peptídicas .....	29
3.6.a	Preparo das amostras e das Macro Spin Columns <sup>TM</sup> C-18.....	29
3.6.b	Elui�o dos peptídios .....	29
3.7	Marca�o dos peptídeos .....	30
3.8	Limpeza e pr�-fracionamento das amostras peptídicas após a marca�o .....	31
3.9	Cromatografia líquida acoplada � espectrometria de massa (LC-MS/MS) .....	32
3.10	Análise dos dados obtidos na espectrometria de massas .....	33
3.10.a	A análise quantitativa da expressão de proteínas.....	34
3.10.b	Exemplo de compara�es da abundância de uma proteína.....	35
3.10.c	Fluxograma da análise de dados .....	36
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	38
4.1	Considera�es sobre a inferência peptídeo-proteína.....	38
4.2	Modifica�es na abundância de proteínas do proteoma de folhas de <i>D. insularis</i> em resposta � aplica�o de glyphosate e possíveis mecanismos NTS de resistência .....	40
5	CONCLUSÕES .....	55

6	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	56
---	----------------------------------	----

## Índice de figuras

Figura 1.	Estrutura da molécula do glyphosate e seus grupos funcionais. Extraído de Jayasumana et al. (2014).....	5
Figura 2	Esquema da rota metabólica do ácido chiquímico para a produção de aminoácidos aromáticos, extraído de Helander et al. (2012).....	6
Figura 3	Representação dos aminoácidos e da ligação peptídica .....	14
Figura 4	Diagrama mostrando os componentes químicos da marcação isobárica de peptídeos, adaptado de Ross et al. (2004).....	15
Figura 5	Representação do local de coleta do biótipo resistente ao glyphosate em Maringá-PR (vermelho) e do biótipo suscetível em Paranavaí-PR (verde).....	20
Figura 6	Semeadura do biótipo de <i>D. insularis</i> resistente ao glyphosate antes de ser adicionada uma camada de 1 cm de substrato. ....	21
Figura 7	Plantas de <i>D. insularis</i> no dia da aplicação de glyphosate. À esquerda estão os vasos do biótipo susceptível e à direita os do biótipo resistente ao glyphosate.....	22
Figura 8	Foto mostrando o primeiro nó do colmo da planta mãe de <i>Digitaria insularis</i> em uma planta de 4 perfilhos .....	22
Figura 9	Plantas de <i>D. insularis</i> 30 dias após da aplicação de glyphosate. À esquerda o biótipo susceptível e à direita o biótipo resistente ao glyphosate .....	24
Figura 10	Resumo das etapas do processo de extração de proteínas das folhas de <i>Digitaria insularis</i> descrito no protocolo de Wu et al. (2014).....	27
Figura 11	Ilustração da Macro Spin Columns™ C-18 utilizada na fase reversa. ....	29
Figura 12	Ilustração das comparações realizadas na análise quantitativa da expressão de proteínas na folha de dois biótipos de <i>D. insularis</i> (resistente e suscetível), antes e depois da aplicação de glyphosate (0 e 72 horas depois).....	34
Figura 13	Fluxograma simplificado das análises proteômicas realizadas no Pattern Lab 4.0 (verde) e sistematicamente no EXCEL (amarelo). ....	37
Figura 14	Visão geral de vias metabólicas isoprenóides localizadas no citosol e cloroplasto em plantas, com ênfase sobre o metabolismo das clorofilas e carotenoides. Extraído de Laule et al. (2003) .....	53

## Índice de tabelas

Tabela 1	Descrição das condições biológicas (tratamentos avaliados) e sua nomenclatura abreviada. ....	24
Tabela 2	Descrição dos agrupamentos (sets) após a marcação com iTRAQ. ....	31
Tabela 3	Esquema das amostras após o fracionamento de cada set. ....	32
Tabela 4	Descrição das proteínas que apresentaram variação superiores a 50% na sua abundância relativa em alguma das comparações realizadas. ....	42

## RESUMO

GEMELLI, A., M.Sc. Universidade Estadual de Maringá (UEM), fevereiro de 2017, **Análise proteômica quantitativa de *Digitaria insularis* suscetível e resistente ao glyphosate**. Orientador: Prof. Dr. Rubem Silvério de Oliveira Jr.; Co-orientador: Prof. Dr. Jamil Constantin.

O capim-amargoso (*Digitaria insularis*) é uma gramínea perene, rizomatosa, com alta capacidade de rebrota, formadora de touceiras e, nas condições brasileiras, suas sementes germinam o ano todo. Desde o surgimento dos primeiros casos de resistência desta planta daninha ao herbicida glyphosate em 2005, biótipos de capim-amargoso resistentes ao glyphosate têm se disseminado por inúmeras áreas de produção agrícola brasileira. Os principais herbicidas utilizados atualmente para o controle dos biótipos resistentes pertencem ao grupo dos herbicidas inibidores da ACCase. A crescente área infestada por capim-amargoso aliada ao uso contínuo e em doses cada vez mais altas dos inibidores da ACCase elevam as chances de ocorrência de biótipos com resistência múltipla (EPSPS e ACCase). Esse cenário seria a base para a criação de um problema sem precedentes no manejo de plantas daninhas no Brasil, podendo inviabilizar o controle destas populações em pós-emergência em boa parte da área de plantio direto de grãos no Brasil. Assim, este trabalho objetivou a identificação das proteínas presentes no proteoma das folhas de *Digitaria insularis*, resistente e suscetível ao glyphosate por meio da espectrometria de massas (LC-MS/MS) e a sua abundância de forma precisa, utilizando marcadores isobáricos (iTRAQ), em resposta ao estresse causado por glyphosate. Assim como, analisar diferença quantitativa entre o proteoma do biótipo susceptível e do resistente com o intuito de observar as vias metabólicas alteradas pela ação do glyphosate e avaliar os possíveis mecanismos fisiológicos que possam afetar a resposta desta planta daninha a outros herbicidas, como os inibidores da ACCase. As vias metabólicas alteradas observadas neste trabalho e que estão relacionados à resistência de *D. insularis* são associadas à proteção do aparato fotossintético contra a produção de espécies reativas de oxigênio (ROS), geradas pela ação direta, indireta, individual ou conjunta do glyphosate e seus metabólitos. As proteínas associadas à mitigação dos efeitos das ROS de forma direta são: a S-adenosil-L-metionina:fosfoetanolamina-N-metiltransferase (PEAMT), na manutenção do equilíbrio osmótico celular; as fibrilinas, na proteção das membranas do tilacóide; e a geranilgeranil pirofosfato sintetase (GGPS), enzima chave na rota de síntese de pigmentos fotossintéticos responsáveis pela captação de luz e dissipação do excesso energético. Adicionalmente, de forma indireta tem-se a ação de lipoxigenases (LOX) na

## RESUMO

GEMELLI, A., M.Sc. Universidade Estadual de Maringá (UEM), fevereiro de 2017, **Análise proteômica quantitativa de *Digitaria insularis* suscetível e resistente ao glyphosate**. Orientador: Prof. Dr. Rubem Silvério de Oliveira Jr.; Co-orientador: Prof. Dr. Jamil Constantin.

O capim-amargoso (*Digitaria insularis*) é uma gramínea perene, rizomatosa, com alta capacidade de rebrota, formadora de touceiras e, nas condições brasileiras, suas sementes germinam o ano todo. Desde o surgimento dos primeiros casos de resistência desta planta daninha ao herbicida glyphosate em 2005, biótipos de capim-amargoso resistentes ao glyphosate têm se disseminado por inúmeras áreas de produção agrícola brasileira. Os principais herbicidas utilizados atualmente para o controle dos biótipos resistentes pertencem ao grupo dos herbicidas inibidores da ACCase. A crescente área infestada por capim-amargoso aliada ao uso contínuo e em doses cada vez mais altas dos inibidores da ACCase elevam as chances de ocorrência de biótipos com resistência múltipla (EPSPS e ACCase). Esse cenário seria a base para a criação de um problema sem precedentes no manejo de plantas daninhas no Brasil, podendo inviabilizar o controle destas populações em pós-emergência em boa parte da área de plantio direto de grãos no Brasil. Assim, este trabalho objetivou a identificação das proteínas presentes no proteoma das folhas de *Digitaria insularis*, resistente e suscetível ao glyphosate por meio da espectrometria de massas (LC-MS/MS) e a sua abundância de forma precisa, utilizando marcadores isobáricos (iTRAQ), em resposta ao estresse causado por glyphosate. Assim como, analisar diferença quantitativa entre o proteoma do biótipo susceptível e do resistente com o intuito de observar as vias metabólicas alteradas pela ação do glyphosate e avaliar os possíveis mecanismos fisiológicos que possam afetar a resposta desta planta daninha a outros herbicidas, como os inibidores da ACCase. As vias metabólicas alteradas observadas neste trabalho e que estão relacionados à resistência de *D. insularis* são associadas à proteção do aparato fotossintético contra a produção de espécies reativas de oxigênio (ROS), geradas pela ação direta, indireta, individual ou conjunta do glyphosate e seus metabólitos. As proteínas associadas à mitigação dos efeitos das ROS de forma direta são: a S-adenosil-L-metionina:fosfoetanolamina-N-metiltransferase (PEAMT), na manutenção do equilíbrio osmótico celular; as fibrilinas, na proteção das membranas do tilacóide; e a geranilgeranil pirofosfato sintetase (GGPS), enzima chave na rota de síntese de pigmentos fotossintéticos responsáveis pela captação de luz e dissipação do excesso energético. Adicionalmente, de forma indireta tem-se a ação de lipoxigenases (LOX) na

síntese de sinalizadores celulares, como o ácido jasmônico (JA), ou proteínas reguladas por estes sinalizadores, como as proteínas de armazenamento vegetativo (VSP), que fornecem aminoácidos para a síntese de proteínas. A GGPS deve ser alvo de futuros estudos em *D. insularis* resistente porque vários herbicidas do grupo dos inibidores da síntese de carotenoides atuam em diferentes pontos da mesma via metabólica que a GGPS pertence. Desta forma, é possível que biótipos resistentes de *D. insularis* apresentem respostas diferentes dos suscetíveis em relação à aplicação dos inibidores da síntese de carotenoides.

**Palavras-chave:** capim-amargoso, iTRAQ, estresse oxidativo, herbicida, EPSPS



## ABSTRACT

GEMELLI, A., M.Sc., Maringá State University (UEM), February 2017. **Quantitative proteomic analysis of *Digitaria insularis* susceptible and resistant to glyphosate.** Adviser: Prof. Dr. Rubem Silvério de Oliveira Júnior; Co-adviser: Dr. Jamil Constantin.

Sourgrass (*Digitaria insularis*) is a perennial, rhizomatous grass with high regrowth capacity by its tussocks and under Brazilian conditions, its seeds germinate throughout the year. Since the first cases of this weed resistance to glyphosate in 2005, glyphosate-resistant sourgrass biotypes have spread to numerous Brazilian agricultural production areas. The main herbicides currently used to control resistant biotypes belong to ACCase inhibitor herbicides. The increasing area infested by sourgrass combined with continuous use and at increasing doses of ACCase inhibitors raises the chances of occurrence of biotypes with multiple resistance (EPSPS and ACCase). This scenario would be the basis for the creation of an unprecedented problem in weed management in Brazil, which could make it impossible to control in post-emergence of these populations in large part of the no-tillage area in Brazil. Thus, this work aimed to identify the proteins present in the proteome of *Digitaria insularis* leaves, resistant and susceptible to glyphosate, by mass spectrometry (LC-MS/MS) and its abundance accurately, using isobaric markers (iTRAQ), in response to stress caused by glyphosate. As well as, to analyze the quantitative difference between the proteome of the susceptible and resistant biotypes in order to observe the metabolic pathways altered by the action of glyphosate and to evaluate the possible physiological mechanisms that may affect the response of this weed to other herbicides, like the ACCase inhibitors. The altered metabolic pathways observed in this work related to the resistance of *D. insularis*, are associated with the protection of the photosynthetic apparatus against the production of reactive oxygen species (ROS), generated by the direct, indirect, individual or joint action of glyphosate and its metabolites. The proteins directly associated to ROS effects mitigation are: the S-methionine:phosphoethanolamine-N-methyltransferase (PEAMT), on the maintenance of osmotic cellular balance; the fibrilins, in thylakoid membranes protection; and the geranylgeranyl pyrophosphate synthetase (GGPS), a key enzyme in the photosynthetic pigments synthesis pathway, which are responsible for light capture and energetic excess dissipation. In addition, the action of lipoxygenases (LOX) on cellular signals synthesis, such as jasmonic acid (JA), or proteins regulated by these signals, for instance the vegetative storage proteins (VSP), which provide amino acids for protein synthesis. The GGPS should be the subject of future studies with resistant *D. insularis*, because several

herbicides of the carotenoids synthesis inhibitors group act at different points of the same metabolic pathway that the GGPS belongs. In this way, it is possible that resistant *D. insularis* biotypes present different responses compared to susceptible ones in relation to the application of carotenoid synthesis inhibitors.

**Keywords:** Sourgrass, iTRAQ, oxidative stress, herbicide, EPSPS

# 1 INTRODUÇÃO

O estudo da resistência de plantas daninhas a herbicidas é um assunto em ascensão dentro da ciência das plantas daninhas. Esta área do conhecimento é considerada como multidisciplinar, requerendo conhecimento integrado sobre edafologia, fitotecnia, fisiologia, estatística, fitopatologia e, atualmente, para o estudo da resistência também são necessários conhecimentos sobre genômica, transcriptômica, proteômica e metabolômica de plantas. Isso porque, os problemas que os cientistas das plantas daninhas enfrentam ficam mais complexos a cada dia, necessitando imperativamente de estudos mais elaborados contendo uma abordagem mais ampla e complexa sobre estes fenômenos biológicos.

No início dos estudos sobre as causas da resistência em plantas daninhas, a abordagem genômica era considerada suficiente para explicá-la. Mutações na enzima alvo dos herbicidas eram consideradas como mecanismo majoritário e primordial da sobrevivência dos biótipos resistentes. De modo geral, os mecanismos de resistência relacionados ao sítio de ação do herbicida são chamados de mecanismos *target-site* (TS). No entanto, outros mecanismos, chamados de *non-target-site* (NTS) por não serem relacionados diretamente ao sítio de ação do herbicida, são atualmente o maior desafio da ciência das plantas daninhas. Já é inclusive aceita a hipótese de que os mecanismos NTS contribuam para a resistência mesmo em biótipos onde já foram identificados mecanismos TS.

O posto-chave em relação aos mecanismos NTS é justamente o fato de eles não serem relacionados estritamente com o sítio de ação do herbicida. Isto implica no fato que o mesmo mecanismo que confere resistência a um determinado herbicida em um biótipo de planta daninha, também pode conferir maior tolerância ou resistência a herbicidas pertencentes a outros grupos químicos (resistência cruzada) ou mecanismos de ação (resistência múltipla). Ou seja, o mecanismo que confere resistência à um herbicida que é frequentemente aplicado nas lavouras, também poderá afetar o desempenho do herbicida alternativo, mesmo que este nunca tenha sido utilizado naquela população de plantas daninhas. Além disso, é possível que estes mecanismos NTS de resistência estejam atrelados aos mecanismos gerais de resistência das plantas a estresses bióticos ou abióticos.

O fato que aumenta a dificuldade do estudo dos mecanismos NTS consiste no ainda incipiente conhecimento dos pesquisadores das plantas daninhas sobre as bases

fisiológicas e bioquímicas destes mecanismos, ou seja, muitas abordagens metodológicas para a elucidação destas bases ainda são incertas e exploratórias, embora imprescindíveis para o direcionamento de estudos nesta área no futuro.

Dentro deste contexto, temos o capim-amargoso (*Digitaria insularis*), uma gramínea perene adaptada a uma ampla gama de ecossistemas, o qual é, um problema agrícola essencialmente latino-americano, principalmente para o Brasil, Paraguai e Argentina. A resistência de biótipos desta espécie ao glyphosate é um problema que tem se disseminado rapidamente pelas áreas agrícolas de todo o Brasil desde o relato dos primeiros casos.

Para *D. insularis* já foram relatados mecanismos TS e NTS de resistência, contudo as bases bioquímicas para estes mecanismos ainda não foram completamente elucidadas. Tendo em vista que o controle químico alternativo desta espécie é realizado essencialmente com os herbicidas inibidores da ACCase, é necessário avaliar as chances dos mecanismos NTS de resistência ao glyphosate também afetarem a ação destes herbicidas.

Desta forma, a identificação das proteínas presentes no proteoma das folhas de *Digitaria insularis*, resistente e suscetível ao glyphosate por meio da espectrometria de massas e a sua quantificação precisa, utilizando marcadores isobáricos (iTRAQ), pode auxiliar muitíssimo para o maior entendimento das vias metabólicas alteradas em cada biótipo em relação ao glyphosate. Esse conhecimento mais amplo sobre o comportamento destes biótipos poderia dar, aos pesquisadores da ciência das plantas daninhas, informações valiosas para auxiliar na mitigação dos problemas atuais com a resistência de *D. insularis* ao glyphosate, assim como, na previsão de futuros casos de resistência desta planta daninha a outros herbicidas, como os inibidores da ACCase.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 As plantas daninhas e a seleção de biótipos resistentes

As plantas daninhas intervêm de forma negativa e direta na produção agrícola, competindo pelos recursos limitantes do ambiente, principalmente água, luz e nutrientes (Agostinetto et al., 2008; Carvalho et al., 2013), e indiretamente liberando substâncias alelopáticas (Mehmood et al., 2014; Safdar et al., 2014), atuando como hospedeiras de pragas (Braz et al., 2016) e doenças (Sales Junior et al., 2012) e dificultando a colheita (Ghamari, 2015). A sua interferência acarreta reduções na produtividade das culturas. A intensidade da perda de produtividade depende de fatores como a cultivar (Trezzi et al., 2013), espécie de planta daninha (Voll et al., 2002), período de convivência e espaçamento da cultura (Raimondi et al., 2014).

A facilidade e rapidez para a utilização de herbicidas, assim como a economia nos custos em relação ao controle mecânico e manual e a confiabilidade nos resultados, proporcionou mudanças no sistema produtivo de muitas culturas (Oerke, 2005). Métodos de manejo de plantas daninhas sem o uso de herbicidas podem atingir patamar de eficácia similar ao dos métodos químicos. Entretanto, isto só é possível combinando múltiplas estratégias, sendo muitas delas altamente trabalhosas e caras quando comparadas com a aplicação de herbicidas (Bastiaans et al., 2008). Esta mudança foi tão intensa que, atualmente, pode-se considerar que o manejo das plantas daninhas em grandes culturas depende basicamente da utilização de herbicidas.

Esta dependência selecionou e continua selecionando, biótipos resistentes à herbicidas de diversas espécies de plantas daninhas, dada a grande pressão de seleção imposta por esta prática (Tranel e Wright, 2002; Délye et al., 2013). Os organismos, plantas daninhas, insetos, nematoides e patógenos se adaptam a todas as táticas de controle usadas na agricultura e infelizmente os agricultores não realizam medidas para identificar e combater estes problemas de maneira proativa. Medidas de combate a estes organismos só são realizadas quando eles já causaram uma perda econômica consistente (Owen et al., 2015).

A seleção de indivíduos mais adaptados sob a ação de uma pressão de seleção, seja ela química (ex: aplicação de herbicida) ou de manejo (ex: plantio direto na palha), é um processo evolutivo e ecológico governado por diversos fatores (Renton et al., 2014). Surgimentos de biótipos resistentes de plantas daninhas ou mudanças na comunidade infestante são inevitáveis, ou seja, são consequências intrínsecas da pressão de seleção

## 2.7 OBJETIVOS

### 2.7.a Geral

O objetivo do presente estudo é determinar as diferenças no proteoma das folhas de dois biótipos de *D. insularis*, um resistente e outro suscetível ao glyphosate, utilizando a proteômica quantitativa.

### 2.7.b Específicos

- Realizar a identificação do proteoma de folhas de dois biótipos de *D. insularis*, um resistente e outro suscetível ao glyphosate utilizando a espectrometria de massas (LC-MS/MS) com abordagem *bottom-up*.
- Comparar o proteoma do biótipo de *D. insularis* resistente ao glyphosate com o biótipo suscetível em duas condições biológicas, antes (0 hora) e após (72 horas) a aplicação do glyphosate, utilizando metodologia quantitativa baseada em marcação isobárica iTRAQ (*Isobaric Tag for Relative and Absolute Quantitation*) para a quantificação relativa das proteínas.
- Avaliar as vias metabólicas alteradas e propor possíveis mecanismos fisiológicos que possam estar relacionados com a resistência de *D. insularis* ao glyphosate. Assim como, levantar possíveis implicações destas vias sobre a ação de outros herbicidas, como os inibidores da ACCase.

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

O biótipo de *D. insularis* resistente ao glyphosate selecionado para esta pesquisa já foi caracterizado por Gemelli (2013). Este biótipo, cujas sementes foram coletadas em área agrícola no município de Maringá-PR (23°28'18.71"S e 51°59'56.28"O), apresentou fator de resistência (FR) de 6,2 para plantas em estágio de pré-florescimento. As doses calculadas para redução do desenvolvimento (RD) em 50% e 95% foram de 1.450 g e.a. ha<sup>-1</sup> (RD50) e 14.434 g e.a. ha<sup>-1</sup> (RD95), respectivamente (Gemelli, 2013). Por sua vez, o biótipo suscetível foi coletado no município de Paranavaí (23°05'46"S e 52°27'14"O). Este biótipo apresenta alta susceptibilidade ao glyphosate, comprovados por seu RD50 e RD95, de 150 g e.a. ha<sup>-1</sup> e 660 g e.a. ha<sup>-1</sup> respectivamente. A distância geográfica entre a localização dos biótipos está ilustrada na Figura 5.

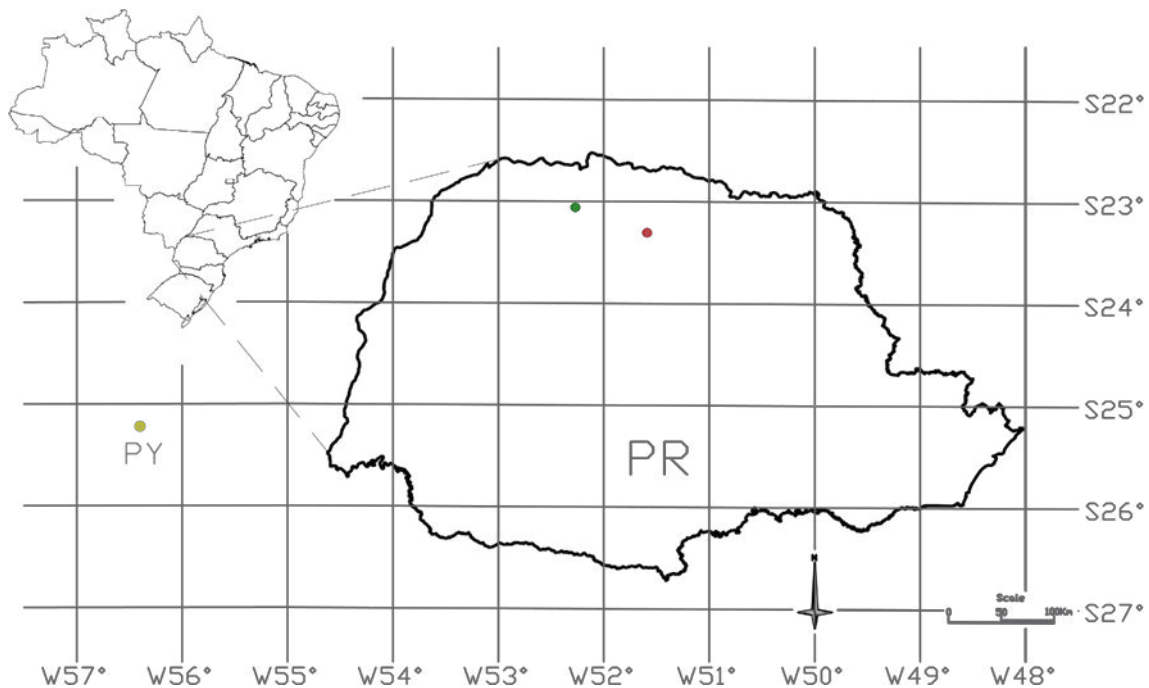


Figura 5 Representação do local de coleta do biótipo resistente ao glyphosate em Maringá-PR (vermelho) e do biótipo suscetível em Paranavaí-PR (verde).

À luz das informações discutidas no item 2.6, principalmente com relação a baixíssima frequência do biótipo suscetível na mesma área do biótipo resistente, o biótipo suscetível foi escolhido a partir de um trabalho de mapeamento de casos de resistência (Lopez-Ovejero et al., 2017). Dentre os pouquíssimos biótipos suscetíveis encontrados dentro do estado do Paraná, foi escolhido o biótipo de Paranavaí, por apresentar a menor distância geográfica de Maringá dentre os possíveis candidatos.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Considerações sobre a inferência peptídeo-proteína

A abordagem *bottom-up* ou *shotgun* não permite o sequenciamento das proteínas estudadas, ela identifica as proteínas do banco de dados a partir do reconhecimento dos peptídeos trípticos que as compõem. As sequências destes peptídeos são confirmadas por meio das comparações entre os espectros de MS<sup>2</sup> experimentais e os teóricos gerados a partir do banco de dados. Por este motivo, temos alta confiança na sequência de aminoácidos dos peptídeos, porém, a confiança sobre a identificação de uma proteína aumenta com o maior número de peptídeos identificados, o que é geralmente chamado de cobertura da proteína.

Na aquisição dos dados foram obtidos mais de dois milhões de espectros de MS<sup>2</sup> em cada repetição biológica, sendo que cada espectro representa um peptídeo. Estes espectros foram comparados com os espectros do banco de dados *target-decoy* e agrupados segundo suas proteínas de origem e geraram a identificação mais de 1.500 proteínas. Nenhuma das proteínas diferentemente expressas na comparação VS<sub>4</sub> foi observada em mais de uma repetição, indicando similaridade entre os biótipos na ausência do glyphosate, por isso, as informações relativas à esta comparação foram omitidas.

Na identificação das proteínas o pesquisador pode considerar somente aquelas que possuem peptídeos únicos, tal como realizado no trabalho de Yang et al. (2016). Peptídeos únicos são aqueles que aparecem apenas uma vez no banco de dados, ou seja, este peptídeo só está presente em uma proteína em todo o banco de dados utilizado. Quando a pesquisa é realizada com plantas daninhas, cujo genoma ainda não foi sequenciado, como é o caso deste trabalho e o de Yang et al. (2016), o pesquisador precisa usar um banco de dados de espécies filogeneticamente próximas, tal como previsto por Zhang e Riechers (2008).

Neste trabalho e no de Yang et al. (2016) estudando capim-arroz (*Echinochloa crus-galli* L) foi utilizado o banco de dados da família Poaceae. O banco de dados utilizados no trabalho com capim-arroz continha 675.766 entradas (julho de 2014), quantidade semelhante a utilizada neste trabalho (discutido no item 3.10). Entretanto, atualmente o banco de dados da família Poaceae apresenta 1.309.456 entradas. Isso é uma quantidade gigantesca, mesmo quando comparado ao banco de dados espécies muito estudadas como o milho (85.545) e arroz (122.944). As informações sobre o banco de dados foram retiradas de The UniProt Consortium (2015).

Todas estas informações demonstram que há muita redundância dentro do banco de dados da família Poacea, porque além das várias entradas sobre a mesma proteína dentro de



## 5 CONCLUSÕES

Os mecanismos *non-target-site* (NTS) relacionados à resistência de *Digitaria insularis* propostos neste trabalho estão associados à proteção do aparato fotossintético e membranas em geral contra a produção de espécies reativas de oxigênio (ROS), geradas pela ação direta, indireta, individual ou conjunta do glyphosate e seus metabólitos.

As proteínas com abundância alterada, que estão associados à mitigação dos efeitos das ROS de forma direta são: a S-adenosil-L-metionina:fosfoetanolamina-N-metiltransferase (PEAMT) que atua na manutenção do equilíbrio osmótico celular, as fibrilinas que exercem proteção das membranas do tilacóide, a geranilgeranil pirofosfato sintetase (GGPS), enzima chave na rota de síntese de pigmentos fotossintéticos responsáveis pela captação de luz e dissipação do excesso energético.

De forma indireta, tem-se a ação de lipoxigenases (LOX) na síntese de sinalizadores celulares, como o ácido jasmônico (JA), ou proteínas reguladas por estes sinalizadores, como as proteínas de armazenamento vegetativo (VSP), que fornecem aminoácidos para a síntese de proteínas.

A GGPS deve ser alvo de futuros estudos em *D. insularis* resistente porque vários herbicidas inibidores da síntese de carotenoides atuam em diferentes pontos da mesma via metabólica que a GGPS pertence. Desta forma é possível que biótipos resistentes de *D. insularis* apresentem respostas diferentes dos suscetíveis em relação à aplicação dos herbicidas inibidores da síntese de carotenoides.

## 9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALFONSI, R.R. et al. Condições climáticas para cana-de-açúcar In: PARANHOS, S.B. (Coord.). **Cana-de-açúcar: Cultivo e Utilização**. Campinas: Fundação Cargill, 1987. v. I, p.42-55.

ALLETO, L. et al. Tillage management effects on pesticides fate in soil. A review. **Agronomy for Sustainable Development**, v.30, p. 367-400, 2009.

ALMEIDA, H. A. **Probabilidade de ocorrência de chuva no Sudeste da Bahia**. Ilhéus, CEPLAC/CEPEC. Boletim Técnico n. 182, 32p., 2001.

ALVAREZ, I.A.; CASTRO, P.R.C.; NOGUEIRA, M.C.S. Crescimento de raízes de cana crua e queimada em dois ciclos. **Scientia Agricola**, v.57, n.4, p.653-659, 2000.

AZANIA, C.A.M. **Comparação de métodos para determinar a seletividade de herbicidas na cultura da cana-de-açúcar**. 2004. 116f. Tese (Doutorado em Agronomia / Proteção de Plantas) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Campus de Jaboticabal, 2004.

AZANIA, C.A.M. et al. Manejo químico de convolvulaceae e euphorbiaceae em cana de açúcar em período de estiagem. **Planta Daninha**, v. 27, n. 4, p. 841-848, 2009.

BARBIERI, V.; VILLA NOVA, N.A. **Climatologia e a cana-de-açúcar**. In: PLANALSUCAR – Coordenadoria Regional Sul – COSUL, Araras, 1977. p.1-22.

BARBOSA, M.H.P.; SILVEIRA, L.C.I. Cana-de-açúcar: variedades, estabelecimento e manejo. In: Simpósio sobre manejo estratégico de pastagem. Viçosa. **Anais...** Viçosa: UFV, 2006. p. 245-276.

BARELA, J.F. **Seletividade de herbicidas para a cultura da cana-de-açúcar (*Saccharum spp.*) afetada pela interação com nematicidas aplicados no plantio**. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2005.

BARELA, J.F.; CHRISTOFFOLETI, P.J. Seletividade de herbicidas aplicados em pré-emergência da cultura da cana-de-açúcar (RB 867515) tratada com nematicidas. **Planta Daninha**, v.24, p.371-378, 2006.

BLACKBURN, F. **Sugar-cane**. Longman: New York. 1984. 414 p.

CAMARGO, M.B.P.; CAMARGO, A.P. Representação gráfica informatizada do extrato do balanço hídrico de Thornthwaite & Mather. **Bragantia**, v.52, p.169-72, 1993.

CARVALHO, J.C. Mecanismo de ação dos herbicidas e sua relação com a resistência a herbicidas. In: CHRISTOFFOLETI, P.J.; LÓPEZ-OVEJERO, R.F.; CARVALHO, J.C.

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
DEPARTAMENTO DE AGRONOMIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

RAFAELA WATANABE

Impactos de sistemas de manejo na qualidade estrutural e física em Latossolos  
Vermelhos

MARINGÁ

2017

RAFAELA WATANABE

Impactos de sistemas de manejo na qualidade estrutural e física em Latossolos  
Vermelhos

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia do Departamento de Agronomia, Centro de Ciências Agrárias da Universidade Estadual de Maringá, como requisito parcial para obtenção do título de Doutor em Agronomia.

Área de concentração: Solos e Nutrição de Plantas.

Orientador: Prof. Dr. Cássio Antonio Tormena.

MARINGÁ

2017

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)  
(Biblioteca Central - UEM, Maringá – PR, Brasil)

W324i Watanabe, Rafaela  
Impactos de sistemas de manejo na qualidade estrutural e física em latossolos vermelhos / Rafaela Watanabe. -- Maringá, PR, 2017.  
ix, 92 f.: il. (algumas color.)

Orientador: Prof. Dr. Cássio Antonio Tormena.  
Tese (doutorado) - Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências Agrárias, Departamento de Agronomia, Programa de Pós-Graduação em Agronomia, 2017.

1. Solos - Qualidade física. 2. Intervalo hídrico ótimo. 3. Latossolos vermelho. I. Tormena, Cássio Antonio, orient. II. Universidade Estadual de Maringá. Centro de Ciências Agrárias. Departamento de Agronomia. Programa de Pós-Graduação em Agronomia. III. Título.

CDD 23.ed. 631.43

MRPB-003623

RAFAELA WATANABE

**IMPACTOS DE SISTEMAS DE MANEJO NA QUALIDADE ESTRUTURAL E  
FÍSICA EM LATOSSOLOS VERMELHOS**

Tese apresentada à Universidade Estadual de Maringá, como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Agronomia, na Área de Concentração em Solos e Nutrição de Plantas, para obtenção do título de Doutor.

APROVADA em 22 de março de 2017.

Prof. Dr. **Cássio Antonio Tormena**  
Presidente

---

Prof. Dr. **Antonio Carlos Andrade Gonçalves**  
Membro

---

Pesq. Dr. **Henrique Debiasi**  
Membro

---

Prof. Dr. **João Tavares Filho**  
Membro

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. **Maria de Fátima Guimarães**  
Membro

---

## DEDICATÓRIA

A Deus pela vida e oportunidades de evoluir.  
Aos meus pais pelo incentivo a educação,  
pelos valores morais que me ensinaram e  
pelo apoio incondicional em todos esses  
anos. Esse trabalho é nosso.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pela vida, saúde e oportunidades de crescimento.

Agradeço a minha família, meu pai Jorge, minha mãe Cleonice, meus irmãos Marcielly e Marcel.

Agradeço ao Prof. Cássio pelos ensinamentos ao longo dessa caminhada, mas muito mais do que isso, fui privilegiada de aprender com sua postura profissional, valores éticos e morais de elevado nível.

Agradeço ao Getúlio Coutinho Figueiredo e ao Prof. Álvaro Pires da Silva (*in memoriam*) pelos conselhos que me levaram a chegar a este doutorado.

Agradeço aos colegas de laboratório que se tornaram amigos. Obrigado pela ajuda nas coletas, discussões de assuntos científicos e não científicos e pela convivência: Camila Jorge Bernabé Ferreira, Guilherme Anghinoni, Hélio Henrique Soares Franco, Wagner Henrique Moreira, Edner Betioli Jr., Henrique Sasso Favila, Ivan Gabriel Ruiz Scarabelli e Luiz Fernando Kramer; vocês fizeram parte dessa etapa da minha vida.

Agradeço ao técnico de laboratório Reinaldo Bernardo e a secretária do Programa de pós-graduação em Agronomia Érika Sato, pelas conversas, conselhos e pela amizade.

Agradeço aos professores da UEL, Maria de Fátima Guimarães, Ricardo Ralisch, João Tavares Filho, aos pesquisadores Julio Cezar Franchini e Henrique Debiasi pela parceria nesse projeto.

Agradeço a Naira Cuareli de Moura, Giovani Arieira e Márcio Albuquerque pela coleta de parte das amostras.

Agradeço as minhas amigas Laura Mardigan, Rosimar Maria Marques e Juliana Castro, obrigado pelo apoio, pelas conversas e pelos bons momentos.

Agradeço a minhas primas em especial Patricia Kanda e Leticia Murata, e ao Luiz Kanda pelos bons momentos, almoços deliciosos, pelas boas conversas, barzinhos e churrascos. Agradeço também à Edna Murata, Massumi Murata e Hisa Murata pelo acolhimento quando cheguei em Maringá e pelo carinho e cuidado que sempre tiveram.

Agradeço a CAPES e ao Programa de Pós-graduação em Agronomia da UEM pelo auxílio financeiro.



“A menos que modifiquemos a nossa maneira de pensar, não seremos capazes de resolver os problemas causados pela forma como nos acostumamos a ver o mundo”. (Albert Einstein)

## SUMÁRIO

RESUMO .....	vi
ABSTRACT .....	viii
INTRODUÇÃO GERAL .....	1
REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....	3
Manejo e conservação do solo .....	3
Estrutura solo .....	4
Perfil cultural.....	5
Permeabilidade ao ar .....	7
Resistência tênsil de agregados.....	8
Densidade de agregados .....	10
Intervalo hídrico ótimo .....	10
Indicadores de armazenamento de ar e água no solo .....	11
SoilFlex-LLWR (SoilFlex-Least Limiting Water Range ou intervalo hídrico ótimo) 12	
CAPÍTULO 1 PROPRIEDADES FÍSICAS E MECÂNICAS DE AGREGADOS EM DIFERENTES ESTRUTURAS IDENTIFICADAS PELA METODOLOGIA DO PERFIL CULTURAL NUM LATOSSOLO VERMELHO DISTROFÉRRICO .....	14
1.1 INTRODUÇÃO.....	16
1.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	19
1.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	24
1.4 CONCLUSÕES .....	31
CAPÍTULO 2 A QUALIDADE ESTRUTURAL AVALIADA PELO PERFIL CULTURAL PODE SER RELACIONADA COM INDICADORES QUANTITATIVOS DE QUALIDADE FÍSICA DO SOLO? .....	32
2.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	37
2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	41
2.4 CONCLUSÕES.....	52

CAPÍTULO 3 EFEITOS RESIDUAIS DA ESCARIFICAÇÃO E DO CULTIVO DA BRAQUIÁRIA NA QUALIDADE FÍSICA DE UM LATOSSOLO SOB SISTEMA PLANTIO DIRETO .....	53
3.1 INTRODUÇÃO .....	55
3.2 MATERIAL E MÉTODOS .....	57
3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	61
3.4 CONCLUSÕES .....	74
REFERÊNCIAS .....	75

## RESUMO

WATANABE, R. Universidade Estadual de Maringá (UEM), fevereiro de 2017, **Impactos de sistemas de manejo na qualidade estrutural e física em Latossolos Vermelhos**. Orientador: Prof. Dr. Cássio Antonio Tormena.

Os sistemas de manejo do solo e de culturas promovem alterações na estrutura do solo e conseqüentemente afetam a sua qualidade, a qual pode ser avaliada por meio de indicadores qualitativos e quantitativos. Este trabalho foi elaborado em três capítulos. No primeiro capítulo, o objetivo foi analisar o comportamento físico e mecânico das diferentes unidades morfológicas homogêneas identificadas pelo método do Perfil cultural (MPC) por meio da resistência tênsil e da densidade dos agregados. O estudo foi realizado em um Latossolo sob dois sistemas de manejo conduzidos por longo prazo. Foram avaliados quatro perfis de solo, dois sob plantio direto e dois sob preparo convencional. Foram coletados blocos indeformados nas diferentes unidades morfológicas identificadas pelo MPC para a determinação da resistência tênsil (RT) e densidade de agregados (Dsa). As unidades morfológicas homogêneas descritas como menos restritivas para o desenvolvimento da planta, apresentaram os menores valores de RT e Dsa. O MPC adaptado às condições de solo tropicais foi sensível para detectar mudanças na estrutura do solo causadas pelo manejo. No segundo capítulo, os objetivos do trabalho foram identificar as estruturas do solo por meio do MPC e relacionar estas estruturas com a densidade do solo (Ds), densidade crítica (Dscrit), porosidade de aeração ( $\epsilon_a$ ), intervalo hídrico ótimo (IHO) e permeabilidade do solo ao ar ( $K_a$ ) em diferentes sistemas de manejo de solo e de culturas. O estudo foi desenvolvido num experimento com 24 anos de duração envolvendo dois sistemas de manejo do solo: plantio direto (PD) e preparo convencional com grade pesada (GP) e dois sistemas de manejo cultural: rotação e sucessão de culturas. O MPC foi utilizado para identificar as diferentes unidades morfológicas homogêneas (UMH) no perfil de solo. Foram coletadas amostras indeformadas de solo nas UMHs com maior representatividade nos perfis para a determinação da  $K_a$ , IHO, Ds e  $\epsilon_a$ . Verificou-se concordância entre as UMHs e os indicadores quantitativos. Os resultados indicaram maior Dscrit obtida por meio do IHO no PD comparado com GP. As estruturas caracterizadas como mais restritivas ao desenvolvimento radicular apresentaram menores valores de  $K_a$  e maior resistência do solo a penetração a medida em que ocorre o secamento do solo. Contudo,

o PD apresentou melhor conectividade de poros e estrutura menos restritiva ao desenvolvimento das plantas em condições de maiores valores de  $D_s$ , quando comparado com GP. No capítulo três, o objetivo foi avaliar o efeito da escarificação seguido do cultivo de braquiária na qualidade física e na susceptibilidade à compactação após três safras. Foram avaliados indicadores de armazenamento de ar e água, o intervalo hídrico ótimo e a utilização do modelo *SoilFlex-LLWR* para estimar o efeito residual da escarificação na qualidade física do solo. Alguns efeitos benéficos, tais como aumento da macroporosidade e da capacidade de armazenamento de ar e água persistiram no solo. Por outro lado, a modelagem utilizando o modelo *SoilFlex-LLWR* indicou que nas áreas escarificadas ocorre aumento da susceptibilidade à compactação e, para minimizar o impacto do trânsito de máquinas no solo, o limite de plasticidade do solo e o conteúdo de água no perfil devem ser observados quando realizadas as operações mecanizadas de manejo das lavouras.

**Palavras-chave:** análise visual da estrutura. intervalo hídrico ótimo. *SoilFlex-LLWR*. susceptibilidade à compactação.

## ABSTRACT

WATANABE, R., Maringá State University (UEM), February 2017. **Impact of management systems on structural and physical quality of Oxisols.** Adviser: Prof. Dr. Cássio Antonio Tormena.

Soil and crop management systems promote changes in soil structure and thus affect its quality, which can be assessed through qualitative and quantitative indicators. This research is presented into three chapters. In the first chapter, the aim was to analyze the physical and mechanical behavior of different homogeneous morphological units identified by the Cultural Profile (MPC) measuring the tensile strength (RT) and the aggregate bulk density (Dsa). The study was carried out in an Oxisol under two long-term soil management systems. We evaluated four soil profiles, two under no-tillage and two under conventional tillage. Undisturbed blocks were collected taking into account the different morphological units identified by the Cultural Profile to determine the tensile strength (RT) and aggregate bulk density (Dsa). Homogeneous morphological units described being less restrictive for plant growth and development had lower values for RT and Dsa. The Cultural Profile method adapted to the tropical soil conditions was sensitive to detect changes in soil structure caused by management. In the second chapter, the objectives were to identify the soil structures through the Cultural Profile method and to relate them with the bulk density (Ds), critical soil bulk density (Dscrit), air-filled porosity ( $\epsilon_a$ ), the least limiting water range (IHO) and soil air permeability ( $K_a$ ) for different soil tillage systems and crop rotation. The study was developed in a long-term experiment (24 years duration) involving two soil management systems: no-tillage (PD) and conventional tillage with heavy harrow (GP) and two crop management systems: rotation (R) and crop succession (S). Cultural Profile method was used to identify the different morphological homogeneous units (UMH) in the soil profile. Undisturbed soil samples were collected for each UMH most representative into the soil profiles, which were used for the determination of  $K_a$ , IHO, Ds and  $\epsilon_a$ . The results showed that there was good agreement between the UMH and quantitative indicators. Dscrit obtained through IHO indicated greater values under PD compared to GP. The structures characterized as more restrictive to root development had lower  $K_a$  values and higher soil resistance to penetration. However, PD had a better

pore connectivity and a soil structure less restrictive to the crop development under greater  $D_s$  values in comparison with GP. In the third chapter, the aim was to assess the effects of chiseling followed the cultivation of brachiaria grass on soil physical quality and the soil compaction susceptibility after three crop seasons. Water and air storage indicators, IHO and the SoilFlex-LLWR model were evaluated to estimate the residual effect of chiseling on the soil physical quality. Some beneficial effects, such as increased macroporosity and water storage capacity remained on the soil. SoilFlex-LLWR modelling has demonstrated that under chiseling was verified an increase on susceptibility to compaction. In order to minimize the impact of machine traffic on the soil, the plastic limit should be taken into account during mechanized operation for crop management.

**Keywords:** visual assessment of soil structure. least limiting water range. SoilFlex-LLWR. susceptibility to compaction.

## INTRODUÇÃO GERAL

O uso de tecnologias modernas aumentou a produtividade e a eficiência de produção agrícola. No Brasil, um grande avanço na agricultura ocorreu com a implantação do sistema de plantio direto que mitigou grande parte dos efeitos danosos das elevadas taxas de erosão e reduziu os custos de produção com a diminuição do número de operações motomecanizadas nas áreas. A adoção do plantio direto associado ao desenvolvimento das pesquisas em áreas tais como, melhoramento vegetal, fitotecnia e fertilidade do solo, possibilitaram aumento significativo da produtividade. Contudo, apesar dos inúmeros benefícios ambientais, agronômicos e econômicos do plantio direto, existe grande preocupação com a compactação ocasionada pelo efeito cumulativo do tráfego de máquinas e pelo reduzido revolvimento do solo, que neste caso é realizado apenas na linha de semeadura. Por outro lado, o mínimo revolvimento do solo proporciona benefícios, destacando o acúmulo de carbono, a preservação da estrutura do solo e a maior estabilidade estrutural.

Para mitigar o a compactação do solo, algumas medidas têm sido adotadas como a escarificação mecânica e a rotação de culturas com maior diversidade de espécies vegetais, incluindo plantas com sistema radicular vigoroso capazes de promover a melhoria da estrutura do solo. Frequentemente, a qualidade física do solo é avaliada por meio de indicadores quantitativos, tais como densidade do solo, resistência do solo a penetração, estabilidade de agregados. Mas, nos últimos anos, ocorreu maior disseminação e interesse pelos métodos qualitativos baseados na análise visual da estrutura do solo e conseqüentemente houve aumento de pesquisas sobre este tema. Há evidências que a associação de indicadores de qualidade do solo baseados em métodos qualitativos e quantitativos pode ampliar a nossa compreensão dos efeitos dos sistemas de manejo na estrutura. Nesse contexto, este estudo pretende testar as seguintes hipóteses: *(i)* que as diferenças estruturais identificadas pelo método visual denominado Perfil cultural reflete o comportamento físico do solo frente aos sistemas de manejo de solo e de culturas; *(ii)* a escarificação mecânica do solo associada a inclusão de espécies com sistema radicular vigoroso melhoram a qualidade física do solo sob plantio direto. Os objetivos gerais desse trabalho foram *(i)* relacionar as diferentes estruturas identificadas pelo método do Perfil cultural com indicadores quantitativos de qualidade de solo; e *(ii)* avaliar o efeito da escarificação mecânica associada ao cultivo de plantas



## REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### Manejo e conservação do solo

A conservação e o uso sustentável dos recursos naturais são um dos grandes desafios científicos e socioeconômicos. Estima-se que em 2050 a demanda mundial de cereais será de aproximadamente 3 bilhões de toneladas quando a população mundial já terá atingido 9,15 bilhões de habitantes (Alexandratos e Bruinsma, 2012), de modo que para suprir essa demanda deverá ocorrer um aumento na produção de grãos que hoje é de atualmente 2,1 bilhões de toneladas (FAO, 2015). De acordo com Lapola et al. (2014), o Brasil irá contribuir com uma grande fração na produção de alimentos devido ao seu potencial em aumentar a produção e a disponibilidade de terras para a expansão das áreas agrícolas. Para alcançar o aumento da produção agrícola serão necessárias melhorias nas tecnologias de produção e no uso de práticas agrícolas que possibilitem a preservação da qualidade do solo diante da intensificação do uso da terra. Dentro desse contexto, preservar a qualidade do solo é essencial para alcançar a produção necessária para suprir a demanda crescente de grãos.

Os sistemas de manejos do solo são temas de pesquisa a serem explorados para a busca de aumento da produtividade devido a influência que exercem nas alterações das propriedades físicas, químicas e biológicas do solo. O manejo inadequado do solo reduz a sua capacidade produtiva devido as consequências negativas como a degradação da estrutura do solo, erosão, compactação, redução dos estoques de carbono e perdas de nutrientes. Toda conversão de áreas sob vegetação nativa para uso agrícola altera as propriedades do solo, cuja magnitude dependerá da resiliência do solo e das práticas de manejo adotadas. Seben Junior et al. (2014) relataram que a conversão de vegetação natural em áreas de cultivo e a intensificação do manejo alteram negativamente a qualidade do solo resultando em menor diâmetro médio geométrico de agregados e da porcentagem de agregados estáveis em água, apesar de que a adoção de SPD resultou na melhoria da agregação e da estabilidade estrutural do solo. A inclusão de plantas forrageiras no sistema de rotação pode promover melhorias na estrutura do solo e na ciclagem de nutrientes. Por exemplo, Silva et al. (2014c) demonstraram que o cultivo de *Urochloa brizantha* no período de entressafra resultou no aumento da retenção de água no perfil de solo.

Práticas adotadas no preparo convencional do solo, como revolvimento e inversão das camadas, resultam na perda da estabilidade da estrutura do solo,

## CAPÍTULO 1

### PROPRIEDADES FÍSICAS E MECÂNICAS DE AGREGADOS EM DIFERENTES ESTRUTURAS IDENTIFICADAS PELA METODOLOGIA DO PERFIL CULTURAL NUM LATOSSOLO VERMELHO DISTROFÉRRICO

#### RESUMO

A hipótese da pesquisa foi de que as estruturas identificadas pela metodologia do perfil cultural (MPC) são relacionadas com o comportamento físico e mecânico dos seus agregados do solo. Portanto, o objetivo foi analisar o comportamento físico e mecânico das diferentes unidades morfológicas homogêneas identificadas pela MPC por meio da quantificação da resistência tênsil e da densidade dos agregados. O estudo foi realizado em um Latossolo sob dois sistemas de manejo de longo prazo (24 anos). Foram avaliados quatro perfis de solo a 50 cm de profundidade, dois sob sistema de plantio direto (SPD) e dois sob preparo convencional (PC). Foram coletados blocos indeformados de solo para as diferentes unidades morfológicas identificadas pelo Perfil Cultural, dos quais 40 agregados foram separados para determinar a resistência tênsil e 10 agregados para quantificar a densidade do solo. As médias foram comparadas utilizando-se o intervalo de confiança ( $P < 0,05$ ). A resistência tênsil e a densidade dos agregados foram relacionadas com as diferentes unidades morfológicas identificadas no perfil. As unidades morfológicas homogêneas descritas como menos restritivas para o desenvolvimento da planta, como Bw (não alterada pelo manejo), L (livre) e  $F_{pt\mu\Delta} + TF$  (fissurada, pequenos torrões com sinais de compactação e partículas individualizadas) apresentaram menores valores de resistência tênsil e de densidade. As estruturas identificadas pela metodologia do perfil cultural apresentaram condições estruturais compatíveis com medidas quantitativas da densidade e da resistência tênsil de agregados.

**Palavras-chave:** densidade de agregados, resistência tênsil, morfologia do solo, análise visual da estrutura do solo

**ABSTRACT: SOIL PHYSICAL AND MECHANICAL PROPERTIES OF AGGREGATES IN DIFFERENT STRUCTURES IDENTIFIED BY CULTURAL PROFILE METHOD IN A TROPICAL SOIL**

This research hypothesized that the structures identified by the Cultural Profile method are related to physical and mechanical behavior of their soil aggregates. Therefore, the objective was to analyze the physical and mechanical behavior of different morphological units identified by Cultural Profile through aggregate tensile strength (TS) and bulk density of aggregates. The study was carried out in an Oxisol under long-term two management systems. Four soil profiles were evaluated, two under no-tillage and two under conventional tillage down to 50 cm depth. Undisturbed blocks were taken for different morphological units identified by Cultural Profile, from which 40 aggregates were separated to determine the tensile strength and 10 aggregates to measure bulk density. Means were compared using the confidence interval ( $P < 0.05$ ). We found that the tensile strength and aggregate bulk density were directly related to the different morphological units identified in the profile. Morphological units described as less detrimental to plant development as Bw (not altered by management), L (loose soil) and Fpt $\mu$  $\Delta$ +TF (cracked, small clods with compaction and individualized particles) had lower tensile strength and bulk density values. The Cultural Profile method adapted to tropical soil conditions was sensitive to detect changes in soil structure caused by management.

**Keywords:** aggregate bulk density, tensile strength, soil morphology, visual analysis of soil structure

## 1.1 INTRODUÇÃO

A adoção de distintas práticas de uso e manejo pode modificar a capacidade do solo de exercer suas funções, tanto em termos agronômicos como ambientais. A avaliação dos impactos dos sistemas de manejo sobre a qualidade estrutural do solo é de grande importância, pois a estrutura papel vital no funcionamento do solo, influenciando nas trocas gasosas (Rodrigues et al., 2011; Costa et al., 2014), na absorção de nutrientes (Lipiec e Stępniewski, 1995; Bingham et al., 2010), infiltração, armazenamento da água no solo e atividade biológica (Bronick e Lal, 2005; Capowicz et al., 2009).

A estrutura do solo tem sido avaliada por diversas metodologias, as quais podem ser divididos em duas categorias, qualitativas e quantitativas. Em termos quantitativos, várias propriedades têm sido utilizadas tais como a densidade do solo, a resistência à penetração do solo, a estabilidade de agregados em água e a distribuição de tamanho de poros (Karlen et al., 2003; Busscher et al., 2006; Barreto et al., 2009; Berisso et al., 2012). Entre os métodos qualitativos, destacam-se as metodologias de avaliação visual da estrutura do solo, tais como o VESS - Visual Evaluation of Soil Structure (Ball et al., 2007), o SOILpak (Daniells et al., 1996) e o Perfil Cultural (Gautronneau e Manichon, 1987; Tavares Filho et al., 1999). As informações obtidas pelos indicadores quantitativos limitam-se em refletir a condição da estrutura do solo, ou seja, é uma consequência do comportamento da estrutura. Por outro lado, o uso da avaliação visual envolve a caracterização da estrutura por meio de escores ou nomenclaturas e a distribuição das estruturas, que no caso da MPC permite sua espacialização no perfil do solo, possibilitando a interação com outras informações que podem ser de interesse nos diferentes estudos.

Recentemente, tem-se verificado um aumento do uso de métodos qualitativos para avaliar a qualidade estrutural do solo (Mueller et al., 2009a; Mueller et al., 2009b; Giarola et al., 2010; Askari et al., 2013; Fuentes-Llanillo et al., 2013; Garbout et al., 2013; Guimarães et al., 2013a; Newell-Price et al., 2013; Pulido Moncada et al., 2014; Tavares Filho et al., 2014). A associação dos métodos quantitativos e qualitativos facilita o entendimento da influência do manejo na estrutura do solo, além de ser uma ferramenta auxiliar na escolha de técnicas de manejo que preservem a qualidade do solo (Domingos et al., 2009; Giarola et al., 2010). O principal questionamento do uso de técnicas visuais é a subjetividade inerente à percepção do avaliador (Guimarães et al.,

## 1.2 MATERIAL E MÉTODOS

As amostras foram coletadas em experimento de 24 anos de duração, na estação experimental da Embrapa Soja (23°11''S latitude; 51°11'' W longitude, 620 m de altitude), localizada no município de Londrina, estado do Paraná, Brasil. O clima local é o subtropical úmido (Cfa) com temperatura média anual de 21°C, e máxima de 28,5 °C em fevereiro e mínima de 13,3 °C em julho. A precipitação pluviométrica média anual é de 1651 mm, em janeiro no mês mais chuvoso com média de 217 mm, e em agosto, no mês mais seco 60 mm. O solo é classificado como Latossolo Vermelho distroférico com 710 g kg<sup>-1</sup> de argila, 82 g kg<sup>-1</sup> de silte e 208 g kg<sup>-1</sup> de areia (Franchini et al., 2012).

As áreas experimentais avaliadas fazem parte de um experimento de longa duração instalado em outubro de 1988. As parcelas possuem 7,5 m de largura e 30 m de comprimento. Nesse estudo foram avaliados dois sistemas de manejo do solo (sistema de plantio direto e preparo convencional), com amostras obtidas em duas repetições. O sistema de culturas SPD consiste no cultivo de trigo (*Triticum aestivum* L.) no inverno e soja (*Glycine max* (L.)) no verão. O preparo convencional do solo é realizado com arado de disco à profundidade estimada de 0,20 m seguido de gradagem niveladora a 0,08 m para a soja e uso de grade pesada a 0,15 m seguida de gradagem niveladora a 0,08 m para o trigo. Nas parcelas sob SPD a semeadura é realizada sobre a palhada da cultura anterior realizando-se a abertura de um sulco estreito na linha da semeadura.

A amostragem foi realizada em março de 2013 após a colheita de soja e antes do preparo do solo para a semeadura do trigo. Em cada tratamento, procedeu-se a abertura de uma trincheira de 1x1x1 m de largura, altura e comprimento, respectivamente. A caracterização das unidades morfológicas homogêneas (UMH) foi realizada de acordo com o método do perfil cultural (MPC) adaptado para solos tropicais conforme Tavares Filho et al. (1999) e Neves et al. (2003). Foram analisadas a ocorrência e a distribuição das UMHs no perfil, baseando-se na observação da continuidade e fissuras. As UMHs caracterizadas pela presença de fissuras foram denominadas “F”, as contínuas denominadas “C”, e as formadas por um volume de solo solto, poroso com agregados individualizados foram denominadas de “L”. As camadas de solo sem alterações visuais de manejo, "Não Alteradas pelo Manejo", corresponderam ao horizonte B latossólico dos Latossolos, e assim, foram denominadas “Bw”. Em seguida, as estruturas identificadas na primeira etapa foram manualmente fragmentadas para análise do estado interno, com base na porosidade visível. As UMHs que apresentaram ausência de sinais

### 1.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os valores médios de RT e os respectivos intervalos de confiança são apresentados na Figura 3A. Verifica-se um decréscimo de RT de CΔ para FptμΔ+TF, ou seja, da estrutura mais compacta para a menos compacta. Para a classe de diâmetro médio dos agregados avaliadas nesse estudo, as UMHs apresentaram uma grande amplitude de valores médios de RT: por exemplo, a média de RT para CΔ foi de 170,86 kPa e para FptμΔ+TF de 44,21 kPa. Na Figura 3B observa-se os valores médios de Dsa com seus respectivos intervalos de confiança. Os maiores valores de Dsa ocorreram para as UMHs CΔ, FmtμΔ e CΔμ, enquanto Bw e L apresentaram os menores valores médios. Na Figura 4A são apresentados os valores médios de RT e o intervalo de confiança para as mesmas UMHs apresentadas na Figura 3A, mas neste caso as UMHs foram agrupadas utilizando apenas o 1º nível de classificação utilizado no MPC, ou seja, o modo de organização dos torrões, sem considerar o estado interno dos mesmos. Os valores de RT decrescem na seguinte ordem C>F>L=Bw. Na Figura 4B são apresentados os valores médios e o intervalo de confiança das estruturas agrupadas pelo 1º nível de classificação do método. Os valores de Dsa foram significativamente iguais para as UMHs C e F, e também para L e Bw.

## **1.4 CONCLUSÕES**

1. A metodologia do Perfil cultural, modificada por Tavares Filho et al. (1999) para solos tropicais, foi sensível em detectar as alterações na estrutura promovidas pelo manejo.
2. Os resultados apresentados para as unidades morfológicas homogêneas demonstraram que as alterações nas estruturas promovidas pelo manejo são relacionadas com a RT e Dsa.
3. O método do Perfil cultural permite identificar e caracterizar os efeitos do manejo na estrutura, no entanto, para avaliar como tais modificações afetam a capacidade do solo em exercer suas funções é necessário a utilização de indicadores físicos.

## CAPÍTULO 2

### A QUALIDADE ESTRUTURAL AVALIADA PELO PERFIL CULTURAL PODE SER RELACIONADA COM INDICADORES QUANTITATIVOS DE QUALIDADE FÍSICA DO SOLO?

#### RESUMO

Os sistemas de manejo do solo e de culturas promovem alterações na estrutura do solo e conseqüentemente afetam a sua qualidade. O método do Perfil cultural (MPC) tem sido utilizado para identificar os efeitos de sistema de manejo na estrutura do solo. Contudo, poucos estudos relacionam as estruturas identificadas pelo MPC com indicadores quantitativos da qualidade estrutural do solo. Os objetivos do trabalho foram identificar as estruturas do solo por meio do método do Perfil cultural e relacionar estas estruturas com a densidade do solo ( $D_s$ ), densidade crítica ( $D_{scrit}$ ), porosidade de aeração ( $\epsilon_a$ ), intervalo hídrico ótimo (IHO) e com a permeabilidade do solo ao ar ( $K_a$ ) em diferentes sistemas de manejo de solo e de culturas. O estudo foi desenvolvido num experimento de longo prazo (24 anos de duração) envolvendo dois sistemas de manejo do solo (sistema de plantio direto (SPD) e preparo convencional com grade pesada (GP)) e dois sistemas de manejo de culturas (rotação (R) e sucessão (S)). O MPC foi utilizado para identificar as diferentes unidades morfológicas homogêneas (UMH) no perfil de solo. Foram coletadas amostras de solo com estrutura preservada para as UMHs com maior representatividade nos perfis, para a determinação da  $K_a$ , IHO,  $D_s$  e  $\epsilon_a$ . Os resultados mostraram que houve concordância entre as UMH e os indicadores quantitativos. Os resultados do IHO indicaram uma maior  $D_{scrit}$  nos sistemas com plantio direto ( $PDR=1,36 \text{ kg dm}^{-3}$  e  $PDS=1,37 \text{ kg dm}^{-3}$ ) comparado com o preparo convencional ( $GPS= 1,31 \text{ kg dm}^{-3}$  e  $GPR=1,33 \text{ kg dm}^{-3}$ ). A proporção de amostras com  $D_s > D_{scrit}$  foi de 23% em GPS, 77% em GPR, 32% em PDS e 39% em PDR. As estruturas caracterizadas como mais restritivas ao desenvolvimento radicular ( $C\Delta$ ,  $C\Delta\mu$ ,  $Fmt\Delta\mu$  e  $Fmt\mu\Delta$ ) apresentaram menores valores de  $K_a$  e maior resistência do solo a penetração a medida que o solo seca. O SPD apresentou uma melhor conectividade de poros e uma estrutura menos restritiva ao desenvolvimento das plantas em condições de maiores valores de  $D_s$  quando comparado ao preparo convencional.

**Palavras-chave:** estrutura do solo. intervalo hídrico ótimo. permeabilidade do solo ao ar. sistema de plantio direto. preparo convencional



## REFERÊNCIAS

- ABAWI, G. S.; WIDMER, T. L. Impact of soil health management practices on soilborne pathogens, nematodes and root diseases of vegetable crops. **Applied Soil Ecology**, v. 15, n. 1, p. 37-47, 2000.
- ABDOLLAHI, L.; HANSEN, E. M.; RICKSON, R. J.; MUNKHOLM, L. J. Overall assessment of soil quality on humid sandy loams: Effects of location, rotation and tillage. **Soil and Tillage Research**, v. 145, p. 29-36, 2015.
- ABID, M.; LAL, R. Tillage and drainage impact on soil quality: II. Tensile strength of aggregates, moisture retention and water infiltration. **Soil and Tillage Research**, v. 103, n. 2, p. 364-372, 2009.
- AJAYI, A. E.; DIAS JUNIOR, M. D. S.; CURI, N.; GONTIJO, I.; ARAUJO-JUNIOR, C. F.; VASCONCELOS JÚNIOR, A. I. Relation of strength and mineralogical attributes in Brazilian latosols. **Soil and Tillage Research**, v. 102, p. 14-18, 2009.
- ALAOUI, A. Modelling susceptibility of grassland soil to macropore flow. **Journal of Hydrology**, v. 525, p. 536-546, 2015.
- ALEXANDRATOS, N.; BRUINSMA, J. World agriculture towards 2030/2050: the 2012 revision. **ESA Work. Pap.**, v. 3, n. 12-03 FAO, Rome, 2012.
- ALLETTO, L.; COQUET, Y.; JUSTES, E. Effects of tillage and fallow period management on soil physical behaviour and maize development. **Agricultural Water Management**, v. 102, n. 1, p. 74-85, 2011.
- ANGHINONI, G.; TORMENA, C. A.; LAL, R.; MOREIRA, W. H.; JÚNIOR, E. B.; FERREIRA, C. J. B. Within cropping season changes in soil physical properties under no-till in Southern Brazil. **Soil and Tillage Research**, v. 166, p. 108-112, 2017.
- ARAUJO, M. A.; TORMENA, C. A.; SILVA, A. P. Propriedades físicas de um Latossolo Vermelho distrófico cultivado e sob mata nativa. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 28, p. 337-345, 2004.
- ARVIDSSON, J.; KELLER, T. Soil stress as affected by wheel load and tyre inflation pressure. **Soil and Tillage Research**, v. 96, n. 1-2, p. 284-291, 2007.
- ASKARI, M. S.; CUI, J.; HOLDEN, N. M. The visual evaluation of soil structure under arable management. **Soil and Tillage Research**, v. 134, n. 0, p. 1-10, 2013.
- ASKARI, M. S.; CUI, J.; O'ROURKE, S. M.; HOLDEN, N. M. Evaluation of soil structural quality using VIS-NIR spectra. **Soil and Tillage Research**, v. 146, Part A, n. 0, p. 108-117, 2015.
- BABUJIA, L. C.; HUNGRIA, M.; FRANCHINI, J. C.; BROOKES, P. C. Microbial biomass and activity at various soil depths in a Brazilian oxisol after two decades of no-tillage and conventional tillage. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 42, n. 12, p. 2174-2181, 2010.