

UFRRJ
INSTITUTO DE AGRONOMIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA
CIÊNCIA DO SOLO

DISSERTAÇÃO

**Vínculos entre Variáveis de Solo, Plantas e
Ambiente em Áreas Revegetadas após Mineração na
Amazônia**

Francy Junio Gonçalves Lisboa

2012



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE AGRONOMIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA
CIÊNCIA DO SOLO**

**VÍNCULOS ENTRE VARIÁVEIS DE SOLO, PLANTAS E AMBIENTE
EM ÁREAS REVEGETADAS APÓS MINERAÇÃO NA AMAZÔNIA**

Francy Junio Gonçalves Lisboa

Sob a Orientação do Professor
Ricardo Luis Louro Berbara

e Co-orientação do Pesquisador
Sérgio Miana de Faria

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciências**, curso de Pós-Graduação em Agronomia, Área de Concentração em Ciência do Solo.

Seropédica, RJ
Fevereiro de 2012

631.4
L769v
T

Lisboa, Francy Junio Gonçalves, 1985-
Vínculos entre variáveis de solo, plantas e ambiente em
áreas revegetadas após mineração na Amazônia / Francy
Junio Gonçalves Lisboa – 2012.
48 f. : il.

Orientador: Ricardo Luis Louro Berbara.
Dissertação (mestrado) – Universidade Federal Rural
do Rio de Janeiro, Curso de Pós-Graduação em
Agronomia.

Bibliografia: f. 38-48.

1. Solos – Teses. 2. Plantas e solo – Teses. 3.
Leguminosa – Teses. 4. Ecologia vegetal – Teses. I.
Berbara, Ricardo Luis Louro, 1957-. II. Universidade
Federal Rural do Rio de Janeiro. Curso de Pós-
Graduação em Agronomia. III. Título.

É permitida a cópia parcial ou total desta dissertação, desde que seja citada a fonte.

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE AGRONOMIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA – CIÊNCIA DO SOLO**

FRANCY JUNIO GONÇALVES LISBOA

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciências**, no Curso de Pós-Graduação em Agronomia, área de Concentração em Ciência do Solo.

DISSERTAÇÃO APROVADA EM 28/02/2012.

Sérgio Miana de Faria. Ph.D. Embrapa Agrobiologia
(Co-Orientador)

Fabiano de Carvalho Balieiro. Dr. Embrapa Solos

Eduardo Lima. Dr. UFRRJ

DEDICATÓRIA

Esta obra eu dedico à minha esposa Mariana Lima, amiga para todas as horas, e que trouxe ao mundo o mais fundado motivo para um homem se tornar verdadeiramente um homem, seguindo na vontade insaciável de viver cada vez mais: meu filho, o meu pedaço de gente chamado Miguel Lima Lisboa.

Amo vocês!

AGRADECIMENTOS

Quero conceder meu agradecimento aos meus pais, Francisco Carlos Gonçalves Lisboa e Geralda Gonçalves Lisboa, por me colocarem nesse mundo e dar oportunidade de conhecer aqueles que por aqui estão.

Agradeço ao meu segundo pai, meu tio Luis Carlos Gonçalves da Silva por ser meu mentor em direção aos estudos.

Agradeço aos meus amigos de Universidade: Renato Valadares, “Marco” Magro Reis (filho do temido Luis Reis), Tamys Luis Fernandes (eternamente confiante), Rodrigo Mendes Cavalini (Seu Nonô) e tantos outros que fizeram, e ainda fazem da minha vida em Seropédica ser mais alegre.

Agradeço aos fiéis companheiros de roda de samba, isto é, aqueles que quase nunca faltavam quando eu os convocava para fazer um sambinha onde quer que fosse: Elton Abel (Salada) e André Laranjo, duas pessoas que sabem levar o samba de uma forma cadenciada, como nas antigas, do jeitinho que eu gosto de tocar.

Agradeço a todos aos bolsistas do Laboratório de Biologia do Solo, mas principalmente àqueles do Laboratório de Leguminosas Florestais da Embrapa Agrobiologia, em especial ao estudante de engenharia florestal Felipe Martini; e ao estudante de pós-graduação em Ciências Ambientais e Florestais Fernando Soares, por me ajudarem na realização das análises microbiológicas do solo. Ao Fernando Soares, fica meu agradecimento por ceder os resultados florísticos de sua dissertação para a realização da presente obra.

Não posso deixar de agradecer ao meu orientador Ricardo Berbara pela hombridade, fineza, e humanidade no trato de nossa relação, sempre disposto a ajudar e dirimir qualquer tipo dúvida.

É forçoso o meu agradecimento aos pesquisadores da Embrapa Agrobiologia Guilherme Chaer e Ederson C. Jesus. O primeiro por conceder material e orientação para as análises microbiológicas. O segundo por aquilatar a discussão dos meus resultados estatísticos multivariados.

Vai o meu agradecimento aos professores do Departamento de Solos da Universidade de Viçosa, Luiz Eduardo Dias e Igor Assis, pelo apoio para realizar parte das análises químicas utilizadas para construção desse trabalho.

Ao meu co-orientador Sérgio Miana de Faria, tenho o prazer de agradecer pelo profissionalismo e oportunidade de cursar o mestrado dentro de projeto de tamanha dimensão e relevância. Isso porque possibilitou que eu conhecesse novos ares, novas ideias, e modos de encarar a vida, tendo contato com pessoas incríveis, como o pesquisador do Jardim Botânico do Rio de Janeiro, Haroldo Cavalcante de Lima; a professora, pesquisadora, e decana na UFRJ, Maria Fernanda Quintela; e o estudante de mestrado Anderson Bonilha (UFRRJ).

Não poderia deixar de foram da esteira dos meus agradecimentos a companhia Vale S/A, em especial a Gerência de Meio Ambiente (GABAN). Não só pelo suporte estrutural e financeiro nas viagens de coleta de solo, e na concessão da bolsa de estudos nos primeiros meses do mestrado, mas também pelo ambiente humano fornecido pela equipe. Em especial pelos colaboradores Tarcisio Majeviski Rodrigues, Pedro Nóbrega, Delmo Fonseca da Silva, Alexandre Castilho, Genaldo Carvalho, João Carlos Henriques.

Por fim, quero agradecer ao Curso de Pós-Graduação em Agronomia Ciência do Solo (CPGA-CS) por todo aporte estrutural e acadêmico para que a confecção desta obra transcorresse de forma mais tranquila possível; à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Ensino Superior (CAPES) pela bolsa de estudos fornecida durante o curso; ao Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e Recursos Naturais Renováveis (IBAMA); e ao Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBIO).

BIOGRAFIA

Francy Junio Gonçalves Lisboa nasceu em Angra dos Reis, no litoral sul do Estado do Rio de Janeiro, no dia 03 de julho de 1985. Iniciou sua graduação em Engenharia Agrônômica na Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro em outubro de 2005. Com a vida dividida entre as suas rodas de samba e a propensão para o meio acadêmico, Francy Lisboa ingressou na Embrapa Agrobiologia em fevereiro de 2008, inicialmente sob a orientação do pesquisador Francisco Adriano de Souza, onde trabalhou no Laboratório de Micologia, e atua basicamente com ecologia molecular de fungos micorrízicos arbusculares. Nesse período, Francy Lisboa conheceu o professor da UFRRJ, Ricardo Berbara, e também o pesquisador da Embrapa Agrobiologia Sérgio Miana. Já no fim de sua graduação, com o egresso do pesquisador Francisco Adriano de Souza da Embrapa Agrobiologia, Francy Lisboa passou a ser orientado pelo pesquisador Sérgio Miana, no Laboratório de Leguminosas Florestais. Em 2010 ingressou no Curso de Pós Graduação em Agronomia - Ciência do Solo sob a orientação do professor Ricardo Berbara e co-orientação do pesquisador Sérgio Miana.

RESUMO

LISBOA, Francy Junio Gonçalves. **Vínculos entre variáveis de solo, plantas e ambiente em áreas de mineração na Amazônia.** 2012. 48f. Dissertação (Mestrado em Agronomia, Ciência do Solo). Instituto de Agronomia, Departamento de Solos, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2012.

O objetivo do estudo foi detectar e investigar a natureza dos padrões de relacionamento entre a vegetação e a variação químico-microbiológica em substrato recuperado com diferentes estratégias de manejo após atividade de mineração na Amazônia. Três sítios: R2 (Topsoil), R3 (Oficina), e R6 (CCI); inicialmente recuperados sob o mesmo tipo de substrato, o rejeito de estéril de ferro, além de um sítio de floresta primária (Ref), foram os alvos do presente estudo. Para acessar os relacionamentos foi utilizada a abordagem conhecida como sobreposição Procrustean seguida de teste de significância denominado PROTEST. Os resultados apontaram que o relacionamento entre vegetação e o ambiente químico do substrato foi significativo; porém contrastante quanto a sua natureza. Os resultados mostraram que no sítio R6 (CCI), onde se caracterizou o domínio de leguminosas associado à menor diversidade e equitabilidade vegetal, a interação entre a vegetação e o ambiente químico do substrato foi mais íntima do que nos outros sítios investigados. Com base na observação de que essa associação foi significativamente relacionada à biomassa (MBC) e eficiência metabólica (qCO₂), e considerando a hipótese de que o sítio R6 (CCI) teria a condição mais homogênea quanto a qualidade do litter aportado por sua vegetação do que nos outros sítios, foi levantada a suspeita de que essa associação mais íntima esteja vinculada às espécies leguminosas dominantes no R6 (CCI), *Senna Sylvestris* e *Mimosa acutistipula*. Nesse cenário, uma vez que a biomassa microbiana e sua atividade se relacionam com as respostas funcionais do substrato, o presente estudo dá suporte, mesmo que de forma localizada, à hipótese de massa, preconizando que espécies ou grupos botânicos dominantes são os principais moderadores das respostas funcionais dos ecossistemas terrestres.

Palavras-chave: Procrustes. Relacionamento. Leguminosas. RDA. Comunidade. Ecologia.

ABSTRACT

LISBOA, Francy Junio Gonçalves. **Links between variables of soil, plants and environment in mining areas in the Amazônia.** 2012. 48p. Dissertation (Master Science in Agronomy, Soil Science) Instituto de Agronomia, Departamento de Solos, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2012.

This study aimed to investigate the relationship between vegetation and properties of an iron mine substrate undergoing recovery in the Brazilian Amazon. Vegetation structure, the physical and chemical properties of the substrate, microbial biomass, baseline respiration, total enzymatic activity and the activity of β -glucosidase, laccase and acid phosphatase were measured in three sites undergoing recovery by 3 different strategies (R2, Topsoil, R3, “Oficina”, and R6, CCI), and in a nearby forest site. The data was analyzed with ANOVA and with a Procrustes analysis followed by significance tests known as PROTEST in order to measure the correlation between the vegetation structure and the variables measures for the substrate. The results indicated contrasting relationships between the nature of the relationship of vegetation with chemical and microbiological variables, both at the level of sites and sampling points. A higher interaction was observed in site R6 (CCI), which was characterized by a dominance of legumes, associated to lower diversity and equitability. This association favored the microbial biomass and its metabolic efficiency, raising the hypothesis that the effect of vegetation on site R6 was due to the dominance of *Senna sylvestris* e *Mimmosa acutistipula* through changes in the chemical environment of the substrate. Since the microbial biomass and its activity are related to the functional state of the substrate, this study supports the mass hypothesis, which says that dominant botanical groups are the major drivers of the functional responses of terrestrial environments.

Keywords: Procrustes. Relationship. Legumes. RDA. Community. Ecology.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	4
3. MATERIAL E MÉTODOS	11
3.1. Área do Estudo e Histórico dos Sítios	11
3.2. Amostragens de Solo	12
3.3. Caracterização da Comunidade Arbórea e Arbustiva.....	12
3.4. Propriedades Físicas e Químicas	12
3.5. Aspectos Microbiológicos	12
3.5.1. Biomassa microbiana e respiração basal	12
3.5.2. Avaliações enzimáticas.....	13
3.5.3. Glomalina	13
3.6. Análises dos Dados	14
3.6.1. Análises paramétricas	14
3.6.2. Análises multivariadas.....	14
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	19
4.1. Caracterização das Comunidades Vegetais	19
4.2. Propriedades de Solo (ANOVA e Teste de Médias)	19
4.2.1. Variáveis químicas e físicas.....	19
4.2.2. Variáveis microbiológicas	21
4.3. Multivariadas	22
4.3.1. Variação dos sítios com base em estrutura vegetal	22
4.3.2. Relacionamentos entre vegetação e o ambiente do substrato	24
4.3.3. Contribuição da vegetação e do substrato para o comportamento microbiano	28
4.3.4. Padrões de relacionamento individual e seleção de variáveis	30
5. CONCLUSÕES	34
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS	37
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	38

1. INTRODUÇÃO

A mineração é um dos setores básicos da nossa economia, contribuindo de forma decisiva ao desenvolvimento socioeconômico de nações. Na Conferência Rio + 10, realizada de 26 de maio a 29 de agosto de 2002 em Johannesburgo na África do Sul, a mineração foi uma atividade referendada por vários países como sendo essencial ao desenvolvimento sócio-econômico mundial.

A história do Brasil tem íntima relação com a busca e o aproveitamento dos recursos minerais, que sempre contribuíram com importantes insumos para o desenvolvimento do país. O Brasil possui importantes depósitos minerais, alguns de alta expressão mundial, como é o caso das reservas de minério de ferro existentes em Carajás. O Complexo Minerador da Serra de Carajás (CMSC), sítio do presente estudo, está localizado no estado do Pará, entre as cidades de São Félix do Xingu e Marabá, e entre os Rios Tocantins e Xingu. As pesquisas geológicas em Carajás começaram em 1967 e, uma década depois, em 1978, foram iniciadas as obras para a implantação do Projeto Carajás. Em 1981, ocorreu a primeira detonação, e em 1985 o primeiro trem carregado com o minério entrou em funcionamento. Segundo estimativa da companhia Vale, as reservas minerais presentes em Carajás acumulam o impressionante montante de 1,5 bilhões de toneladas. Além da enorme quantidade de ferro existente em Carajás, outros minerais também são explorados, como é o caso do manganês, do cobre, do níquel, e em menor quantidade, o ouro.

Em março de 2011, o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) divulgou números que a maior parte dos analistas de mercado previa, e que a população brasileira já sentia no seu dia a dia. O produto interno bruto brasileiro (PIB), soma de todas as riquezas geradas no território nacional, aumentou 7,5% em 2010 em relação ao ano de 2009, atingindo a marca de 3,7 trilhões de reais. Esse crescimento fez o Brasil alavancar para o rol das dez maiores economias do globo. Segundo o Departamento Nacional de Produção Mineral (DNPM), órgão vinculado ao Ministério de Minas e Energia, o carro chefe desse crescimento foi o setor de produção mineral, em especial o de produção/exportação de minério de ferro. Segundo o DNPM, a produção de minério de ferro atingiu em 2010 a quantidade de 370 milhões de toneladas. Isso correspondeu a um aumento de 19% em relação ao ano anterior e 16% de toda a produção de minério de ferro mundial. O volume negociado atingiu 28,9 bilhões de dólares, o que representou 14% de todo o volume financeiro obtido com exportações em 2010.

Toda essa pujança econômica propiciada pela mineração é muito importante, pois auxilia na redução das desigualdades sociais e regionais. No entanto, apesar da importância e da grandeza, a mineração corresponde a uma das atividades mais impactantes ao meio ambiente, sendo tema frequente das celeumas envolvendo a questão ambiental. O fato de a mineração ser impactante, e muito mais quando não bem operada, não pode ser alijado e, como toda atividade capaz de alterar o meio ambiente de forma expressiva, a mineração está disciplinada nos termos da legislação ambiental brasileira, uma das mais extensas e rigorosas do mundo. Para atender aos imperativos da legislação, a atividade de mineração deve seguir uma série de ritos, entre os quais está o da obrigação de entregar, juntamente com o estudo de impactos ambientais e o seu respectivo relatório de impacto ambiental, o plano de recuperação de áreas degradadas (PRAD).

A necessidade do PRAD tem seu fundamento quando se avalia o desenrolar do processo de exploração mineral, em particular, a mineração de ferro em Carajás, sítio do presente estudo. Uma vez que o minério de ferro encontra-se a profundidades relativamente grandes, a derrubada da floresta, remoção da camada superficial e das camadas

subsuperficiais do solo, e a geração de rejeitos e outros tipos de substratos de difícil colonização pelas plantas são consequências inevitáveis. Tudo isso conflui para a perda da capacidade resiliente da área, caracterizando um cenário de degradação. Uma das faces desse cenário é a geração de grandes quantidades de um material ferruginoso e de granulometria grosseira. Esse material é chamado de rejeito de estéril e serve de substrato para a montagem dos taludes que integram a paisagem da mina.

A palavra estéril remete a uma condição de incapacidade, neste caso, incapacidade dos substratos de granjear vida, uma vez que constituem material incipiente em propriedades físicas, químicas, e biológicas capazes de subsidiar o estabelecimento da vida e dar início à regeneração natural do sistema. Dessa forma, os taludes de rejeito de estéril assim que são montados assumem características contrárias a todas as definições que a literatura sugere para solo. Fatores, como a ausência de matéria orgânica, falta de estrutura em agregação, falta de diferenciação de horizontes, e a inexistência de fertilidade química posicionam esses corpos em um ponto análogo ao chamado tempo zero de recuperação.

A recuperação do substrato de rejeito estéril, alcançando um estágio de funcionalidade igual ao do solo existente antes da atividade mineradora é uma utopia, pelo menos no que diz respeito às demandas baseadas na escala de tempo humana. Entretanto, boa parte dessa funcionalidade pode começar a ser restabelecida através de ações mitigadoras como a revegetação com espécies arbóreas e arbustivas (CHAER et al., 2011). Essa ação marca o tempo zero da retomada edafo-funcional do substrato por engatilhar o aporte de matéria orgânica ao sistema e, por consequência, a ciclagem de nutrientes, pavimentando a criação de novos nichos e a recuperação ecológica. Nesse contexto, o grau de desenvolvimento funcional do substrato utilizado para a formação dos taludes responde pela retomada desse corpo em termos de solo propriamente dito.

A metodologia de revegetação do substrato gerado pela atividade de mineração de ferro na província mineral de Carajás-PA não se limita a uma abordagem única. O uso de coquetéis de sementes com diferentes espécies vegetais, exóticas e/ou nativas; de porte arbóreo e/ou arbustivo, é um dos principais pontos de variação das estratégias de manejo de recuperação utilizadas nas minas de Carajás. Nesse sentido, as diferentes estratégias de manejo de recuperação aplicadas ao substrato acabam, por muitas vezes, refletindo em comunidades vegetais divergentes em estrutura e composição. Assim, os taludes de estéril revegetados se traduzem em rica oportunidade para avaliar os relacionamentos entre a vegetação e o ambiente químico e microbiológico do substrato. Todavia, apesar de as bases atuais dos programas de recuperação de áreas degradadas serem orientadas para implantação de modelos semelhantes ao processo de sucessão ecológica, as decisões de ordem prática sobre os rumos do manejo de recuperação ainda são fortemente influenciadas pela evolução biótica acima do substrato, mais especificamente pela dinâmica da composição e estrutura da vegetação. Isso se deve basicamente ao usual pragmatismo implícito das medições do ambiente acima do solo. Somado a isso, existe também a dificuldade de interpretar dados biológicos em um nível que permita afirmar com segurança o rumo que o componente biótico do substrato tende a seguir ao longo do processo de recuperação.

A comunidade microbiana é o principal componente biótico do solo (WARDLE et al., 2004). Ela está relacionada com a eficiência do solo em realizar funções, como a ciclagem de nutrientes, armazenamento de carbono, manutenção da cadeia trófica, e manutenção da diversidade e produtividade de fauna e flora. A essa luz, é coerente pensar que aspectos microbiológicos do solo, como a biomassa, eficiência metabólica microbiana; e atividade de enzimas hidrolíticas, são adequados para serem coligados como representantes da resposta funcional do ecossistema vinculado ao ambiente do solo. Entretanto, a maior parte dos trabalhos realizados em áreas de mineração em processo de recuperação não aborda de forma explícita as interações entre o ambiente interno do substrato, caracterizado por fatores

químicos e microbiológicos, e o ambiente sobre o substrato, representado pela vegetação. Isso é um problema porque a avaliação isolada dos ambientes, vegetação e substrato, constitui barreira ao entendimento mais completo sobre os efeitos da biodiversidade vegetal, incluindo riqueza e identidade de espécies e/ou grupos botânicos, sobre aspectos funcionais do ecossistema relacionados ao ambiente do solo, como a ciclagem de nutrientes e do carbono.

Nesse contexto, o presente trabalho teve como objetivo básico investigar a natureza dos padrões de relacionamento direto entre a vegetação e a variação química e microbiológica, em sítios cujo substrato de rejeito de estéril foi recuperado com diferentes estratégias de manejo. A hipótese é a de que a variação na vegetação afeta a variação nos dois compartimentos “*below-ground*” investigados, quais sejam as propriedades químicas do solo e as propriedades microbiológicas.

Especificamente o estudo buscou detectar a variação geral dos sítios baseada em na estrutura da vegetação. Com o auxílio da ferramenta estatística da sobreposição Procrustiana, o estudo buscou identificar a existência de relacionamentos significativos entre a vegetação e a variação dos aspectos químicos e microbiológicos do substrato de forma conjunta e separada. Além disso, o estudo focou em interpretar a natureza do efeito da vegetação sobre a variação dos aspectos químicos do substrato, tendo como base a resposta de aspectos microbiológicos ao relacionamento vegetação/substrato. Padrões de relacionamento entre variáveis individuais de vegetação e de solo (químicas, físicas, e microbiológicas) foram acessados por Análise de Redundância (RDA). Por fim, o presente trabalho almejou identificar variáveis de estrutura vegetal habilidosas em modelar a variação ecológica dos substratos baseada em conjunto de aspectos químicos, microbiológicos, e físicos.

2. REVISÃO DE LITERATURA

A biodiversidade vegetal pode ser dividida em diferentes componentes, entre eles estão a riqueza de espécies vegetais e a riqueza de grupos botânicos funcionais (MCLAREN & TURKINGTON, 2010), ambos considerados importantes na geração de efeitos da vegetação sobre o funcionamento de ecossistemas terrestres (REICH et al., 2004). Apesar da importância da biodiversidade vegetal, a maior parte dos trabalhos atenta em acessar seu efeito sobre o funcionamento do ecossistema por meio da estimação de um único tipo de resposta: a produtividade primária (HOPPER et al., 2005; BALVANERA et al., 2006; MCLAREN & TURKINGTON, 2010). Isso é um problema uma vez que a natureza do relacionamento entre diversidade vegetal e funcionamento dos ecossistemas depende do tipo de resposta escolhida (BALVANERA et al., 2006).

Alguns trabalhos como o de MCLAREN & TURKINGTON (2010) buscaram acessar o relacionamento entre riqueza de grupos botânicos e respostas funcionais do ecossistema além daquela representada pela produtividade primária. No entanto, esses autores focaram em respostas, como a taxa de suprimento de nutrientes, a umidade do solo, e a porcentagem de interceptação de luz. Poucos são aqueles que atentaram para respostas vinculadas ao componente microbiológico. Por exemplo, SINGH et al. (2008) conduziram um estudo focando no relacionamento entre a comunidade de plantas e a composição de grupos funcionais microbianos importantes como fungos micorrízicos arbusculares e bactérias. Também, GARCIA-PALACIOS et al. (2011) estudaram o efeito da heterogeneidade da distribuição de nutrientes do solo sobre o relacionamento entre a diversidade vegetal e o funcionamento do ecossistemas. Esses autores consideraram a atividade de enzimas extracelulares do solo como uma resposta funcional. Por sua vez, LAMB et al. (2011) desenvolveram um estudo visando avaliar o efeito da riqueza e da equitabilidade vegetal sobre o funcionamento do ecossistema baseado na caracterização de bactérias relacionadas à etapa inicial do processo de nitrificação do solo. A principal crítica aos tipos de trabalhos acima mencionados é que a maioria foi conduzida em comunidade de plantas reunidas artificialmente (MCLAREN & TURKINGTON, 2010). Essas abordagens são consideradas essenciais para determinar relacionamentos casuais entre a riqueza de espécies ou número de grupos botânicos e as propriedades de solo, porém, perdem na capacidade de identificar o papel de grupos ou espécies vegetais em comunidades naturais (MCLAREN & TURKINGTON, 2010).

As comunidades vegetais formadas nos processos de recuperação de áreas degradadas exibem uma forma mais natural em comparação àquelas formadas em microcosmos, o que pavimenta estudos sobre a evolução de diversos aspectos funcionais dos ecossistemas ligados ao ambiente do substrato, bem como o padrão de relacionamento desse ambiente com a biodiversidade vegetal.

No entanto, a maior parte dos estudos desenvolvidos em áreas de mineração em processo de recuperação e que consideram os ambientes vegetação e solo compartilha ao menos duas características: a maior parte é conduzida em regiões de clima temperado; e a comparação é basicamente feita entre sítios recuperados com apenas uma ou com poucas espécies. FROUZ et al. (2009), por exemplo, compararam o efeito da biomassa vegetal sobre o sequestro de carbono e o acúmulo de matéria orgânica em sítios recuperados com monoculturas de espécies arbóreas de clima temperado. No mesmo ano, em áreas revegetadas com monoculturas arbóreas após atividade de mineração de areia na Polônia, CHODAK et al. (2009) acessaram o desenvolvimento temporal de propriedades ligadas à atividade da comunidade microbiana, como a biomassa, a mineralização do N, e o perfil fisiológico.

CHODAK & NIKLIŃSKA (2010) avaliaram o efeito de três espécies arbóreas, plantas em monocultura ou combinadas, sobre propriedades microbianas em sítios recuperados após mineração de carvão na República Tcheca. Também, HELINGEROVÁ et al. (2010) compararam mudanças na biomassa e na atividade microbiana em duas cronosequências de sítios recuperados de forma antrópica e de forma natural em minas da Europa central.

Uma vez que os padrões de reflorestamento geralmente seguem a proposta de utilizar espécies capazes de crescer em clima nativo, ambientes degradados em regiões tropicais normalmente demandam maior riqueza de espécies vegetais em seus projetos de recuperação do que aqueles situados em clima temperado. De fato, a riqueza e a identidade vegetal têm sido apontadas como alguns dos principais componentes reguladores da cadeia de respostas funcionais do ecossistema à vegetação (REICH et al., 2004; LAMB et al., 2011). Adicionalmente, as respostas dos ecossistemas derivadas do ambiente do solo são mediadas principalmente pela diversidade química da serrapilheira e de exsudatos radiculares, os quais são considerados os principais elos entre os ambientes acima e abaixo da superfície do solo (BARDGETT et al., 2005; ORWIN et al., 2006; LAMB et al., 2011). Dessa forma, é esperado que os padrões de relacionamento entre a estrutura vegetal e o ambiente químico-microbiológico do substrato em sítios tropicais sejam diferentes dos padrões exibidos pelos sítios localizados em ambientes de clima temperado.

Entre as principais respostas microbiológicas dos ecossistemas às alterações no ambiente acima da superfície do solo, particularmente às variações na estrutura vegetal, estão aquelas relacionadas à biomassa, atividade, e estrutura das comunidades microbianas (JIN et al., 2010; MUKHOPAFYAY & JOY, 2010; ZHANG & CHU, 2011). A comunidade microbiana do solo constitui amplo conjunto de microrganismos que vão desde bactérias de vida livre, passando por protozoários, actinomicetes, fungos saprófitos, até aqueles em complexas associações simbióticas (HARRIS, 2009). Compreende assim componente biosférico altamente diverso em termos genéticos, estruturais e funcionais.

A biomassa microbiana, a atividade de enzimas hidrolíticas, e a respiração basal do solo são comumente coligadas sob a expressão da atividade microbiana do solo, e tem sido amplamente acessadas para inferir sobre a saúde e a qualidade de ecossistemas terrestres. PASCUAL et al. (2000), por exemplo, compilaram informações da biomassa microbiana, de atividade de enzimas extracelulares, e da respiração do solo para avaliar o efeito do tempo de abandono da atividade agrícola sobre a qualidade do solo. Em outro interessante estudo, CHAER et al. (2009b) buscaram comparar o comportamento de aspectos da comunidades microbianas, como a atividade de enzimas e estrutura microbiana, antes e após a indução de impacto térmico sobre o solo. Recentemente, SAHOO et al. (2010) avaliaram os impactos das diferentes formas de acidez sobre a atividade de enzimas extracelulares, biomassa microbiana, e respiração basal em ambientes contaminados com água de drenagem de mineração.

Apesar da importância dos aspectos da comunidade microbiana do solo como indicadores de qualidade, e do grande corpo de pesquisas atentando para seu potencial uso, as tomadas de decisões de ordem prática sobre os rumos do manejo da recuperação de áreas após atividade mineradora ainda são fortemente influenciadas pelo usual pragmatismo das medições no ambiente acima do solo. Isso é incompreensível, tendo em vista resultados experimentais mostrando a importância da comunidade microbiana para a sustentabilidade e a produtividade dos ecossistemas terrestres (KLIRONOMOS et al., 2000; VAN DER HEIJDEN et al., 2006, 2008), bem como para a formação estrutural do solo (RILLIG & MUMMEY, 2006; GAIL et al., 2009). Por exemplo, em um clássico trabalho utilizando comunidades vegetais artificialmente reunidas, VAN DER HEIJDEN et al. (1998a) mostraram que a sustentabilidade e produtividade dos ecossistemas terrestres dependia da manutenção de um nível básico de diversidade de fungos micorrízicos arbusculares.

Por outro lado, as alterações de aspectos microbiológicos em função da variação da estrutura e composição vegetal refletem outra via de relacionamento entre vegetação e os microrganismos do solo, a qual é pavimentada principalmente pela qualidade e quantidade de resíduos ofertados pelas plantas (BARDGETT, 2005). Por exemplo, em um recente estudo conduzido por ORWIN et al. (2010), foi reportado que distintas estratégias vegetais para utilização dos recursos disponíveis no solo, e vinculadas à qualidade química da serrapilheira, eram suficientes para o deslocamento da natureza da rede trófica do solo. Adicionalmente, MUKHOPADYAY & JOY (2010) verificaram que as diferenças na qualidade química da serrapilheira derivada de espécies leguminosas estavam associadas com diferenças no padrão de atividade microbiológica do solo. Esses resultados reforçam a importância das interações entre os ambientes sobre o solo, caracterizado pela vegetação, e o ambiente do solo, representando por aspectos químicos, físicos, e microbiológicos (WARDLE et al., 2004). No entanto, como bem argumentado por HEIL (2010), esses dois ambientes são investigados de forma independente pela maior parte dos trabalhos, incluindo aqueles sobre recuperação de ambientes degradados (HARRIS, 2009).

Uma das explicações para a resistência em relação ao uso efetivo do componente biótico como norteador das tomadas de decisões é o grande número de resultados contraditórios, o que dificulta a descrição de padrões de relacionamento entre a variação da estrutura vegetal, característica do processo de recuperação; e o comportamento de fatores microbianos. Segundo HARRIS (2009), essa multiplicidade de resultados controversos contribui para que o processo de recuperação de áreas degradadas permaneça sem a definição de seus principais regulares biológicos, ou seja, sem a definição do verdadeiro papel da comunidade microbiana na evolução da recuperação de áreas degradadas. Outro fator contra a adoção na prática dos resultados envolvendo aspectos microbiológicos é a falta de pragmatismo em suas mensurações. Enquanto as plantas se apresentam para serem prontamente medidas e contadas, as variáveis microbiológicas do solo normalmente demandam mão de obra especializada e equipamentos nem sempre disponíveis, além de metodologias, as quais possuem diferentes enfoques e resultados muitas vezes conflitantes.

Estreitamente relacionado aos vieses acima mencionados está o fato de a maior parte dos microrganismos presentes no solo ainda ser desconhecida. Isso representa clara barreira ao entendimento sobre o papel da comunidade microbiana na recuperação ecológica de áreas degradadas. De fato, para aqueles que se ocupam da ecologia de microrganismos, um dos principais contrapontos para o avanço das pesquisas é a falta de metodologias capazes de abranger com confiança toda a diversidade genética, estrutural, e funcional existentes no solo. Apesar disso, nos últimos anos, particularmente a partir do final do século XX, as metodologias baseadas na necessidade prévia de cultivo passaram a dividir espaço com a emergência de técnicas baseadas na utilização de marcadores genéticos e bioquímicos do solo, também chamadas técnicas independentes de cultivo.

Uma abordagem independente de cultivo, simples, e já bastante difundida, é a caracterização funcional da comunidade microbiana do solo por meio da quantificação da atividade potencial de enzimas extracelulares relacionadas a serviços essenciais do ecossistema, como a ciclagem de nutrientes e do carbono. A medição da atividade de enzimas extracelulares associadas à mineralização e liberação de nutrientes importantes para plantas e microrganismos fornece informações importantes sobre os ciclos biogeoquímicos em solos tropicais (TURNER, 2010). Além disso, uma vez que a atuação de enzimas constitui o mecanismo primário pelo qual os microrganismos decompõem a matéria orgânica do solo, sua quantificação pode fornecer informações valiosas sobre o nível nutricional do solo (TURNER, 2010).

Muitos estudos vêm incorporando o uso dessa metodologia para acessar a funcionalidade da comunidade microbiana como indicadora de qualidade e de mudanças

estruturais da comunidade microbiana. HINOJOSA et al. (2004), por exemplo, utilizaram a atividade de enzimas relacionadas à mineralização do fósforo como indicadora do nível de contaminação por metais pesados em solos em processo de recuperação. Em sítios em processo de recuperação após atividade mineradora de carvão, BALDRIAN et al. (2008) focaram na atividade enzimática para acessar as respostas funcionais da comunidade microbiana do solo durante o processo de sucessão vegetal.

Mais recentemente, ŠTURSOVÁ & BALDRIAN (2011) conduziram estudo investigando os efeitos do manejo e das propriedades de solo sobre a atividade de enzimas envolvidas na transformação da matéria orgânica. Adicionalmente, a análise da atividade de enzimas extracelulares pode também ajudar na inferência sobre deslocamentos da estrutura da comunidade microbiana, tendo em vista a associação de determinadas classes de enzimas a determinados grupos microbianos, por exemplo, fungos e enzimas oxidativas (BALDRIAN, 2006). KORANDA et al. (2011), por exemplo, focaram na influência de exsudatos radiculares sobre a atividade de enzimas extracelulares para fazer inferências sobre a distinção estrutural entre a comunidade microbiana rizosférica e aquela fora dos domínios radiculares.

O carbono da biomassa microbiana, apesar de ser um clássico indicador de qualidade do solo, é considerado uma abordagem “caixa preta”, isto é, não é capaz de fornecer informações sobre mudanças estruturais nas comunidades microbianas investigadas (HARRIS, 2003). Para atender a esse propósito, por exemplo, existem metodologias independentes de cultivo que utilizam marcadores genéticos. A título de exemplo, entre as abordagens mais comuns que utilizam marcadores genéticos para a caracterização da estrutura da comunidade microbiana do solo, estão aquelas baseadas na reação em cadeia da polimerase (PCR do inglês “Polimerase Chain Reaction”) (MULLIS, 1986). Uma delas é a Eletroforese em Gel com Gradiente de Desnaturação (DGGE do inglês “Denaturing Gradient Gel Electrophoresis”) (MUYZER et al., 1993). Essa abordagem está baseada na discriminação de fragmentos genéticos similares em tamanho, porém, contrastantes na composição de bases, em especial no conteúdo de guanina e citosina, fornecendo uma “impressão digital” da estrutura da comunidade microbiana.

Apesar de bastante utilizada, uma limitação da DGGE é o não fornecimento de informações capazes de diretamente determinar a composição da comunidade microbiana, sendo necessárias etapas adicionais de clonagem, sequenciamento, e comparação com banco de dados para atingir tal propósito. Outro ponto importante é o caráter restritivo das técnicas baseadas na PCR. Uma vez que o par de iniciadores (“*primers*”) é concebido para detectar apenas um grupo microbiano específico dentro de uma amostra genética complexa, as técnicas baseadas na PCR não são capazes de fornecer, simultaneamente, informação para mais de um grupo microbiano.

Para superar as limitações acima mencionadas existem técnicas baseadas em marcadores bioquímicos, como é o caso da Análise de Ácidos Graxos Derivados de Fosfolipídios (PLFA do inglês “Phospholipids Fatty Acid”) (WHITE, 1996). Apesar de perder em poder de resolução em relação às técnicas baseadas na caracterização genética de microrganismos, a abordagem PLFA exhibe vantagens que colocam essa metodologia entre as técnicas mais promissoras para a caracterização quantitativa, estrutural, e funcional da comunidade microbiana do solo.

Ácidos graxos são basicamente ácidos carboxílicos com longas cadeias hidrocarbonadas, derivados principalmente de moléculas lipídicas. Lipídios correspondem a um amplo conjunto de biomoléculas com diversas funções nas células vivas, caracterizadas principalmente pela alta solubilidade em solventes orgânicos e pela baixa solubilidade em água. Entre os principais tipos de lipídios existentes nas células vivas estão àqueles associados à estruturação das membranas celulares, os fosfolipídios; e aqueles vinculados ao armazenamento de energia, os chamados lipídios neutros (NLFA do inglês “*Neutral Lipids*”).

Fatty Acid”). Esses últimos tendo como principais representantes os triacilglicerídios, presentes exclusivamente em células eucarióticas. Ambos os tipos, fosfolipídios (PLFA) e neutrolipídios (NLFA), são fontes de ácidos graxos de uso potencial como marcadores microbianos do solo (BÅÅTH, 2003).

Fosfolipídios são os componentes estruturais mais importantes das membranas biológicas, sendo responsivos à variação em tamanho das células microbianas, ou equivalente, ao tamanho da biomassa microbiana. Essas moléculas são formadas por uma única molécula de glicerol onde dois dos três grupos hidroxila (OH) presentes estão ligados a ácidos graxos, enquanto o terceiro grupo está associado a um grupamento fosfato (PO_4^{2-}). Por serem facilmente degradáveis após a morte das células (PINKART et al., 2002), e representarem uma proporção relativamente constante da biomassa de microrganismos, a soma quantitativa de todos os marcadores graxos derivados de fosfolipídios é comumente utilizada como uma estimativa da biomassa microbiana ativa do solo (ZELLES et al., 1999). Somado a isso, estudos vem encontrando relacionamento positivo entre a biomassa microbiana estimada por PLFA e aquela estimada por metodologias tradicionais (VAN GROENIGEN et al., 2010; RINKLEBE & LANGER, 2010). Outros aspectos da comunidade microbiana do solo que podem ser acessados pelo uso de ácidos graxos como marcadores são a estrutura e a composição.

Em microrganismos, as propriedades variáveis dos ácidos graxos capazes de discriminar entre um grupo microbiano e outro estão intimamente relacionadas às rotas de biossíntese, as quais são relativamente particulares para cada grupo microbiano. É preciso dizer relativamente particulares porque alguns ácidos graxos utilizados como marcadores possuem origem biológica diversificada, resultado do compartilhamento de rotas biossintéticas (RUESS & CHAMBERLAIN, 2010) (Tabela 1). Como exemplos de propriedades dos ácidos graxos associadas à rota de biossíntese, e que servem para a discriminação entre grupos microbianos estão: a ausência/presença; quantidade relativa; tamanho da cadeia; ocorrência, localização, e número de insaturações (duplas ligações); presença de hidroxilas (OH); ocorrência de ramificações (cíclicas ou não); presença de grupamento metílico (CH_3) ao longo da cadeia.

Na literatura, as diferentes designações dos ácidos graxos estão associadas a muitas das propriedades discriminantes mencionadas acima. No entanto, um padrão básico encontrado é o **A: B ω C** (ZAADY et al., 2010), onde a letra **A** denota o número de átomos de carbono da cadeia, a letra **B** representa o número de insaturações presentes na cadeia carbônica; a letra grega ômega (ω) indica o grupo metil (CH_3) terminal da molécula, e a letra **C** indicada a posição da primeira insaturação contada a partir do grupo metil terminal (ω).

A título de exemplo, o marcador para fungos em geral (**18:2 ω 6**). Dezoito carbonos formando a cadeia, duas insaturações, onde a primeira insaturação está a seis carbonos de distância do grupamento metil terminal da molécula. Algumas notações podem ser encontradas na literatura (Tabela 1), como é o caso dos prefixos **a** e **i**, os quais indicam ramificação **anteiso** e **iso**, respectivamente. Os sufixos **t** e **c**, por exemplo, indicam conformação trans e cis, respectivamente. Outros, como o **α -OH** e o **β -OH**, indicam que as hidroxilas estão, respectivamente, na primeira e segunda posição da cadeia contando a partir do grupo carboxílico. Há também a designação em que um número vem seguido da notação **ME**, indicando a posição do grupamento metil (CH_3) na cadeia hidrocarbonada. Designações com prefixo **cy** indicam a existência de grupamento ciclopropano ao longo da cadeia.

Apesar de ser considerada uma abordagem com nível médio de resolução, uma vez que não permite a caracterização em nível de espécies, e sim de grupos microbianos funcionais (fungos, bactérias, actinomicetos, protozoários, etc), a abordagem utilizando ácidos graxos como potenciais marcadores microbianos apresenta a possibilidade da interpretação

quantitativa (biomassa) e qualitativa (estrutura) da comunidade microbiana de maneira simultânea.

Em trabalho de revisão esclarecedor, ZELLES (1999) argumentou sobre a dicotomia que caracteriza as pesquisas com lipídios como marcadores microbianos. A primeira vertente, considerada a base, corresponde à pesquisa voltada para a caracterização de perfis de ácidos graxos a partir de culturas microbianas puras. Essa vertente serve basicamente para a ampliação da grade de descrição taxonômica, identificando padrões de quantidade, bem como de ocorrência e ausência para os mais diversos tipos de ácidos. Por exemplo, visando encontrar ácidos graxos com potencial para servir como marcadores bioquímicos para fungos arbusculares em nível de gênero, MADAN et al. (2002) compararam o perfil de ácido graxos de quatro espécies micorrízicas e detectaram um total 44 ácidos graxos. Desse total, somente os ácidos 16:1 e 16:1 ω 5 ocorreram em todas as espécies avaliadas. SAKAMOTO et al. (2004) conduziram um estudo semelhante e reportaram o ácido graxo 20:1 ω 9 como potencial marcador do gênero *Gigaspora*. O segundo corpo de pesquisas está baseado nos resultados obtidos pela frente de descrição taxonômica mencionada, utilizando esses resultados para a caracterização de amostras lipídicas mais complexas, isto é, contendo muitos ácidos graxos marcadores, por exemplo, as amostras provenientes do solo.

Com relação ao ambiente do solo há um crescimento considerável de estudos utilizando ácidos graxos para caracterização das comunidades microbianas. Esses estudos focam desde a comparação de manejos (DE VRIES et al., 2006; BEAUREGARD et al., 2010; VAN GROENIGEN et al., 2010; ZORNOZA et al., 2010; MONTECCHIA et al., 2011), passando por efeitos de clima (MARGESIN et al., 2009; ZAADY et al., 2010;), de estresse de oxigênio, (SONG et al., 2008), de umidade (GEISSELER et al., 2011), de textura (BACH et al., 2010), do pH (ALIASGHARZARD et al., 2010), e efeito “*priming*” (FONTAINE et al., 2011; LANGER & RINKLEBE, 2011), até trabalhos envolvendo o uso combinado de ácidos graxos e marcadores isotópicos (RINNAM & BÁÁTH, 2009; OLSSON et al., 2010; DUNGAIT et al., 2011).

Apesar do evidente crescimento, o uso da abordagem utilizando ácidos graxos para acessar aspectos da comunidade microbiana ainda é pouco explorado em ambientes em processo de recuperação após mineração. Em um estudo de longo prazo, MUMMEY et al. (2002) compararam a estrutura e biomassa PLFA das comunidades microbianas presentes em sítios recuperados e sítios não perturbados. CLAASSENS et al. (2006) investigaram, por meio da abordagem PLFA, o nível de distinção estrutural entre as comunidades microbianas presentes em sítios com diferentes idades de recuperação após a mineração de carvão. Similarmente, CLAASSENS et al. (2008) desenvolveram estudo buscando avaliar o comportamento da comunidade ao longo de uma cronosequência formada entre as áreas revegetadas com mistura de gramíneas.

Tabela 1. Alguns dos principais ácidos graxos utilizados como marcadores, suas frações lipídicas de origem, e origens biológicas predominantes.

Tipo de ácido	Frequentemente encontrados	Fração lipídica de origem	Origem predominante	Referências
Saturados ≥20c, e não ramificados	22:0; 24:0	PLFA e NLFA	Plantas	ZELLES (1999) RUESS et al. (2007)
Ramificações iso e anteiso	i e a C14-C18	PLFA	Bact. Gram (+)	ZELLES (1999)
Anel de ciclopropano (cy)	cy17:0 e cy19:0	PLFA	Bact. Gram (-)	ZELLES (1999)
Ramificação metil (Me) no carbono 10	10Me C15-C18	PLFA	Bact. reduct. SO ₄ ²⁻ Actinomicetos	DOWLING et al. (1986) KERGER et al. (1986)
Hidroxila substituinte	OH em C10-C18	PLFA	Bact. Gram (-) Actinomicetos	WAKEHAM et al. (2003); LEE et al. (2004); MIRZA et al. (1991)
Monoinsaturados				
Insaturação no C5 (ω5)	16:1ω5	PLFA NLFA	FMA e Bact. FMA	OLSSON et al. (1999); SAKAMOTO et al. (2004); ZELLES (1997) OLSSON et al. (1999); MADAN et al. (2002)
Insaturação no C7 (ω7)	16:1ω7 18:1ω7	PLFA PLFA	Amplo Bact. Bact/ FMA	GUCKERT et al. (1991); ZELLES (1999). ZELLES (1999); OLSSON et al. (1999)
Insaturação no C8 (ω8)	18:1ω8 16:1ω8	PLFA PLFA	Bact. Metano. Bact. Metano.	RINGELBERG et al. (1989) BODELIER et al. (2009)
Insaturação no C9 (ω9)	18:1ω9 20:1ω9	PLFA PLFA PLFA/NLFA NLFA PLFA	Fungo geral Bact. Gram (-) Plantas Nematóides FMA <i>Gigaspora</i>	BÅÅTH (2003) ZELLES (1999) RUESS et al. (2007) CHEN et al. (2001) SAKAMOTO et al. (2004)
Polinsaturados				
1º insaturação no C6 (ω6)	18:2ω6,9 18:3ω6,9,12 20:4ω6,9,12,15	PLFA NLFA PLFA/NLFA PLFA PLFA/NLFA	Fungo geral e EM Animais Plantas Zigomicetos Amplio animal	FROSTERGARD & BÅÅTH, (1996); ZELLES (1999) RUESS et al. (2000) RUESS et al. (2007) WESTHUIZEN et al. (1994) CHEN et al. (2001)

PLFA (ácidos graxos derivados de fosfolipídio); NLFA (ácidos graxos derivados de lipídios neutros); FMA (fungos micorrízicos arbusculares); EM (fungos ectomicorrízicos); Bact. red. SO₄²⁻ (Bactérias reductoras de sulfato). Bact. Metano: metanotróficas.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Área do Estudo e Histórico dos Sítios

O estudo foi realizado em uma área de mineração de ferro, na província mineral de Carajás, localizada no interior da Floresta Nacional de Carajás (FLONA), sudeste do estado do Pará, na Amazônia Brasileira (05°52` e 06°33` de latitude sul; e 49°53` e 50°45` de longitude oeste). Carajás é uma Unidade de Conservação (UC) Federal gerida pelo ICMBIO (Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade), e abrange os municípios de Parauapebas, Canaã dos Carajás, e Água Azul do Norte. Sua área é de aproximadamente 400 mil hectares. Carajás é um grande maciço de floresta ombrófila, floresta semi-caducifolia e campos rupestre rodeada por pastagens. O clima é tropical úmido. A precipitação média da estação chuvosa é de 2800 mm, e da estação seca: 600 mm. A temperatura média anual é de 24,8°C. As classes de solo predominantes são associações de Cambissolo Háplico com Neossolo Litólico (40% da área total); Latossolo Vermelho-Amarelo com Cambissolo Háplico (35% da área total).

O estudo foi conduzido em três sítios formados pelo mesmo tipo de substrato (rejeito de estéril de ferro), porém recuperados com diferentes estratégias, são eles: sítio R6, conhecido como CCI; sítio R3, conhecido como Oficina; e sítio R2, chamado de Topsoil (Figura 1). Um sítio com vegetação de floresta primária foi utilizado como referência (Ref). Em cada sítio foram selecionadas três parcelas de 10 x 20 m, distantes 20 m uma da outra.

No substrato do sítio R6 (CCI) (UTM E 596483 m e N 9329588 m) o processo de revegetação do substrato de rejeito de estéril teve início em novembro de 2004. O substrato de rejeito de estéril recebeu a aplicação de 1500 kg ha⁻¹ de calcário dolomítico. A adubação do substrato foi procedida com 400 kg ha⁻¹ de fosfato natural, 300 kg ha⁻¹ de cloreto de potássio, e 1500 kg ha⁻¹ de cama de galinha. O processo de plantio e adubação inicial foi realizado por meio do lançamento de coquetel de sementes de espécies exóticas e nativas sobre o substrato (hidrosemeadura). O coquetel de sementes utilizado incluiu espécies leguminosas arbóreas e arbustivas, nativas e exóticas, na proporção de 250 kg ha⁻¹, complementado com 10 kg ha⁻¹ de sementes de espécies arbóreas e arbustivas nativas.

O substrato sítio R3 (Oficina) (UTM E 594969 m e N 9327929 m) teve o processo de recuperação iniciado em novembro de 2007. Como no sítio R6 (CCI), a calagem do substrato de rejeito de estéril utilizado para formar o sítio R3 foi à proporção de 1500 kg ha⁻¹. A adubação foi realizada com 2000 kg ha⁻¹ de cama de galinha e 600 kg ha⁻¹ de NPK 4:14:8. Nesse sítio foram aplicados a lanço 280 kg ha⁻¹ de sementes de espécies forrageiras comerciais, 30 kg ha⁻¹ sementes de espécies arbóreas e arbustivas nativas. Contudo, esse sítio não apresentou indivíduos forrageiros no momento da amostragem de solo para as análises químicas, físicas e microbiológicas.

No sítio R2 (UTM E 591590 m e N 9331208 m) o processo de revegetação teve início em dezembro de 2008. A recuperação do substrato que deu origem a esse sítio foi baseada na utilização de camada fértil previamente obtida no processo de supressão de uma área floresta primária localizada no entorno da mina. O material foi basculado em outubro de 2008 e espalhado em dezembro do mesmo ano com uma espessura média de 20 cm sobre o substrato de rejeito de estéril. Após o recobrimento do substrato com a camada de solo não foi realizada qualquer operação de manejo, como calagem, adubação, e lançamento de coquetel de sementes comerciais e/ou nativas. Dessa forma, a vegetação presente nesse sítio teve sua origem no banco de sementes presente na camada fértil utilizada.

Uma área de floresta primária (floresta ombrófila) foi utilizada como referência (Ref.) (UTM E 591957 m e N 9327257 m). As parcelas selecionadas nesta área de estudo estavam afastadas cerca de 50 metros da borda da mata.

3.2. Amostragens de Solo

As amostragens de solo para as análises das propriedades químicas, físicas e microbiológicas foram feitas em agosto de 2010. Em cada parcela foram coletadas três amostras compostas na profundidade de 0 a 10 cm, formadas cada uma por seis amostras simples tomadas em posições aleatórias. As amostras foram peneiradas (2 mm), armazenadas, e enviadas via aérea para o laboratório de Leguminosas florestais da Embrapa Agrobiologia. A análise do carbono da biomassa (MBC), da respiração basal (Resp), da atividade individual de enzimas, como a fosfatase ácida (AcP), β -glucosidase (Gluco), e lacase, além da atividade conjunta das proteases, esterases, e lipases (FDA), foram procedidas em até 14 dias após a chegada das amostras no laboratório.

3.3. Caracterização da Comunidade Arbórea e Arbustiva

No mesmo período de amostragem do solo (agosto de 2010) foi realizado o levantamento de todas as espécies arbustivas e arbóreas presentes nas parcelas dos sítios e apresentavam altura igual ou superior à 1,5 m. A avaliação seguiu a proposta por MUELLER-DOMBOIS & ELLEMBERG (1974). A identificação foi feita em nível de espécie, gênero, e de família botânica. A opção da caracterização da comunidade vegetal baseada apenas nos indivíduos de porte arbóreo e arbustivo foi feita porque o componente herbáceo, em especial aquele de gramíneas foi praticamente nulo nos sítios onde foram feitas as amostragens de solo. Além disso, a caracterização do componente herbáceo faz parte de outro trabalho acadêmico que está sendo desenvolvido nos mesmos sítios.

3.4. Propriedades Físicas e Químicas

A caracterização química consistiu na determinação dos valores de pH em água, teores disponíveis de P e K; teores trocáveis de Ca, Mg, Al e H+Al; teor de matéria orgânica (EMBRAPA, 1997); e P remanescente (ALVAREZ V. et al., 2000). O carbono e nitrogênio totais foram analisados em um CHNS/O Elemental Analyzer (PerkinElmer Inc. USA). A caracterização física consistiu na determinação da granulometria (porcentagem de areia, silte, e argila) em terra fina seca ao ar (RUIZ, 2005).

3.5. Aspectos Microbiológicos

3.5.1. Biomassa microbiana e respiração basal

O carbono da biomassa microbiana (MBC) foi obtido pelo método clorofórmio-fumigação-extração (VANACE et al., 1987). O extrato obtido em solução de K_2SO_4 0,5 M foi analisado por colorimetria (BARTLETT & ROSS, 1988). Os valores de MBC foram obtidos aplicando-se um Kc igual a 0,35 (ANDERSON et al., 2008). O resultado foi expresso em mg de C microbiano kg^{-1} de solo seco.

A taxa de respiração basal do solo (Resp) foi mensurada por meio do método de incubação do solo com armadilha de CO_2 com NaOH seguida de titulação com HCl (SILVA et al., 2007). A taxa de respiração foi medida ao longo de 10 dias de incubação a 25°C em frascos de 2L hermeticamente fechados e mantidos no escuro. O C respirado foi expresso em $\mu g CO_2-C kg^{-1}$ solo seco h^{-1} . O quociente metabólico (qCO_2) foi calculada pela razão entre a Resp e o MBC.

3.5.2. Avaliações enzimáticas

A atividade microbiana global do solo foi mensurada através da determinação da hidrólise do diacetato de fluoresceína (FDA) (SCNHÜRER & ROSSWALL, 1982). Duas replicatas foram utilizadas para cada amostra. Os resultados foram expressos em μmol s de fluoresceína g^{-1} solo seco h^{-1} .

As atividades de enzimas hidrolíticas associadas ao ciclo do carbono e do fósforo foram determinadas colorimetricamente a partir da degradação de substratos artificiais em condições reacionais ótimas. As enzimas e substratos utilizados foram: (i) fosfatase (EC 3.1.3.2) analisada com 4-Nitrophenyl phosphate disodium salt hexahydrate; (ii) β -glucosidase (EC 3.2.1.21) analisada com 4-Nitrophenyl β -D-glucopyranoside; (iii) Lacase (EC 1.10.3.2) analisada com 3,4-Dihydroxy-L-phenylalanine (L-DOPA).

A atividade das enzimas fosfatase ácida e β -glucosidase foram avaliadas espectrofotometricamente, de acordo com TABATABAI et al. (1994) e EIVAZI & TABATABAI (1988), respectivamente, com algumas modificações. A análise de fosfatase foi realizada em meio não tamponado utilizando-se duas replicatas em tubos de ensaio contendo 0,5 g de solo, 1 mL de H_2O seguido de 1 mL do substrato na concentração de 50 mM. As amostras foram incubadas a 30°C por 1h e a reação paralisada após esse período com 0,5 ml de CaCl_2 0,5 M e 2 ml de NaOH 0,5 M. A análise da β -glucosidase foi realizada sob as mesmas condições da análise da fosfatase à exceção do uso de tampão acetato de sódio 100 mM pH 5,5 no meio de reação e incubação a 30°C por 2h. Os controles consistiram de amostras de solo adicionadas de 2 mL de H_2O ou 2 mL do tampão acetato, para fosfatase ácida e β -glucosidase, respectivamente. Um tubo sem solo contendo 1 mL de H_2O (ou tampão acetato para a β -glucosidase) e 1 mL de substrato foi utilizado como branco. Todas as amostras foram centrifugadas e lidas em espectrofotômetro com absorvância de 410 nm. A quantidade de *p*-nitrofenol formada em cada amostra foi determinada com base em uma curva padrão com concentrações conhecidas de *p*-nitrofenol, e os resultados foram expressos em μmol s *p*-nitrofenol g^{-1} solo seco h^{-1} .

A atividade da lacase foi mensurada espectrofotometricamente em duas replicatas de tubos de ensaio contendo 0,5 g de solo (SINSABAUGH et al., 1999). Foi adicionado 1 mL de H_2O a cada uma das amostras seguidas de 1 mL do substrato preparado em tampão acetato 5 mM pH 5. Nos controles com solo foram adicionados 1 mL de H_2O seguido de 1 mL de tampão acetato. Após 1 h de incubação a 30°C , a paralisação da reação foi feita com adição de 1 mL de azida sódica 0,6% (w/v). Finalmente, as amostras foram centrifugadas e analisadas em espectrofotômetro a 460 nm. A quantidade de dihydroindole-quinone-carboxylate (DIC) formado foi determinada baseada no coeficiente de extinção micromolar de 1,6 (SINSABAUGH et al., 1999). A atividade de lacase foi expressa em nmol DIC g^{-1} de solo seco h^{-1} .

3.5.3. Glomalina

As frações da glomalina foram extraídas e quantificadas de acordo com o método padronizado por WRIGHT & UPADHYAYA, (1998), e os resultados expressos em mg de proteína g^{-1} solo seco.



Figura 1. Parcelas dos sítios investigados no presente estudo. Três parcelas (10 x 20 m) de cada um dos 4 sítios. Dispostos horizontalmente e começando de cima para baixo: R6 (CCI); R3 (Oficina); R2 (Topsoil); Ref (Floresta primária).

3.6. Análises dos Dados

3.6.1. Análises paramétricas

Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) seguida de teste de média LSD. Para preencher as exigências da ANOVA, a normalidade dos dados foi testada por assimetria e curtose, e a homogeneidade da variância foi investigada pelo teste de Levene. Dados que não atenderam as exigências de normalidade e homogeneidade da variância foram log-transformados. As análises paramétricas foram conduzidas em STATGRAPHIC PLUS 5.1.

3.6.2. Análises multivariadas

Para as análises multivariadas, todos os dados foram analisados utilizando os pacotes, Vegan (OKSANEN et al., 2007), BiodiversityR (KINDT & COE, 2005), e labdsv (ROBERTS, 2006) disponíveis para o programa R (R Development Core Team 2007).

Uma ordenação dos sítios por escalonamento multidimensional não métrico (NMDS “*Nonmetric Multidimensional Scaling*”) foi realizada com base nas seguintes variáveis de estrutura vegetal: riqueza de espécies arbóreas, riqueza de espécies arbustivas, número de famílias botânicas arbóreas, número de famílias botânicas arbustivas, riqueza de leguminosas

arbóreas, riqueza de espécies leguminosas arbustivas, e porcentagem de área coberta por leguminosas (Tabela 2). A decisão de usar a riqueza como principal variável representando a vegetação se deu porque essa é uma das variáveis de estrutura vegetais mais utilizadas para acessar efeitos da vegetação sobre processos dos ecossistemas (Hector, 2007). Os dados foram previamente submetidos à transformação Wisconsin (LEGENDRE & LEGENDRE, 1998), e repetidamente ordenados em um espaço bidimensional com base na distância de Bray-Curtis até alcançarem o melhor ajuste entre a distância de ordenação e dissimilaridade observada (menor estresse) (LEGENDRE & LEGENDRE, 1998). Para auxiliar na interpretação do resultado da NMDS, foi feito o ajuste de vetores ambientais (variáveis químicas, físicas e microbiológicas) significativos ao teste de permutação de Monte Carlo (999 permutações) (COX & COX, 2001).

Nos quatro sítios investigados, R2 (Topsoil), R3 (Oficina), R6 (CCI), e Ref (Floresta primária), bem como em suas parcelas, o grau de relacionamento entre a vegetação e o ambiente interno do substrato (químico e microbiológico) foi acessado por intermédio da análise Procrustes, também chamada de sobreposição Procrustea (PERES-NETO & JACKSON, 2001). A significância do relacionamento foi testada por teste de permutação denominado PROTEST (PERES-NETO & JACKSON, 2001). A análise Procrustes está baseada na sobreposição (relacionamento) entre duas matrizes multivariadas de dados. Enquanto uma das matrizes é mantida fixa, a outra matriz é rotacionada sobre a matriz fixa na busca pelo melhor ajuste entre elas. Esse melhor ajuste é atingido quando a soma do quadrado da diferença entre os resíduos das coordenadas correspondentes é minimizada (PERES-NETO & JACKSON, 2001). As coordenadas correspondentes nada mais são do que as parcelas dos sítios ordenadas com base em matrizes de dados distintas. O exame visual da solução gráfica fornecida pela sobreposição Procrustea exibe uma série de vantagens. A principal delas é a possibilidade de interpretar o grau de relacionamento entre dois conjuntos de dados multivariados de forma individual. Isso significa que o grau de relacionamento entre dois ambientes (ex. solo e vegetação) pode ser acessado em nível de sítios e também em nível de parcelas dos sítios. O grau de relacionamento entre as matrizes é dado por um valor de R , e a significância dessa estatística é dada por um valor de P (PERES-NETO & JACKSON, 1995). Para melhor entender vejamos o exemplo hipotético a seguir:

Supomos que uma matriz multivariada de dados $[X]$ representando a poluição do solo tenha sido ordenada por um método de ordenação qualquer (PCA, NMDS, etc). Suponhamos que outra matriz multivariada de dados $[Y]$, representando a comunidade da fauna do solo, seja ordenada pelo mesmo método de ordenação utilizado para a matriz $[X]$. Além disso, considerando que as matrizes $[X]$ e $[Y]$ tenham a mesma dimensão ($n \times m$). Pode ser interessante para o pesquisador, por exemplo, saber o grau de relacionamento entre poluição e a fauna tanto em nível de sítio quanto em nível de parcela do sítio (repetição), tendo um valor de R e de P . Com a análise Procrustes, após as matrizes de poluição e de fauna serem sobrepostas, os pontos de amostragem correspondentes (por exemplo: repetição **A** da matriz $[X]$ e repetição **A** da matriz $[Y]$) irão atingir o melhor ajuste entre si. A visualização do tamanho do resíduo que une os pontos correspondentes dará ao pesquisador uma ideia de quão estreita é a relação entre a poluição do solo e a comunidade da fauna edáfica para uma dada dimensão, por exemplo, a repetição **A**. Quanto menor for o resíduo, mais estreito é considerado o relacionamento. Dessa forma, o exame visual da variação no tamanho médio do resíduo pode ser considerado para avaliar o relacionamento entre dois conjuntos de dados dentro de cada tratamento.

Adicionalmente, o tamanho dos resíduos da sobreposição procrustea pode ser extraído na forma de vetor e ser utilizado para novos testes estatísticos, uma vez que esse vetor representa o relacionamento entre as matrizes (PERES-NETO & JACKSON, 2001). No presente estudo, o tamanho dos resíduos para cada sobreposição procrustea conduzida, e

considerada significativa, foi submetido à regressão linear simples com variáveis químicas e microbiológicas do substrato para detectar quais delas eram significativamente responsivas aos relacionamentos indicados pela sobreposição (SINGH et al., 2008; 2011).

Três matrizes multivariadas foram consideradas para a condução da sobreposição Procrustea seguida de teste de significância PROTEST. A matriz multivariada representando a vegetação foi construída com variáveis de estrutura vegetal: riqueza de espécies arbóreas (wrch); riqueza de espécies arbustivas (brch), riqueza de famílias arbóreas (wfam), riqueza de famílias arbustivas (bfam), riqueza de leguminosas arbóreas (wleg), riqueza de leguminosas arbustivas (bleg), cobertura por leguminosas (covleg). Já a matriz multivariada formada por aspectos microbiológicos do substrato foi arquitetada com as variáveis: biomassa microbiana (MBC), respiração basal (Resp), eficiência metabólica (qCO₂), atividades da fosfatase ácida (AcP), β-glucosidase (Gluco), lacase, hidrólise do FDA (FDA), teor de glomalina facilmente extraível (EEG), e glomalina total (TG). A matriz representando o ambiente químico do substrato considerou as seguintes variáveis: pH, acidez potencial (HAL), concentração de alumínio (Al), carbono orgânico total (COT), nitrogênio total (TN), relação C:N (CN), tores de cálcio e magnésio (Ca, Mg), capacidade de troca catiônica efetiva (CTE), e capacidade de troca catiônica total (CTC).

As sobreposições Procrusteanas, entre duas matrizes de dados multivariados, realizadas no presente estudo foram conduzidas após o isolamento do efeito de uma terceira matriz sobre aquelas em processo de análise (Figura 2). Por exemplo, a sobreposição (relacionamento) entre a matriz de vegetação e a matriz de dados representando o ambiente químico do substrato foi acessada após a exclusão do efeito da matriz de aspectos microbiológicos. Também, o relacionamento entre a matriz de vegetação e a matriz representando os aspectos microbiológicos do substrato foi acessado após o isolamento do efeito da matriz representando o ambiente químico do substrato. Por sua vez, o relacionamento dado pela sobreposição entre a matriz representando o ambiente químico do substrato e a matriz de aspectos microbiológicos, foi acessado após o isolamento do efeito da matriz de vegetação. Essa forma de conduzir as sobreposições Procrusteanas, e que foi adotada no presente trabalho recebe o nome de PROTEST parcial (PERES-NETO & JACKSON, 2001). A opção por conduzir à análise dessa forma foi para dar uma interpretação mais realista aos relacionamentos considerados significativos.

Antes da condução da sobreposição e do PROTEST parcial as matrizes multivariadas de dados foram submetidas à avaliação da normalidade multivariada por intermédio do teste de Shapiro-Wilk. As matrizes que não atenderam à normalidade foram submetidas à transformação Box-Cox (LEGENDRE & LEGENDRE, 1998). Para atender a exigência da sobreposição Procrustea de que as matrizes em análise devem ter a mesma dimensionalidade, isto é, mesmo número de linhas e colunas ($n \times m$), cada uma das matrizes Box-Cox transformadas foi previamente submetida à análise de componentes principais (PCA). Em seguida, os scores (coordenadas) dos sítios para os dois primeiros componentes de cada matriz ordenada por PCA (PC1 e PC2) foram extraídos. Dessa forma, com as novas variáveis, PC1 e PC2, as matrizes alcançaram a mesma dimensão ($n \times m$). Por fim, as novas matrizes foram utilizadas para a detecção do relacionamento por intermédio da sobreposição Procrustea e o PROTEST parcial.

Com o objetivo de aquilatar as discussões realizadas com base nos resultados de relacionamentos entre matrizes, indicados pelas sobreposições Procrusteanas e PROTEST parcial, a contribuição isolada de ambos, ambiente químico do substrato e vegetação para a variação dos aspectos microbiológicos foi obtida por meio da Partição da Variação seguida de RDA parcial (LEGENDRE & LEGENDRE, 1998).

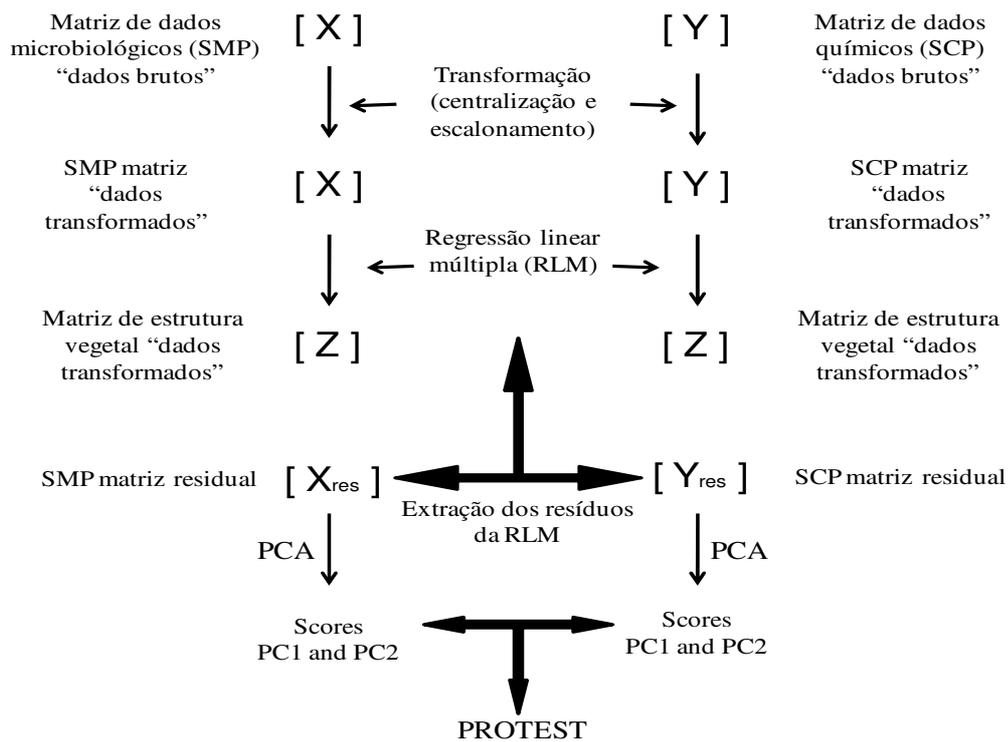


Figura 2. Estratégia para o PROTEST parcial. Primeiro, as variáveis de todas as matrizes, [X],[Y] e [Z], foram previamente centralizadas e escalonadas para terem variância unitária e média zero. Após, regressão linear múltipla entre cada matriz que foi investigada, [X] e [Y], e a matriz de dados de vegetação [Z] foi conduzida. Em seguida, os resíduos foram extraídos para cada regressão e compilados em duas matrizes residuais distintas, uma representando o ambiente microbiológico dos dados [X_{res}], e outra representando o ambiente químico do substrato [Y_{res}]. As matrizes residuais, [X_{res}] e [Y_{res}], foram submetidas à PCA, e os scores dos dois primeiros componentes principais para cada uma delas (PC1 e PC2) foram extraídos para que ambas alcançassem a mesma dimensionalidade, isto é, mesmo número de linhas e colunas ($n \times m$) (PERES-NETO & JACKSON, 2001). As novas matrizes residuais foram então utilizadas para a avaliação do grau relacionamento entre o ambiente químico do substrato e a variação dos aspectos microbiológicos.

Os padrões de relacionamento entre variáveis de estrutura vegetal e grupos de variáveis edáficas, bem como as variáveis de estrutura vegetal habilidosas em modelar a resposta edáfica do substrato, foram adicionalmente investigadas por meio de análise de redundância (RDA). Primeiramente, uma RDA global, contendo todas as variáveis da estrutura vegetal como variáveis explicativas, foi conduzida. A avaliação global permite prevenir aumentos indevidos na taxa de erro do tipo I (BLANCHET et al., 2008). Os dados edáficos, os quais incluíam variáveis microbiológicas e propriedades físicas e químicas, foram compilados em uma matriz considerada responsiva, enquanto os dados de estrutura vegetal formaram a matriz explicativa (ambiental). Antes da RDA global, ambas as matrizes foram submetidas à transformação Box-Cox para preenchimento da normalidade multivariada (LEGENDRE & LEGENDRE, 2001). Após a condução do modelo global, e constatada a significância do coeficiente de determinação bivariado ajustado (R^2 ajustado), todas as variáveis de estrutura vegetal (explicativas) foram investigadas quanto à colinearidade. Para isso foram avaliados os fatores que estavam inflacionando a variação explicada (VIF, do inglês “Variance Inflation Factors”) (NETER et al., 1996).

A presença de grande número de variáveis de estrutura vegetal com $VIF > 20$ indica necessidade de redução do número de variáveis explicativas, isto é, um modelo mais moderado, também chamado de modelo parcimonioso (RDA parcimoniosa). A seleção de variáveis explicativas foi conduzida por STEPWISE no modo “*forward selection*”, e foi baseada em dois critérios de parada: significância (P) de cada variável explicativa e R^2 ajustado do modelo global. Esse duplo critério permite reduzir as chances de a “*forward selection*”, baseada apenas na significância, selecionar variáveis indevidas, e assim inflacionar a variação dos dados resposta (dados de solo) explicada pela matriz de dados explicativos (estrutura vegetal), isto é, o R^2 (BLANCHET et al. 2008).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Caracterização das Comunidades Vegetais

A caracterização das comunidades vegetais mostrou que todas as parcelas do sítio R6 (CCI), para ambos os portes, arbóreo e arbustivo, foram dominadas pela família *Fabaceae* (Leguminosa) (Tabela 2). Nesse sítio, das dez espécies arbóreas detectadas apenas as leguminosas arbóreas *Senna sylvestris* e *Bauhinia acreana* exibiram mais do que dez representantes (185 e 157 indivíduos respectivamente). Contudo, *Bauhinia acreana* ficou restrita à parcela R6(1), enquanto *Senna sylvestris* foi mais bem distribuída. *Senna Sylvestris* foi a espécie arbórea com maior dominância relativa média (Tabela 3). Ainda no sítio R6 (CCI), apenas duas espécies arbustivas foram detectadas, as leguminosas *Mimmosa acutistipula* e *Mimmosa setosa*. Porém, *Mimmosa setosa* pode ser considerada um “outlier”, pois só exibiu um representante. Já *Mimmosa acutistipula* exibiu 63 indivíduos, sendo a espécie de porte arbustiva com maior dominância relativa (Tabela 3) Outra informação importante é que o sítio R6 (CCI) foi aquele com maior cobertura por leguminosas (88,7 %) entre todos os sítios investigados.

O substrato do sítio R2 (Topsoil) foi dominado pela família *Urticaceae* para o porte arbóreo, e pela família *Solanaceae* para o porte arbustivo (Tabela 2). Esse sítio suportou vegetação com 21 espécies arbóreas e 4 espécies arbustivas. A espécie arbórea com maior número de representantes foi *Cecropia ficifolia*, com 133 indivíduos encontrados, sendo a de maior dominância relativa entre as de porte arbóreo (Tabela 4). Para o porte arbustivo, *Solanum rugoso* foi a mais representativa, com 99 indivíduos encontrados, sendo a de maior dominância relativa (Tabela 4). Um ponto importante é que não foram detectadas espécies arbustivas de leguminosas no R2 (Topsoil). Isso pode ter contribuído para que o sítio tenha apresentado a menor cobertura média por leguminosas entre todos os sítios (5,8 %).

A vegetação suportada pelo substrato formador do sítio R3 (Oficina) foi dominada na maior parte das parcelas pela família *Leguminosa*, para ambos os portes (Tabela 2). Contudo, entre as 16 espécies arbóreas detectadas não foram observadas grandes discrepâncias em termos de dominância relativa. Esse sítio foi aquele com o segundo maior percentual médio de cobertura por leguminosas (30 %).

No sítio de referência (Ref) foi observado que as parcelas foram dominadas por diferentes famílias botânicas (Tabela 2), porém, não houve diferença marcante entre as espécies detectadas em termos de dominância relativa média. Não foram encontradas espécies de porte arbustivo no sítio de floresta primária (Tabela 3).

4.2. Propriedades de Solo (ANOVA e Teste de Médias)

4.2.1. Variáveis químicas e físicas

Com respeito ao pH do solo, o sítio de referência mostrou o menor valor, o qual foi sensivelmente menor do que os valores mostrados pelos sítios em recuperação R2(Topsoil) e R3 (Oficina), e não estatisticamente distinto do valor de pH exibido pelo sítio R6 (CCI) (Tabela 5). A outra variável associada à acidez do solo, a concentração de $H^+ + Al^{+3}$, designada por HAL, foi também maior para o sítio de referência (Ref), e foi significativamente diferente dos sítios em recuperação (Tabela 5). Para essa variável, o sítio R2 (Topsoil) foi aquele que exibiu o segundo maior valor, porém, esse valor só foi significativamente distinto daquele exibido pelo sítio R3 (Oficina). O sítio R3 (Oficina) foi aquele com o menor valor de acidez potencial do solo (Tabela 5).

O sítio de referência, Ref, foi aquele com menor saturação por bases (V), e esse valor foi significativamente menor do que os valores exibidos pelos sítios R2(Topsoil) e R3 (Oficina) (Tabela 5), porém, não foi suficientemente diferente do valor exibido pelo sítio R6 (CCI) (Tabela 5). O valor de V para o sítio R6 não foi significativamente distinto dos valores dos sítios R2 e R3 (Tabela 5). O conteúdo de carbono orgânico total (COT) exibiu seus maiores valores nos sítios R2 e Ref, 14 g kg⁻¹ e 20 g kg⁻¹, respectivamente (Tabela 5). Esses valores foram significativamente maiores do que aqueles exibidos pelos sítios R3 e R6.

O conteúdo total de nitrogênio (TN) foi maior no sítio de referência (Ref), contudo, esse valor só foi significativamente maior do que TN exibido pelo sítio R6 (CCI) (Tabela 5). A relação C:N teve seus menores valores espelhados pelos sítios R3 (Oficina) e R6 (CCI), 9,6 e 10, respectivamente (Tabela 5). Esses valores de C: N foram significativamente menores do que os valores mostrados pelos sítios R2 (Topsoil) e Ref (Tabela 5). Os sítios R3 (Oficina) e R6 (CCI) foram aqueles com maior disponibilidade de fósforo (Tabela 5). Contudo, com relação ao conteúdo desse nutriente, somente o valor demonstrado pelo sítio R6 foi significativamente maior do que os valores nos sítios R2 (Topsoil) e Ref (Tabela 5).

Tabela 2. Família botânica dominante para cada tipo de porte (arbóreo e arbustivo) e em cada parcela dentro dos sítios investigados.

Parcela	Família botânica dominante	
	Arbórea	Arbustiva
R2(1)	Urticaceae	Solanaceae
R2(2)	Urticaceae	Solanaceae
R2(3)	Urticaceae	Solanaceae
R3(1)	Fabaceae	Fabaceae
R3(2)	Fabaceae	Solanaceae
R3(3)	Urticaceae	Fabaceae
R6(1)	Fabaceae	Fabaceae
R6(2)	Fabaceae	Fabaceae
R6(3)	Fabaceae	Fabaceae
Ref(1)	Rutaceae	nd
Ref(2)	Fabaceae	nd
Ref(3)	Malvaceae	nd

R2 (Topsoil); R3 (Oficina); R6 (CCI); Ref (Floresta primária); nd: não detectado.

O teor de argila para a referência foi significativamente maior do que os teores exibidos pelos sítios em recuperação (Tabela 5). Os sítios em recuperação (R2, R3, e R6) não diferiram entre si em termos de concentração de argila (Tabela 5). Apesar de os sítios investigados não diferirem de forma significativa com relação ao conteúdo de silte (Tabela 5), o sítio R6 (CCI) foi aquele com maior percentagem média para essa fração granulométrica (Tabela 5).

Tabela 3. Espécies com maior dominância relativa média para os sítios R2 (Topsoil) e R6 (CCI).

	arbóreas	arbustivas	Leguminosas arbóreas	Leguminosas arbustivas
R6 (CCI)	<i>Senna sylvestris</i>	<i>Mimosa acutistipula</i>	<i>Senna sylvestris</i>	<i>Mimosa acutistipula</i>
R2 (Topsoil)	<i>Cecropia ficifolia</i>	<i>Solanum rugoso</i>	<i>Senna latifolia</i>	nd

Nos sítios R3 (Oficina) e Ref (Floresta primária) não foi detectada espécie com dominância relativa média considerada marcante, por isso, eles foram omitidos da tabela.

4.2.2. Variáveis microbiológicas

Com respeito à atividade de enzimas do solo, a atividade da fosfatase ácida foi superior para o sítio de referência (Ref) 18 $\mu\text{mols } p\text{-nitrofenol g}^{-1} \text{ solo seco h}^{-1}$. A atividade dessa enzima foi considerada significativamente maior do que aquelas exibidas pelos sítios em recuperação (Tabela 4). Os substratos em processo de recuperação não diferiram quanto à atividade da fosfatase ácida. Com relação à atividade da enzima β -glucosidase, o sítio R6(CCI) foi aquele que exibiu o maior valor, 2,67 $\mu\text{mols } p\text{-nitrofenol g}^{-1} \text{ solo seco h}^{-1}$ (Tabela 4). Entretanto, essa atividade só foi significativamente maior do que aquela exibida pelo sítio R2 (Topsoil) (Tabela 4). A atividade enzimática global, medida pela hidrólise FDA, foi maior para o sítio Ref, 383,2 $\mu\text{mols Fluorescein g}^{-1} \text{ de solo seco h}^{-1}$ (Tabela 4), porém, essa atividade foi significativamente maior apenas em relação aos sítios R2 (Topsoil) e R3 (Oficina) (Tabela 4). A atividade da lacase, também chamada de fenol oxidase, variou na faixa de 7,53 $\text{nmol DIC g}^{-1} \text{ de solo seco h}^{-1}$ no sítio R2 (Topsoil) a 15,01 $\text{nmol DIC g}^{-1} \text{ de solo seco h}^{-1}$ no sítio R6 (CCI). Contudo, não foi detectada diferença significativa entre os sítios investigados, incluindo a referência (Tabela 4).

O carbono da biomassa microbiana (MBC) teve seu maior valor representado pelo sítio de referência, 398,8 $\text{mg de C microbiano kg}^{-1} \text{ de solo seco}$ (Tabela 4). Esse valor foi marcadamente maior do que os valores exibidos pelos sítios em recuperação (Tabela 4). Não houve diferença entre os sítios em recuperação com relação ao tamanho da biomassa microbiana (MBC) (Tabela 4). A respiração basal do solo (Resp) também não diferiu entre os sítios investigados, incluindo a referência (Ref) (Tabela 4). O quociente metabólico ($q\text{CO}_2$) foi menor para o sítio de referência representado por floresta primária (Tabela 4). O valor de $q\text{CO}_2$ exibido pela referência foi significativamente menor do que os valores exibidos pelos sítios em processo de recuperação (Tabela 4). Não houve diferenças significativas entre os sítios em recuperação com relação ao $q\text{CO}_2$ (Tabela 4).

A floresta primária (Ref) foi o sítio detentor dos maiores valores para ambas as frações da proteína do solo relacionada à glomalina: glomalina facilmente extraível (EEG) e glomalina total (TG), (Tabela 4). Para o teor de glomalina fácil (EEG), o valor exibido pela referência, 2,68 mg g^{-1} , foi sensivelmente distinto de todos os sítios em recuperação (Tabela 4). Mesma propensão foi apresentada pelo teor de glomalina total (TG) (Tabela 4).

Em relação aos sítios em processo de recuperação, o sítio R6 (CCI) foi aquele com os maiores valores para ambas, EEG e TG, (Tabela 4). O valor de EEG para o sítio R6 foi sensivelmente maior do que os valores exibidos pelos sítios R2 (Topsoil) e R3 (Oficina).

Tabela 4. Média e erro padrão da média para variáveis microbiológicas, químicas e físicas. Valores com letras não compartilhadas indicam diferença significativa entre as médias (ANOVA; LSD, $P < 0.05$).

Propriedades microbiológicas	R2 (Topsoil)	R3 (Oficina)	R6 (CCI)	Ref, (Floresta primária)
AcP ($\mu\text{mols } p\text{NP g}^{-1} \text{ ss h}^{-1}$)	7,0 (1,23) b	5,23 (0,029) b	8,6 (2,37) b	18,0 (2,0) a
Gluco ($\mu\text{mols } p\text{NP g}^{-1} \text{ ss h}^{-1}$)	0,74 (0,052) b	1,63(0,43) ab	2,37 (0,40) a	1,55 (0,22) ab
FDA ($\mu\text{mols de fluores g}^{-1} \text{ ss h}^{-1}$)	199,8 (34,9) b	117,5 (19,08) b	231,5 (37,4) ab	383,2 (84,18) a
Laccase (nmol DIC $\text{g}^{-1} \text{ ss h}^{-1}$)	7,53 (0,70) a	8,18 (1,48) a	15,01 (4,02) a	10,5 (2,57) a
MBC (mg de C-mic $\text{kg}^{-1} \text{ ss}$)	63,4 (19) b	80,2 (26,7) b	114,2 (20) b	398,8 (61,7) a
Resp ($\mu\text{g CO}_2\text{-C kg}^{-1} \text{ ss h}^{-1}$)	3,96 (1,85) a	6,27 (0,64) a	6,28 (0,76) a	5,53 (0,69) a
qCO ₂	0,71 (0,26) b	1,04 (0,39) b	0,56 (0,026) b	0,14 (0,034) a
TG (mg de proteína $\text{g}^{-1} \text{ ss}$)	0,65 (0,21) bc	0,26 (0,092) c	1,21 (0,40) b	2,86 (0,21) a
EEG (mg de proteína $\text{g}^{-1} \text{ ss}$)	0,39 (0,07) c	0,33 (0,039) c	1,34 (0,16) b	2,68 (0,06) a
Propriedades químicas				
pH	5,1 (0,12) b	5,2 (0,19) b	4,6 (0,25) ab	4,19 (0,17) a
HA1 ($\text{cmol}_c \text{ dm}^{-3}$)	1,40 (0,016) b	0,95 (0,15) c	1,05 (0,091) bc	2,1 (0,14) a
V (%)	40,5 (7,2) a	43,2 (2,4) a	26,2 (7,0) a	14,3 (4,5) c
COT (g kg^{-1})	14 (0,50) a	6,36 (3,4) b	4,1 (1,1) b	20 (2,8) a
TN (g kg^{-1})	4,8 (0,45) ab	5,63 (1,83) ab	5,83 (0,63) b	8,70 (0,20) a
CN	14,2 (0,63) a	9,6 (0,27) b	10,0 (0,30) b	13,9 (0,21) a
P (mg dm^{-3})	1,0 (0,2) b	2,9 (2,4) ab	5,26 (0,84) a	1,0 (0,05) b
P-rem (mg L^{-1})	27,7 (1,7) a	31,1 (3,7) a	34,8 (0,90) a	33,7 (9,8) a
Ca ($\text{cmol}_c \text{ dm}^{-3}$)	2,3 (0,24) a	0,36 (0,10) b	1,3 (0,47) ab	0,56 (0,41) b
Mg ($\text{cmol}_c \text{ dm}^{-3}$)	0,55 (0,06) a	0,65 (0,24) a	0,53 (0,20) a	0,19 (0,12) a
CTE ($\text{cmol}_c \text{ dm}^{-3}$)	3,18 (0,27) a	1,94 (0,56) b	1,32 (0,25) ab	1,1 (0,42) b
CTC ($\text{cmol}_c \text{ dm}^{-3}$)	1,9 (0,56) abc	3,2 (0,27) ac	1,33 (0,25) b	2,9 (0,098) c
Propriedades físicas				
Silte %	10,6 (1,8) a	24,0 (8,5) a	28,6 (2,02) a	15,0 (0,0) a
Argila %	35,0 (5,1) b	26,6 (6,1) b	25,3 (3,5) b	59,3 (1,45) a
Areia %	54,0 (6,8) a	49,4 (1,3) a	46,0 (4,7) a	25,7 (1,7) b

AcP: fosfatase ácida; Gluco:β-glucosidase; FDA: hidrólise FDA; MBC: carbono da biomassa microbiana; Resp: respiração basal; qCO₂: quociente metabólico; TG: glomalina total; EEG: glomalina facilmente extraível; HA1: acidez potencia ($\text{H}^+ + \text{Al}^{+3}$); V: saturação por bases; COT: carbono orgânico do solo; TN: nitrogênio total; CN: relação C:N; P: fósforo disponível; P-rem: fósforo remanescente; CTE: capacidade de troca catiônica efetiva; CTC: capacidade de troca catiônica potencial.

4.3. Multivariadas

4.3.1. Variação dos sítios com base em estrutura vegetal

A ordenação ecológica dos sítios por NMDS, feita com base na matriz formada por variáveis de estrutura vegetal revelou clara distinção entre os sítios (Figura 3). A floresta primária foi totalmente destacada dos demais sítios (Figura 3). Entre os sítios em recuperação, uma ligeira separação foi detectada, mostrando as parcelas do sítio R2 (Topsoil) tendendo a afastar daquelas dos sítios R3 (Oficina) e R6 (Topsoil) (Figura 3). Esse padrão de ordenação do sítio R2(Topsoil) possivelmente tem relação com o manejo de recuperação. A camada fértil (topsoil) utilizada para recuperar esse sítio foi derivada de uma área de floresta primária. Dessa forma, o banco de sementes pode ter contribuído para uma estrutura de vegetação distinta daquelas exibidas pelos sítios R3 (Oficina) e R6 (CCI). Os sítios R3 e R6 formaram um grupo similar em termos de estrutura vegetal (Figura 3). Isso pode estar relacionado à aproximação quanto à família botânica dominante (Leguminosas) (Tabela 3). Esse grupo

formado por R3 (Oficina) e R6 (CCI) exibiu um marcante afastamento da referência (Ref) em termos de estrutura vegetal (Figura 3).

O ajuste de vetores ambientais (dados edáficos) mostrou que o sítio de referência (Ref) está totalmente dissociado dos sítios em processo de recuperação em termos de características do substrato (Figura 3), principalmente por apresentar maiores valores para variáveis, como o teor de argila, acidez potencial (HAL), concentração de alumínio, carbono orgânico total (COT), nitrogênio total (TN), biomassa microbiana (MBC), atividade da fosfatase ácida (AcP), hidrólise FDA, glomalina facilmente extraível, e glomalina total (Figura 3). Adicionalmente, a referência suportou menores valores de pH, e quociente metabólico (qCO₂) (Figura 3). Nesse contexto, apesar de o carbono da biomassa (MBC) não fornecer informações sobre a composição microbiana (HARRIS, 2003), é perfeitamente plausível assumir que a comunidade microbiana suportada pela floresta primária diverge daquelas apresentadas pelos sítios em recuperação. Especificamente, os resultados sugerem que a comunidade microbiana suportada pela floresta primária (Ref) seja diversa e metabolicamente ajustada à condição de maior acidez.

A maior riqueza vegetal é provavelmente a principal razão para que a comunidade microbiana da referência possa ser considerada superior e mais diversa do que os outros sítios uma vez que é reconhecido que biomassa e a diversidade de microrganismos guardam certa proporcionalidade (SAHOO et al., 2010). O maior conteúdo de argila da floresta primária (Ref) (Figura 3) também pode estar relacionado com a maior diversidade da biomassa microbiana nesse sítio. Estudos apontam compartimentalização da diversidade e da composição de microrganismos em função do conteúdo de argila, sugerindo a distribuição não aleatória da comunidade microbiana na matriz mineral dos solos (KANDELER et al., 2000). Por exemplo, SESSITSCH et al. (2001) observaram maior diversidade microbiana na fração argila do que na fração areia. Outro fator que pode explicar a maior diversidade microbiana da referência é o fato desse sítio ter suportado maior hidrólise FDA (Figura 3). O diacetato de fluoresceína (FDA) é um substrato degradado por um amplo conjunto de enzimas hidrolíticas, e tem mostrado relação com características vinculadas à diversidade microbiana, como a resiliência (CHAER et al., 2009b). Dessa forma, em um contexto de maior biomassa microbiana (MBC), maior conteúdo de argila, maior hidrólise FDA, maior acidez e o menor valor de quociente metabólico (qCO₂) (Figura 3), há reforço na sugestão de que a comunidade microbiana no sítio de referência, além de diversa, seja metabolicamente ajustada à acidez.

Os sítios R2(Topsoil) e R3(Oficina) aproximaram quanto à menor eficiência metabólica de suas comunidades microbianas, refletida pelo alto valor de quociente metabólico (ZELLES, 1999) (Figura 3), variável responsiva à qualidade do substrato orgânico (RANGER & RINKLEBE, 2011). O tempo de armazenamento da camada fértil tem sido apontado como uma das principais causas do declínio do carbono orgânico (AKALA & LAL, 2001), o que poderia repercutir negativamente sobre a atividade microbiana e sua eficiência (MULLER et al., 1985). No entanto, o tempo de armazenamento da camada superficial (topsoil) utilizada na recuperação do sítio R2 (Topsoil) foi relativamente curto, cerca de três meses. Isso pode ter contribuído para que o conteúdo de carbono orgânico (COT) no sítio R2 (Topsoil) tenha apresentado valor médio estatisticamente igual ao da referência (Tabela 5). Contudo, é possível que, qualitativamente, o carbono orgânico presente no R2 (Topsoil) seja ruim, uma vez que esse sítio exibiu valor de relação C:N significativamente maior do que os sítios que tiveram manejo de calagem e adubação, R3 (Oficina) e R6 (CCI) (Tabela 4). Esses sítios, R3 e R6, foram dominados por leguminosas, enquanto o sítio R2 (Topsoil) foi principalmente dominado por espécies da família Urticaceae, principalmente por espécies do gênero *Cecropia*, conhecidas por fornecerem, em geral, litter de significativa recalcitrância (MESQUITA et al., 1998; OLIVEIRA & CARVALHO, 2009). Dessa forma, sugere-se que a

inabilidade do sítio R2(Topsoil) em sustentar com eficiência o metabolismo de sua população microbiana tenha origem diferente da inabilidade exibida pelo sítio R3 (Oficina), e o efeito mais provável seja a baixa qualidade química dos substratos ofertados pela vegetação dominante do R2 (Topsoil).

Adicionalmente, o efeito da baixa disponibilidade de substratos para sustentar o metabolismo microbiano no sítio R2 (Topsoil) pode também estar associado à diluição da concentração do carbono orgânico facilmente degradável durante a manipulação da camada superficial (topsoil) para a recuperação do substrato de rejeito desse sítio (ANDERSON et al., 2008). Estudos como o de ŠNAJDER et al. (2008) mostraram que a diminuição da qualidade dos substratos em função da profundidade foi acompanhada pela redução da atividade microbiana. Nesse sentido, o revolvimento sofrido pela camada superficial utilizada na recuperação do sítio R2 (Topsoil) pode ter favorecido o retorno de substratos pouco decomponíveis à superfície, diminuindo a capacidade de sustentação metabólica microbiana nesse sítio.

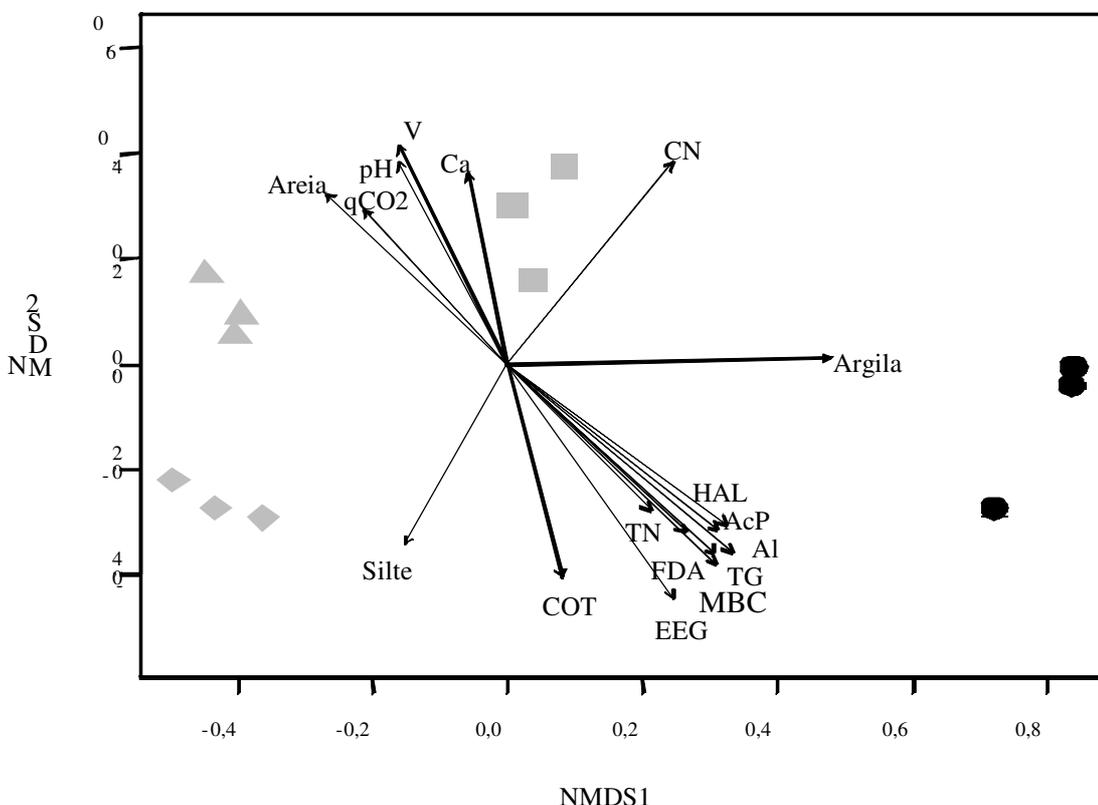


Figura 3. NMDS baseado em atributos de estrutura vegetal. Distância “Bray-Curtis” dos sítios com dados previamente Wisconsin transformados (LEGENDRE & LEGENDRE, 1998). Ajuste de vetores ambientais (propriedades físico-químicas e aspectos microbiológicos) significativos ao teste de permutação de Monte Carlo ($P < 0,05$) (COX & COX, 2001). Símbolos dos sítios: quadrado (R2 Topsoil), triângulo (R3 Oficina), diamante (R6 CCI), e círculo (Ref Floresta primária). Legendas ver tabela 4.

4.3.2. Relacionamentos entre vegetação e o ambiente do substrato

Muito comum ao ramo da morfometria, a sobreposição procrustea ainda é pouco difundida em outras áreas, incluindo as ciências do solo. Isso é curioso tendo em vista as grandes oportunidades oferecidas por essa abordagem (PERES-NETO & JACKSON, 2001). Os resultados da avaliação dos relacionamentos entre a vegetação e o ambiente do substrato (químico e microbiológico), nos sítios em processo de recuperação, permitiram interpretações

em nível de sítio e de parcela. Antes de qualquer coisa é preciso relembrar que o tamanho dos resíduos da sobreposição corresponde à métrica de associação, quanto menor for essa métrica, maior é o relacionamento.

O primeiro relacionamento considerado significativo pela sobreposição Procrustiana foi aquele entre a variação baseada na vegetação e a variação baseada no conjunto de dados reunindo variáveis químicas e microbiológicas do substrato ($r=0,83$, $P<0,05$) (Tabela 5). Esse relacionamento forneceu o primeiro indício de que a vegetação está atuando no comportamento do substrato nos diferentes sítios investigados. Esse resultado se aproxima de estudos anteriores que apontaram relacionamentos entre a vegetação e variáveis de solo (WARDLE et al., 2004; MCLAREN & TURKINGTON, 2010; HARRISON & BARDGETT, 2010; ORWIN et al., 2010; ZHANG et al., 2011; LAMB et al., 2011).

Apesar de o relacionamento entre vegetação e a variação baseada no conjunto de dados reunindo variáveis químicas e microbiológicas do substrato ter sido considerado significativo (Tabela 5), a visualização da solução gráfica indicou considerável variação no tamanho médio dos resíduos (Figura 3). A essa luz, uma vez que o tamanho dos resíduos é inversamente proporcional ao grau do relacionamento, esse resultado sugere que a natureza da relação entre vegetação e o ambiente do substrato se altera de sítio para sítio. Interessantemente, esse relacionamento se mostrou mais íntimo (menores resíduos) nas parcelas do sítio com o mais evidente domínio por uma determinada família e/ou espécies botânicas, o sítio R6 (CCI) (Figura 3), que foi dominado por leguminosas.

Na investigação do relacionamento entre a vegetação e a variação do ambiente químico do substrato, o qual foi considerado significativo ($r=0,75$; $P<0,05$), novamente as parcelas do sítio R6 (CCI) foram aquelas que apresentaram o menor tamanho médio de resíduos entre todos os sítios investigados (Figura 4). Interessantemente, o tamanho dos resíduos representando o relacionamento entre vegetação e a variação química do substrato se relacionou negativamente com a biomassa microbiana (MBC), e positivamente com a eficiência metabólica (qCO_2) (Tabela 5). Esse resultado sugere que a influência da vegetação sobre a variação química do substrato repercute sobre aspectos importantes da comunidade microbiana, e se alinha aos resultados que suportam a existência do efeito indireto da vegetação sobre aspectos comunidade microbiana via alteração no ambiente químico do solo (JIN et al., 2010; MUKHOPHADYAY & JOY, 2010; MERILÄ et al., 2010).

A solução gráfica para o relacionamento entre vegetação e o ambiente químico do substrato sugere que os sítios divergem quanto ao tamanho médio dos seus resíduos (Figura 4), ou seja, quanto à natureza do relacionamento. O resultado mostrando que variáveis microbiológicas (MBC e qCO_2) responderam ao relacionamento entre vegetação e ambiente químico (Tabela 5) confere interessante dimensão de interpretações para a natureza do relacionamento dentro de cada sítio.

Uma plausível interpretação, e que foi considerada no presente estudo, tem por base o seguinte: sítios com menor valor médio de resíduo tendem a indicar que a biomassa e eficiência metabólica microbiana podem estar sendo favorecidas pela influência da vegetação sobre as variáveis químicas do substrato (Tabela 5). Por sua vez, sítios com maior tamanho médio de resíduo sugerem que a biomassa e a eficiência metabólica da comunidade microbiana presente no substrato podem estar sendo desfavorecidas pela influencia da vegetação nas variáveis químicas (Tabela 5).

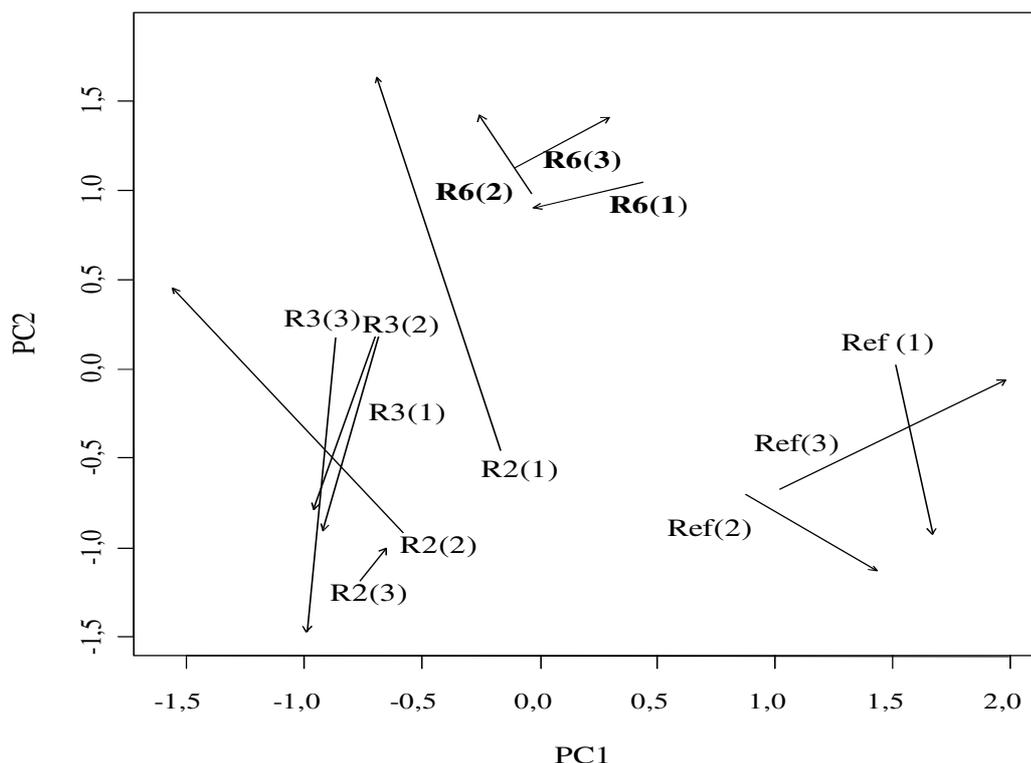


Figura 3. Solução gráfica para a sobreposição Procrustiana mostrando o relacionamento entre a vegetação e o ambiente do substrato (variáveis químicas e microbiológicas juntas). Os *scores* dos dois primeiros componentes principais (PC1 e PC2) de cada uma das matrizes foram utilizados como entrada para a avaliação do relacionamento. As setas apontam para a configuração alvo (vegetação). Os sítios representados no gráfico representam a variação baseada em variáveis químicas e microbiológicas juntas. O tamanho da seta é o tamanho do resíduo, isto é, a métrica de associação após o ótimo ajuste entre as matrizes, e liga as coordenadas correspondentes (sítios) nas duas ordenações por PCA. Ex: R6(1) ordenada com base na vegetação e R6(1) ordenada com base no ambiente do substrato. Em negrito as parcelas onde o relacionamento foi mais estreito (menores resíduos “setas”).

Seguindo essa racionalidade, o resultado sugere que no sítio R6 (CCI), o qual exibiu menor tamanho médio de resíduos (Figura 4), a natureza do efeito indireto da vegetação sobre a biomassa microbiana e sua eficiência, via alteração no ambiente químico do substrato, pode ter sido benéfica. Como já mencionado, o R6 (CCI) exibiu uma condição de domínio de leguminosas associada à baixa diversidade e equitabilidade vegetal. Nesse sentido, é razoável sugerir, também, que as espécies leguminosas presentes no sítio R6 (CCI) são as principais responsáveis pela alteração no ambiente químico do substrato, e que essa influência está favorecendo a biomassa e a eficiência metabólica da comunidade microbiana. Assim, é acreditado que o efeito indireto da vegetação sobre a biomassa e a eficiência metabólica da comunidade microbiana, via alteração no ambiente químico do substrato no sítio R6 (CCI), seja em função da qualidade química dos resíduos aportados por sua vegetação dominante. De fato, estudos apontam a quantidade e a qualidade química dos resíduos vegetais aportados ao solo como os principais elos entre a vegetação e os aspectos microbiológicos do solo, como atividade enzimática (MUKHOPHADYAY & JOY, 2010), biomassa microbiana (CHODAK et al., 2009), e estrutura da comunidade microbiana (HARRISON & BARDGETT, 2010; ORWIN et al., 2011).

Com o sítio R6 (CCI) se apresentando com uma vegetação dominada por leguminosas e com baixa riqueza e equitabilidade vegetal, a dominância de espécies vegetais

filogeneticamente próximas pode estar contribuindo para a redução do número de estratégias de aquisição de nutrientes e crescimento radicular, o que reverbera negativamente sobre a diversidade química dos substratos ofertados para os microrganismos do solo (LAMB et al., 2011). Dessa forma, sugere-se que possa estar ocorrendo especificidade da comunidade microbiana para com a vegetação dominante no sítio R6 em função da baixa diversidade química do litter disponível no R6 (CCI) (ORWIN et al., 2010; JIN et al., 2010).

Leguminosas são conhecidas por fornecerem, em geral, matéria orgânica de boa qualidade (DINESH et al., 2009), principalmente aquelas capazes de realizar simbiose com bactérias fixadoras de nitrogênio (BALIEIRO et al., 2002). O resultado mostrando que o sítio R6 (CCI), juntamente com o R3 (Oficina), exibiu valor de relação C:N significativamente menor do que os sítios que não exibiram domínio por leguminosa (Tabela 4), levanta a suspeita de que a comunidade microbiana presente no sítio R6 (CCI) seja dominada por microrganismos adaptados a uma condição de boa qualidade da matéria orgânica. Essa suspeita se baseia em estudos como o de MERILLÄ et al., (2010), mostrando que a composição vegetal prevalecente determinava em maior extensão a estrutura da comunidade microbiana, principalmente em função da qualidade do *litter*. Ademais, um recente estudo mostrou que a rizosfera de espécies mais palatáveis em termos de qualidade dos resíduos teve a estrutura de sua comunidade microbiana alterada para uma condição menos oligotrófica (ORWIN et al., 2010). Dessa forma, o contexto apresentado pelo sítio R6 (CCI), isto é, domínio de leguminosas, associado à observação de que a biomassa e a eficiência metabólica foram particularmente favorecidas pela vegetação via interferência no ambiente químico do substrato, versa com a “hipótese de massa”, primeiramente levantada por GRIME (1998). Segundo essa hipótese, as respostas funcionais de um ecossistema terrestre são determinadas principalmente pelas suas espécies e/ou grupos botânicos dominantes. Afinal, a biomassa microbiana é considerada o principal componente do subsistema decompositor do solo (WARDLE et al., 2004), sendo, portanto, importante para o seu funcionamento.

Uma importante observação foi a de que a glomalina facilmente extraível (EEG) teve a mesma propensão da biomassa microbiana quanto à variação do grau de relacionamento entre vegetação e propriedades químicas do substrato (Tabela 5). Isso é ecologicamente significativo pois a EEG representa a fração ativa dos fungos micorrízicos arbusculares (WRIGHT & UPADHYAYA, 1998), importante grupo microbiano do solo (SMITH & READ, 1997). Adicionalmente, a biomassa microbiana foi positivamente relacionada com o teor de glomalina facilmente extraível ($r=0,83$, $P=0,001$). Esses resultados levam a suposição de que a resposta dos fungos micorrízicos arbusculares (FMA) diante da variação do nível de relacionamento entre vegetação e aspectos químicos do substrato seja similar à resposta apresentada pela biomassa microbiana. Isso adiciona outra dimensão para o sistema planta-solo-microrganismos porque os FMA podem afetar direta e indiretamente os microrganismos do solo (MARSHALL et al., 2011). Por exemplo, ANDRADE et al. (1997) mostraram que pela alteração qualitativa e composição microbiana da rizosfera quantitativa de exsudatos radiculares, os FMA podem ter efeito seletivo sobre a comunidade microbiana na área de influência radicular. Dessa forma, a especificidade da comunidade microbiana sugerida para o sítio R6 (CCI), possivelmente pela qualidade da matéria orgânica aportada pelas leguminosas dominantes, pode ter a contribuição adicional dos FMA. De fato, muitas leguminosas tropicais se associam aos fungos micorrízicos arbusculares (FARIA & CAMPELLO, 1999).

Tabela 5. Relacionamentos entre a vegetação e os ambientes do substrato (químico e microbiológico). Acessados por sobreposições Procrusteanas entre matrizes multivariadas de dados, [Y] e [X], conduzidas após o isolamento do efeito de dada matriz [Z].

Matrizes sobrepostas		Matriz com efeito isolado [Z]	Relacionamento R^2	Responsiva	
[Y]	[X]			Variável	R^2
Ambiente do substrato	Vegetação	nenhuma	0,83*	nenhuma	nenhuma
Ambiente químico	Vegetação	Aspectos microbiológicos	0,75**	MBC, EEG, qCO ₂	(-0,55,-0,57, 0,55)*
Aspectos microbiológicos	Vegetação	Ambiente químico	0,80**	nenhuma	nenhuma
Aspectos microbiológicos	Ambiente químico	Vegetação	$P > 0,05$	nenhuma	nenhuma

MBC: carbono da biomassa microbiana; qCO₂: quociente metabólico; EEG: glomalina facilmente extraível; HAL: acidez potencial ($H^+ + Al^{3+}$). Variáveis de solo significativamente responsivas ao relacionamento entre as matrizes (tamanho dos resíduos) são listadas. * $P < 0,05$; ** $P < 0,01$.

Na contramão das parcelas do sítio R6 (CCI), o sítio R2 (Topsoil) representou o outro extremo da natureza do efeito do relacionamento entre vegetação e a variação do ambiente químico do substrato. Esse sítio exibiu o maior valor médio para o tamanho dos resíduos (Figura 4), indicando que o efeito da vegetação sobre o ambiente químico do substrato é desfavorável à biomassa e eficiência metabólica nesse sítio. A suspeita para as causas desse relacionamento negativo provém do fato de o R2 (Topsoil) ser dominado por espécies do gênero *Cecropia*, em especial *Cecropia ficifolia*, com 133 indivíduos. Em um estudo recente, OLIVEIRA & CARVALHO (2010) observaram que a serrapilheira de espécies do gênero *Cecropia* possuiu o maior teor de lignina, e que essa característica refletiu negativamente sobre a atividade decompositora da comunidade microbiana. Somado a isso, o sítio R2 (Topsoil) foi, juntamente com a floresta primária, detentor dos maiores valores de relação C:N (Tabela 4), outro ponto que, assim como a lignina, pesa contra a labilidade dos resíduos ofertados pela vegetação (MERILÄ et al., 2010).

4.3.3. Contribuição da vegetação e do substrato para o comportamento microbiano

A discussão até aqui sobre a influência da vegetação, em especial àquela dominada por leguminosas, sobre aspectos fundamentais da comunidade microbiana, como a biomassa (MBC) e sua eficiência metabólica (qCO₂), poderia suscitar a seguinte questão: uma vez que as características químicas do substrato podem, assim como a vegetação, influir no comportamento microbiano (BERG & SMALLA, 2009), qual é a contribuição individual relativa da vegetação e do substrato para a variação microbiológica? Essa questão é pertinente porque poderia estar sendo enfatizada a vegetação, em proporções indevidas, no que diz respeito à modulação do aspecto microbiano.

A partição da variação seguida da RDA parcial mostrou que a contribuição individual do substrato para a variação microbiológica foi pequena e não significativa (Figura 5). Essa

contribuição seis vezes menor do que a contribuição individual da vegetação para a variação microbiológica, a qual foi considerada marginalmente significativa (Figura 5).

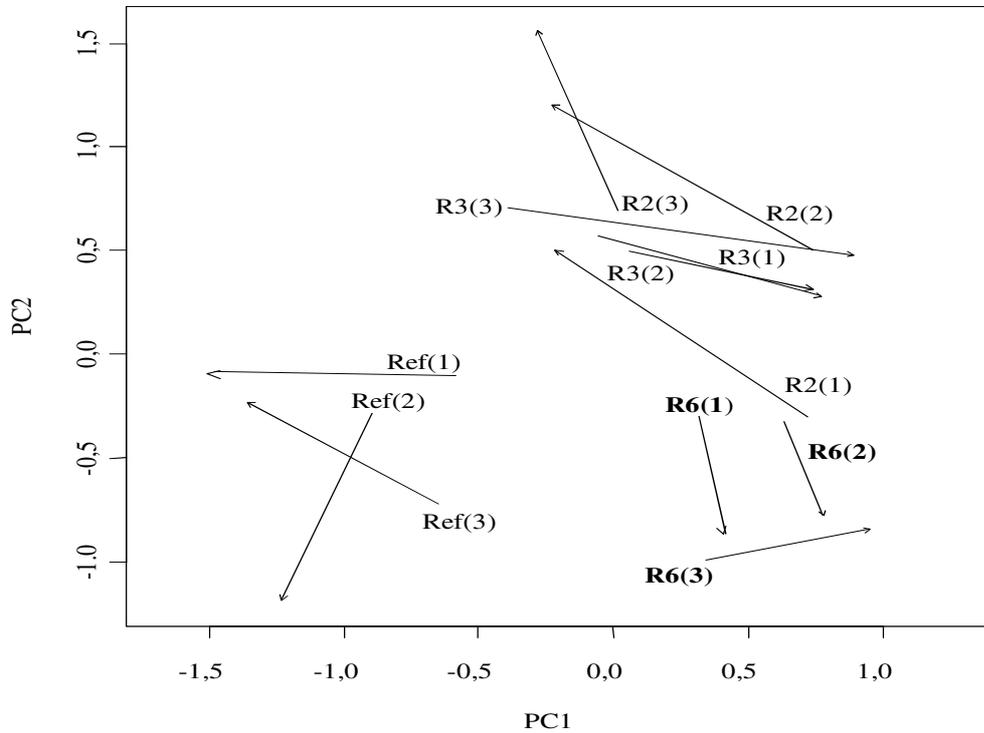


Figura 4. Solução gráfica para o relacionamento procrusteano entre a vegetação e o ambiente formado por variáveis químicas do substrato.

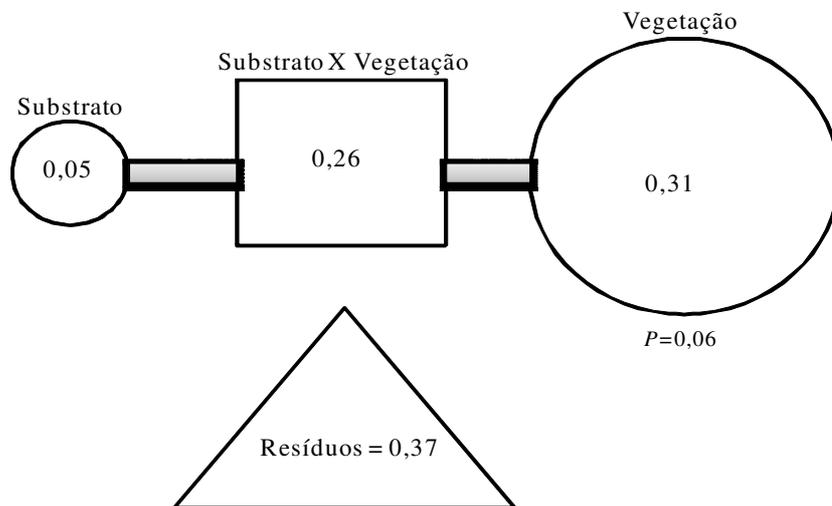


Figura 5. Partição da Variação. Mostra a contribuição individual do substrato (características químicas), da vegetação, da interação entre vegetação e substrato, e do acaso (contribuição residual) para a variação microbiológica. O tamanho da figura geométrica é proporcional à contribuição para a variação microbiológica. A significância das contribuições individuais foi acessada por RDA parcial (LEGENDRE & LEGENDRE, 1998). O procedimento utilizado não permitiu acessar a significância da contribuição da interação entre vegetação e substrato (quadrado). A contribuição de fatores alheios à vegetação e ao substrato para a variação microbiológica é exibida na forma triangular, são os resíduos.

4.3.4. Padrões de relacionamento individual e seleção de variáveis

A análise de redundância (RDA) foi conduzida compilando os dados do substrato (propriedades físicas, químicas, e microbiológicas) em uma matriz de variáveis responsivas (“*response matrix*”), e os dados de estrutura vegetal em uma matriz explicativa (“*explanatory matrix*”). A RDA global (considerando todas as variáveis explicativas) reportou sete eixos canônicos (RDA eixos), os quais, de forma conjunta, explicaram 83% da variação total dos dados do substrato (Tabela 6). Esse valor foi considerado significativo ($P=0,001$) (Tabela 6). Individualmente, os três primeiros eixos canônicos, RDA1, RDA2, e RDA3, contribuíram com 39,4; 14,3; e 13,09% na variação total dos dados, respectivamente (Tabela 6). Essas contribuições foram consideradas significativas, $P=0,014$, $P=0,025$, e $P=0,037$, respectivamente (Tabela 6). No modelo global, as variáveis explicativas que contribuíram de forma significativa para a variação dos dados do substrato foram: riqueza de espécies arbóreas (wrch) e riqueza de espécies arbustivas (brch), $P=0,028$ e $P=0,001$, respectivamente (Tabela 6). A fração da variação total explicada por todos os eixos canônicos, 83,4%, correspondeu a um valor não ajustado (R^2 ajustado). O novo R^2 calculado para a RDA global foi de 55,1% (R^2 ajustado) (Tabela 6).

Tabela 6. RDA global. Nesta, a matriz explicativa foi formada por todas as variáveis de estrutura vegetal.

Eixos canônicos	Autovalores	% explicada	Significância (valor de P)
RDA1	0,394	39,4	0,014
RDA2	0,143	14,3	0,025
RDA3	0,130	13,0	0,037
RDA4	0,0783	7,83	Ns
RDA5	0,0521	5,21	Ns
RDA6	0,0289	2,89	Ns
RDA7	0,00955	0,95	Ns
<hr/>			
Partição variação			
Total	1,0	100	
R^2 (não ajustado)	0,834	83,4	0,001
R^2 ajustado	0,551	55,1	0,001
<hr/>			
Variáveis explicativas			
wrch			0,028
brch			0,001

Em negrito, a percentagem da variação total dos dados de solo explicada pela matriz de vegetação contendo todas as variáveis de estrutura (**R^2 ajustado**) e significância dessa fração. As significâncias foram testadas por teste de permutação de Monte Carlo (999 permutações); wrch (riqueza de espécies arbóreas) e brch (riqueza de espécies arbustivas) foram consideradas as variáveis mais significativas em ditar a variação do substrato em termo de variáveis químicas, físicas e microbiológicas. ns: não significativo.

Confirmada a significância do modelo global (RDA global), as variáveis de estrutura vegetal, as quais compunham a matriz explicativa, foram investigadas quanto à colinearidade. Com exceção da riqueza de espécies leguminosas arbóreas (wleg), e a riqueza de leguminosas arbustivas (bleg), todas as variáveis de estrutura vegetal estavam contribuindo para o aumento indevido do R^2 no modelo global (Tabela 7). Em outras palavras, o R^2 **não ajustado**

encontrado, 83,4%, estava sendo inflacionado pela maior parte das variáveis de estrutura vegetal utilizadas na RDA global. O elevado número de variáveis com VIF>20 (Tabela 7) impôs a necessidade da redução do modelo global, ou seja, reduzir o número de variáveis de estrutura vegetal.

Tabela 7. Variáveis explicativas (estrutura vegetal) que estavam contribuindo para inflacionar o R^2 , isto é, aumento indevido da percentagem da variação total do substrato em termos químicos, físicos, e microbiológicos, explicada pela vegetação.

Nº	Variáveis explicativas (Vegetação)	VIF
1	wrch	37,4
2	brch	53,5
3	wfam	76,0
4	bfam	54,5
5	wleg	3,80
6	bleg	8,57
7	covleg	39,6

VIF (“Variance Inflation Factors”). As variáveis explicativas com valor VIF>20 estavam inflacionando o R^2 . Indicando alta colinearidade, e por consequência, a necessidade de seleção prévia seleção e geração de modelo parcimonioso (com a vegetação sendo representada por um número menor de variáveis)

A seleção STEPWISE no modo “*forward selection*”, com o duplo critério de parada, resultou na seleção de três variáveis de estrutura vegetal: número de famílias botânicas de porte arbustivo (bfam), riqueza de espécies arbustivas (brch), e riqueza de espécies leguminosas arbustivas (bleg) (Tabela 8). A RDA conduzida com apenas essas três variáveis selecionadas (RDA parcimoniosa), reportou três eixos canônicos: RDA1, RDA2, e RDA3, que juntos, explicaram 64 % da variação total dos dados químicos, físicos, e microbiológicos do substrato. Esse valor foi considerado significativo ($P=0,001$) (Tabela 8). Individualmente, os três eixos canônicos contribuíram com 38,6; 14,0; e 11,4% na variação total dos dados de solo, respectivamente (Tabela 8). Essas contribuições foram consideradas significativas, $P=0,001$, $P=0,005$, e $P=0,006$, respectivamente (Tabela 8). Todas as três variáveis selecionadas para a RDA parcimoniosa foram consideradas significativas em determinar a variação conjunta dos dados químicos, físicos, e microbiológicos do substrato (Tabela 8). O R^2 ajustado para o modelo parcimonioso foi 0,51, apenas 0,04 pontos abaixo do R^2 ajustado do modelo global (Tabelas 6 e 8), mostrando a habilidade das variáveis selecionadas: número de famílias arbustivas (bfam), riqueza de espécies arbustivas (brch), e riqueza de espécies leguminosas arbóreas (bleg) em ditar a variação do substrato em termos de variáveis químicas, físicas, e microbiológicas (Tabela 8).

A ordenação dos dados do substrato (químicos, físicos, e microbiológicos) em função da estrutura vegetal foi similar entre os modelos global e parcimonioso da RDA; por isso, foi mantida aquela contendo todos os vetores representando as variáveis de estrutura vegetal (Figura 6). A solução gráfica da RDA, priorizando a correlação entre as variáveis (“Scaling 2”) (LEGENDRE & LEGENDRE, 1998), mostrou que os atributos arbustivos e arbóreos separaram os dados de “solo” em dois grandes grupos ao longo do RDA1 (Figura 6). Desse modo, esses resultados, além de confirmarem a forte influência da vegetação na variação das variáveis de solo, trouxeram uma nova dimensão de interpretação para o presente estudo: as tendências de relacionamento individual entre as variáveis relacionadas à vegetação e dessas com grupos de variáveis de “solo” (químicas, físicas, e microbiológicas); além da vinculação desses relacionamentos com os sítios.

Foi observado que a riqueza de espécies arbóreas (wrch) e a riqueza de espécies arbustivas (brch) foram as variáveis de vegetação que mais bem contribuíram para a separação dos dados de solo em dois grupos distintos (Figura 6). A riqueza de espécies arbóreas (wrch) foi mais relacionada ao conjunto de variáveis de solo associada à referência, como biomassa microbiana (MBC) (ZHANG & CHU, 2011), atividade enzimática global (FDA), fosfatase ácida (AcP), conteúdo de glomalina (TG e EEG) (Figura 6). Isso sugere que o aumento da riqueza arbórea deve ser algo a ser perseguido nos processos de recuperação quando o objetivo do manejo é aproximar os sítios da condição da floresta primária outrora suprimida.

Tabela 8. RDA parcimoniosa. Realizada com as variáveis selecionadas por “forward selection” com duplo critério de parada.

Eixos canônicos	Autovalores	% explicada	Significância (valor de <i>P</i>)
RDA1	0,386	38,6	0,001
RDA2	0,140	14,0	0,005
RDA3	0,114	11,4	0,006
Partição variação			
Total	1,0	100	
<i>R</i> ²	0,640	64,0	0,001
<i>R</i>² ajustado	0,510	51,0	0,001
Variáveis explicativas			
bfam			0,001
brch			0,020
bleg			0,019

Em negrito, a percentagem da variação total do substrato em termos químicos, físicos e microbiológicos explicada pela matriz de vegetação formada apenas com as variáveis selecionadas: **bfam**: número de famílias arbustivas; **brch**: riqueza de espécies arbustivas; **bleg**: riqueza de leguminosas arbustivas. Variáveis consideradas significativas em ditar a variação dos dados de “solo” (bfam,brch,bleg). As significâncias foram testadas por teste de permutação de Monte Carlo (999 permutações).

Adicionalmente, o relacionamento entre variáveis de vegetação e variáveis de solo mostrou que atributos arbustivos, como a riqueza de espécies arbustivas (brch) e o número de famílias botânicas arbustivas (bfam), tenderam a exibir relacionamento positivo com o grupo de variáveis formado pelo pH e saturação por bases (V) (Figura 6). Os locais onde esse padrão foi mais proeminente foram os sítios R3 (Oficina) (Figura 6). Contudo, essas variáveis também relacionaram com a baixa eficiência metabólica (qCO₂). Esse resultado pode, em um primeiro momento, parecer contraditório. Isso porque a condição de maior disponibilidade de bases associada à menor acidez está comumente associada a um ambiente, teoricamente, menos estressante à comunidade microbiana (ROUSK et al., 2010). A presença da maior respiração específica (qCO₂) (Figura 6) sugere que nas comunidades microbianas nos sítios onde a riqueza arbustiva (brch) é maior, R2 (Topsoil) e R3 (Oficina) (Figura 6) os recursos disponíveis estejam sendo utilizados de forma não equilibrada, isto é, desviando a maior parte da energia para a manutenção de um ambiente mais ajustado às suas demandas, em detrimento de seu crescimento.

A observação de que a maior riqueza de espécies arbustivas (brch) se relacionou positivamente com o desfavorecimento da biomassa microbiana (MBC) (Figura 6), não está de acordo com resultados anteriores que apontaram aumento da biomassa acompanhado da riqueza vegetal (BALDRIAN et al., 2008; ZHANG & CHU, 2011). Sendo a biomassa microbiana é considerada a força motriz de um dos principais serviços do ecossistema, a decomposição (WARDLE et al., 2004), uma das explicações para esse resultado é a de que os efeitos da riqueza vegetal sobre as propriedades do ecossistema podem demandar um espaço de tempo para de fato serem sentidos (EISENHAUER et al., 2010).

A lacase catalisa a oxidação dos grupamentos fenólicos presentes nos substratos orgânicos, como lignina e substâncias húmicas (KELLNER et al., 2008). Dessa forma, essa enzima atua basicamente na biodegradação e na transformação da fração menos lábil da matéria orgânica do solo (KELLNER et al., 2008). Apesar de normalmente estar relacionada à ambientes menos férteis e/ou mais degradados (CHAER et al., 2009a), sua atuação pode ser complementar para a atividade de outras enzimas por meio da redução da “blindagem” da matéria orgânica (FREEMAN et al., 2004). Por outro lado, a β -glucosidade atua na fase final da transformação total da celulose (BALDRIAN et al., 2010), gerando substratos mais facilmente utilizáveis pela comunidade microbiana do solo (MARX et al., 2005). Nesse contexto, a atuação da lacase pode ter importante papel para a atividade da glucosidase uma vez que essas enzimas atuam em diferentes momentos da transformação da matéria orgânica do solo. Dessa forma, no presente estudo, o relacionamento positivo entre β -glucosidase e lacase (Tabela 9), e entre elas e aspectos da comunidade de leguminosas (Figura 6), em especial com a riqueza de leguminosas arbustivas (bleg) (Figura 6), sugere complementaridade funcional entre essas enzimas nos sítios que apresentaram leguminosas arbustivas, R3 (Oficina) e R6 (CCI).

Embora a lacase e a β -glucosidase tenham exibido relação positiva com variáveis ligadas à estrutura comunidade de leguminosas, a maior riqueza de leguminosas arbustivas (bleg) e a maior cobertura de leguminosas (covleg) parecem suportar diferentes padrões de atuação dessas enzimas. Essas duas características da comunidade de leguminosas de fato distanciaram os sítios R3(Oficina) e R6 (CCI) (Figura 6), os únicos sítios que exibiram espécies leguminosas arbustivas. Os resultados indicaram que em ambientes onde a cobertura de leguminosas (covleg) foi maior, R6 (CCI), a atividade da β -glucosidade tende a ser maior (Tabela 9), enquanto que em ambientes com maior riqueza de leguminosas arbustivas (bleg), R3 (Oficina), a lacase tende a ser superior (Tabela 9).

Como mencionado anteriormente, Lacase e β -glucosidase são enzimas importantes na ciclagem do carbono, porém, atuando em momentos dissimilares desse processo. Essa característica permite dizer que a β -glucosidase demanda substratos com nível de recalcitrância menor do que a lacase. Foi detectado que a cobertura de leguminosas (covleg), maior no R6 (CCI), relacionou negativamente na relação C: N do solo (Tabela 9), isto é, com a menor recalcitrância. Por outro lado, a riqueza de leguminosas arbustivas (bleg) não teve relação significativa com a relação C:N (Tabela 9). Contudo, a riqueza de leguminosas arbustivas exibiu forte relação com a lacase (Tabela 9). Dessa forma, esses resultados sugerem que a diferença entre os sítios R3 (Oficina) e R6 (CCI) em estrutura da comunidade de leguminosas, principalmente em relação à riqueza de leguminosas arbustivas e cobertura de leguminosas, pode estar relacionada com pools de matéria orgânica de diferente qualidade. Como já mencionado o sítio R6 (CCI), além de exibir maior cobertura de leguminosas, exibiu apenas uma espécie leguminosa arbustiva: *Mimosa acutistipula*. Isso sugere que, em comparação com o R3 (Oficina), esse sítio seja de menor recalcitrância da matéria orgânica fornecida pela vegetação. A observação de que a lacase está relacionada com a maior riqueza de leguminosas arbustivas, em especial no sítio R3 (Oficina) (Figura 6), levanta também a suspeita de que nesse sítio a comunidade microbiana seja dominada principalmente por

fungos heterotróficos. Isso porque apesar de pesquisadores terem demonstrado a origem bacteriana da lacase (KELLNER et al., 2008), essa enzima é predominantemente de origem fúngica (BALDRIAN, 2006).

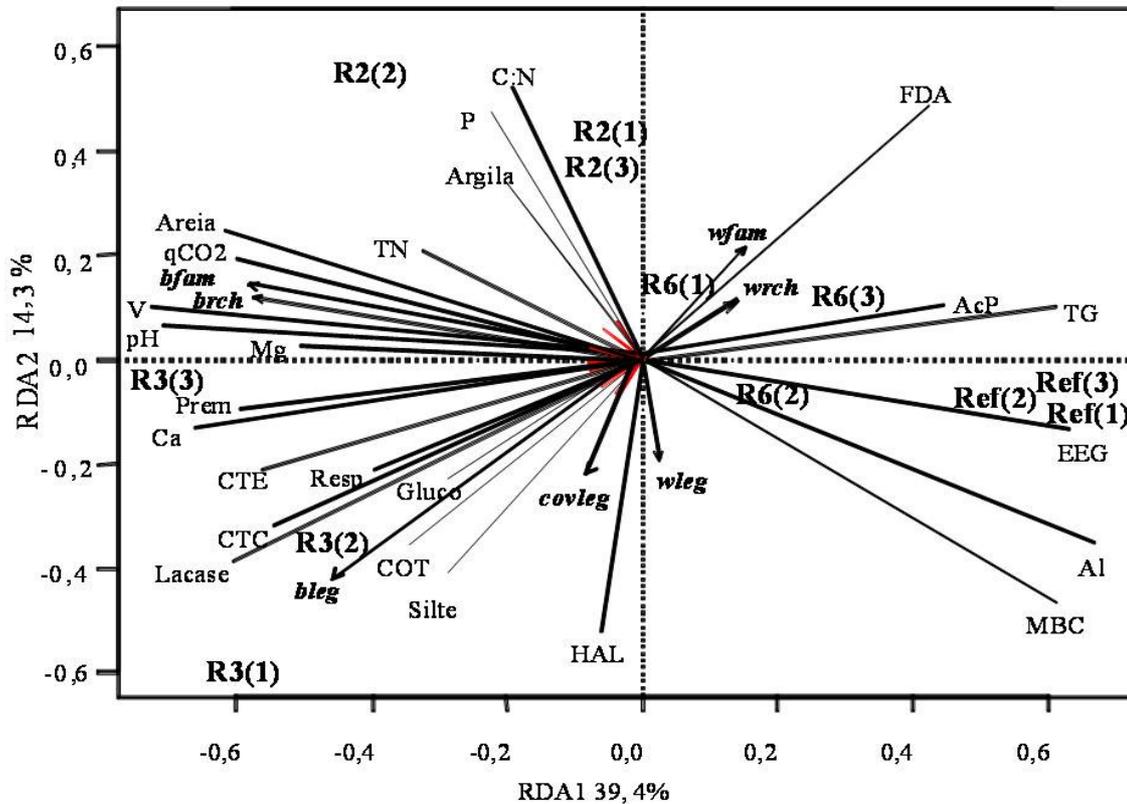


Figura 6. Triplot da RDA global com escalonamento do tipo 2 (Scaling 2), o qual prioriza as tendências de relacionamento entre as variáveis de estrutura vegetal e as dados de solo, bem como variáveis da mesma natureza. A matriz responsiva incluiu variáveis físicas, químicas e microbiológicas (setas sem cabeça), enquanto a matriz explicativa (ambiental) foi constituída das variáveis de estrutura vegetal (negrito e itálico; com cabeça). **wrch**: riqueza de espécies arbóreas; **brch**: riqueza de espécies arbustivas; **wfam**: número de famílias arbóreas; **bfam**: número de famílias arbustivas; **wleg**: riqueza de leguminosas arbóreas; **bleg**: riqueza de leguminosas arbustivas; **covleg**: cobertura de leguminosas. Legenda das variáveis da matriz responsiva ver tabela 4.

Tabela 9. Correlação de Pearson entre variáveis relacionadas à comunidade de leguminosas e atributos de solo ligados à ciclagem do carbono.

	lacase	Gluco	Resp	CN		lacase
bleg	0,71**	0,75**	0,68*	ns	Gluco	0,52*
covleg	ns	0,63*	0,64*	-0,73**	FDA	-0,72**

* $P < 0,05$; ** $P < 0,01$; *** $P < 0,001$. Legendas ver tabela 4 e figura 6.

É importante notificar que as interpretações sobre a relação das enzimas com serviços funcionais dos ecossistemas, como a ciclagem de nutrientes; e com grupos microbianos, como

os fungos, devem sempre ser feitas com cautela (BURNS et al., 1982; ŠTURSOVÁ & BALDRIAN, 2011). Estudos atentaram para mostrar os diferentes efeitos que os componentes que formam a matriz do solo podem exercer sobre a recuperação e a cinética de proteínas (QUIQUAMPOIX et al., 2000; TAYLOR et al., 2002; MARINARI et al., 2008). Por exemplo, MARX et al. (2005) observaram que as carbohidrases, grupo no qual pertence a β -glucosidase, exibiram diminuição da atividade associada à redução granulométrica do solo, indicando que a atividade enzimática do solo pode ser negativamente influenciada pela redução da textura. No presente estudo, somente lacase e β -glucosidase foram relacionadas com a textura, mesmo assim, somente com a fração silte (resultado não mostrado). Isso deu maior segurança nas interpretações feitas sobre a ciclagem de nutrientes nos sítios dominados por leguminosas.

5. CONCLUSÕES

- Por meio da abordagem estatística utilizada no presente estudo, pode se concluir que a variação na vegetação está afetando o comportamento *below-ground*, isto é, a variação nas propriedades químicas e microbiológicas do solo.
- Os resultados mostrando que o efeito da vegetação sobre a variação química repercutiu sobre a biomassa e a eficiência metabólica das comunidades microbianas, conduzem à conclusão de que a natureza do efeito da vegetação sobre a variação microbiana é divergente de sítio para sítio.
- Uma vez que o efeito da vegetação sobre a variação química foi maior no sítio R6 (CCI), e esse sítio foi aquele com prevalência de específico grupo botânico: leguminosas, esse estudo traz evidências que dão suporte, de forma pontual, à hipótese de que o grupo vegetal prevalecente é aquele quem determina em maior proporção o funcionamento do ecossistema. Em outras palavras, a vegetação dominante é quem dirige a comunidade microbiana.
- O presente estudo mostrou que a variação na vegetação, ao se relacionar com a variação do compartimento microbiológico, pode ser um potencial proxy para o status microbiano dos substratos em processo de recuperação.
- O relacionamento entre variáveis individuais mostrados pela RDA aponta que no sítio R3 (Oficina) está ocorrendo maior taxa de mineralização do carbono no solo (maiores atividades de glucosidase e Lacase associadas à maior respiração do solo). Uma vez que esse sítio ainda está no início do processo de recuperação, essa maior mineralização pode estar relacionada a uma condição de maior estresse da comunidade microbiana.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Esse estudo foi o primeiro a utilizar a abordagem de correlação de matrizes (sobreposição Procrustiana) para investigar o relacionamento direto entre diferentes compartimentos do ecossistema. É reconhecido aqui que apontar qual dos manejos de recuperação utilizados foi considerado bom ou ruim seria uma leviandade; isso porque os sítios foram variáveis em manejo e em idade de recuperação, e essa interação é difícil de ser isolada. No entanto, ao utilizar uma abordagem correlativa, as diferenças entre os sítios, os quais foram considerados como tratamentos, não são preponderantes.

É também reconhecido que para confirmar a hipótese de massa em condições de campo será necessário encontrar o padrão - relacionamento forte entre vegetação e comunidade microbiana - em sítios que apresentem domínio absoluto por diferentes grupos botânicos. Desse modo, essa é mais uma linha a ser estudada nas áreas em processo de recuperação.

Uma vez que o componente microbiológico, como indicador de qualidade e recuperação, ainda encontra resistência quanto ao seu uso nas tomadas de decisão sobre os rumos do manejo de recuperação, em especial devido a nem sempre simples mensuração e interpretação de seus resultados; para que a variação da vegetação nas áreas em recuperação possa ser utilizada com segurança como preditora do comportamento da comunidade microbiana, trabalhos futuros relacionando a comunidade de plantas e o compartimento microbiológico sob diversas perspectivas e em um mais variado cenário são necessários.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANDRADE, G.; MIHARA, K. L.; LINDERMAN, R. G.; BETHLENFALVAY, G. J. Bacteria from rhizosphere and hyphosphere soils of different arbuscular mycorrhizal fungi. **Plant and Soil**, v. 192, p. 71-79, 1997.
- AKALA, V. A.; LAL, R. Soil organic carbon pools and sequestration rates in reclaimed minesoils in Ohio. **J. Environmental Quality**, v. 30, p. 2098-2104, 2001.
- ALIASGHARZAD, N.; MÅRTENSSON, L. M.; OLSSON, P. A. Acidification of a sandy grassland favours bacteria and disfavours fungal saprotrophs as estimated by fatty acid profiling. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 42, p. 1-7, 2010.
- ALVAREZ, V. H.; NOVAIS, R. F.; DIAS, L. E.; OLIVEIRA, J. A. Determinação e uso do fósforo remanescente. **Boletim Informativo**. SBCS, v. 23, p. 27-32, 2000.
- ANDERSON, J. D.; INGRAM, L. J.; STAHL, P. D. Influence of reclamation management practices on microbial biomass carbon and soil organic carbon accumulation in semiarid mined lands of Wyoming. **Applied Soil Ecology**, v. 40, p. 387-397, 2008.
- BALIEIRO, F. C.; FRANCO, A. A.; FONTES, R.L.F.; DIAS, L.E.;CAMPELLO, E.F.C. Accumulation and distribution of aboveground biomass and nutrients under pure and mixed stands of *Pseudosamanea guachapele* Dugand and *Eucalyptus grandis* W. Hillex Maiden. **Journal of Plant Nutrition**, v.25, p.2639-2654, 2002.
- BARDGETT, R. D. The biology of soil: a community and ecosystem approach. Oxford University Press, Oxford. 242p, 2005.
- BÁÁTH, E. The use of Neutral Lipids Fatty Acid to Indicate the Physiological Conditions of Soil Fungi. **Microbial Ecology**, v. 45, p. 373-383, 2003.
- BALDRIAN, P. Fungal laccases-occurrence and properties. **FEMS Microbiology Review**, v. 30, p. 215-242, 2006.
- BALDRIAN, P.; TROGL, J.; FROUZ, J.; SNAJDR, J.; VALASKOVÁ, V.; MERHAUTOVÁ, V.; CAJTHAML, T.; HERINKOVÁ, J. Enzyme activity and soil microbial biomass in topsoil layer during spontaneous succession in spoil heaps after brow coal mining. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 40, p. 2107-2115, 2008.
- BALVANERA, P.; PFISTERER, A. B; BUCHMAM, N.; HE, J. S.; NAKASHIZUKA, T.; RAFFAELLI, D.; SCHIMID, B. Quantifying the evidence for biodiversity effects on ecosystem functioning and services. **Ecology Letters**, v. 97, p. 603-608, 2006.
- BARTLETT, R.J.; ROSS, D.S. Colorimetric determination of oxidizable carbon in acid soil solutions. **Soil Science Society of America Journal**, v. 52, p. 1191-1192, 1988.

BEAUREGARD, M. S.; HAMEL, C.; ATUL-NAYYAR.; ST-ARNAUD, M. Long-Term Phosphorus Fertilization Impacts Soil Fungal and Bacterial Diversity but not AM Fungal Community in Alfalfa. **Microbial Ecology**, v. 59, p. 379-389, 2010.

BERG, G.; SMALLA, K. Plant species and soil type cooperatively shape structure and function of microbial communities in the rhizosphere. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 68, p. 1-13, 2009.

BLANCHET, F. G.; LEGENDRE, P.; BORCARD, D. Forward selection of explanatory variables. **Ecology**, v. 89, p. 2623-2632, 2008.

BODELIER, P. L. E.; GILLISEN, M. –J. B.; HORDIJK, K.; SINNINGHE, D.; RIJPSTRA, W. I. C.; GEENEVASEN, J. A. L.; DUNFIELS, P. F. A reanalysis of phospholipids fatty acid as ecological biomarkers for methanotrophic bacteria. **International Society for Microbial Ecology**, v. 3, p. 606-617, 2009.

BURNS, R. G. Enzyme activity in soil: location and possible role in microbial activity. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 14, p.423-427, 1982.

CHAER, G. M.; RESENDE, A. S.; CAMPELLO, E.F.; de FARIA, S. M.; BOODEY, R. M. Nitrogen fixing legume tree species for the reclamation of severely degraded lands in Brazil. **Tree Physiology**, v.31, p.139-149, 2011.

CHAER, G. M.; FERNANDES, M. F.; MYROLD, D. D.; BOTTOMLEY, P. J. Shifts in microbial community composition and physiological profiles across a gradient of induced soil degradation. **Soil Science Society America**, v. 73, p. 1327-1334, 2009a.

CHAER, G.; FERNANDES, M.; MYROLD, D.; BOOTOMLEY. Comparative resistance and resilience of soil microbial communities and enzyme activities in adjacent native forest and agricultural soils. **Microbial Ecology**, v. 58, p. 414-424, 2009b.

CHEN, J.; FERRIS, H.; SCOW, K. M.; GRAHAM, K. J. Fatty acid composition and dynamics of selected fungal-feeding nematodes and fungi. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v. 130, p. 135-144, 2001.

CHODAK, M.; NIKLINSKA, M. Effect of texture and tree species on microbial properties of mine soils. **Applied Soil Ecology**. V. 46, p. 268-275, 2010.

CHODAK, M.; PIETRZYKOWSKI, M.; NIKLÍNSKA, M. Development of microbial properties in a chronosequence of Sandy mine soils. **Applied Soil Ecology**, v. 24, p. 259-268, 2009.

CLAASSENS, S.; JANSEN VAN RENSBURG, P. J.; VAN RENSBURG, L. Soil microbial community function and structure in a post-mining chronosequence. **Water, Air & Soil Pollution**, v. 194, p. 315-329, 2008.

CLAASSENS, S.; VAN RENSBURG, P. J.; VAN RENSBURG, J. Soil microbial community structure of coal mine discard under rehabilitation. **Water, Air, & Soil Pollution**, v. 174, p. 355-366, 2006b.

COX, T. F.; COX, M. A. A. Monographs on statistics and applied probability. Multidimensional Scaling. Vol. 88. 2 Ed. CHAPMAN & HALL/CRC: Boca Raton. 2001, 328p.

DE VRIES, F.T.; HOFFLAND, E.; VAN EEKEREN, N.; BRUSSAARD, L.; BLOEM, J. Fungal/bacterial ratios in grasslands with contrasting nitrogen management. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 38, p. 2092–2103, 2006.

DINESH, R.; CHAUDHURI, S. G.; SHEEJA, T. E.; SHIVA. Soil microbial activity and biomass is stimulated by leguminous cover crops. **Journal of Plant Nutrition and Soil Science**, v. 172, p. 288-296, 2009.

DOWLING, N. J. E.; WIDDEL, F.; WHITE, D. C. Phospholipid ester-linked fatty acid biomarkers of acetate-oxidizing sulphate-reducers and other sulphide-forming bacteria. **Journal of General Microbiology**, v. 132, p. 1815-1825, 1986.

DUNGAIT, J. A. J.; KEMMITT, S. J.; MICHALLON, L.; GUO, S.; WEN, Q.; BROOKES, P. C.; EVERSLED, R. P. Variable responses of the soil microbial biomass to trace concentrations of ¹³C-labelled glucose, using ¹³C-PLFA. **European Journal of Soil Science**, v. 62, p. 117-126, 2011.

DUNSTAM, G. A.; VOLKMAN, J. K.; BARRETT, S. M.; LEROI J.-M.; JEFFREY, S. W. Essential polyunsaturated fatty acids from 14 species of diatom (Bacillariophyceae). *Phytochemistry* p. 35, v. 155-161, 1994.

EISENHAUER, N.; BEßLER, H.; ENGELS, C.; GLEIXNER, G.; HABEKOST, M.; MILCU, A.; PARTSCH, S.; SABAI, A. C. W.; SCHERBER, C.; STEINBEISS, S.; WEIGELT, A.; WEISSER, W. W.; SCHEU, S. Plant diversity effects on soil microorganisms support the singular hypothesis. **Ecology**, v. 91, p. 485-496, 2010.

EIVAZI, F.; TABATABAI, M. A. Glucosidases and galactosidases in soils. *Soil Biology & Biochemistry*, v. 20, p. 601-606, 1988.

EMBRAPA - Centro Nacional de Pesquisa de Solos. Manual de métodos de análise de solo / Centro Nacional de Pesquisa de Solos. 2 edição. Rio de Janeiro, 212p, 1997.

FARIA, S. M. de.; CAMPELLO, E. F. C. Algumas leguminosas fixadoras de nitrogênio recomendadas para áreas degradadas. Seropédica: Embrapa Agrobiologia, 1999. 4p. (Embrapa-CNPAB. Recomendação Técnica, 7).

FONTAINE, S.; HENAULT, C.; AAMOR, A.; BDIQUI, N.; BLOOR, J.M.G.; MAIRE, V.; MARY, B.; REVAILLOT, S.; MARON, P. A. Fungi mediate long term sequestration of carbon and nitrogen in soil through their priming effect. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 43, p. 78-85, 2011.

FREEMAN, C.; OSTLE, N. J.; FENNER, N.; KANG, H. A regulatory role for phenol oxidase during decomposition in peatlands. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 36, p. 1663-1667, 2004

FROSTEGÅRD, A.; BÅÅTH, E. The use of phospholipid fatty acid analysis to estimate bacterial and fungal biomass in soil. **Biology Fertility Soils**, v. 22, p. 59-65, 2001.

FROUZ, J.; PIZL, V.; CIENCIALA, E.; KALCIK, J. Carbon storage in post-mining Forest soil, the role of tree biomass and soil bioturbation. **Biogeochemistry**, v. 94, p. 11-121, 2009.

GAIL, W. T. W.; RICE, C. W.; RILLIG, M. C.; SPRINGER, A.; HARTNETT, D. C. Soil aggregation and carbon sequestration are tightly correlated with the abundance of arbuscular mycorrhizal fungi: results from long-term field experiments. **Ecology Letters**, 12: 452:461, 2009.

GARCÍA-PALACIOS, P.; MAESTRE, F. T.; GALLARDO, A. Soil nutrient heterogeneity modulates ecosystem responses to changes in the identity and richness of plant functional groups. **Journal of Ecology**, v. 99, p. 551-562, 2010.

GEISSELER, D.; HORWATH, W. R.; SCOW, K. M. Soil moisture and plant residue addition interact in their effect on extracellular enzyme activity. **Pedobiologia**, v. 54, p. 71-78, 2011.

GRIME, J. P. Benefits of plant diversity to ecosystems: immediate, filter and founder effects. **Journal of Ecology**, v. 86, p. 902-910, 1998.

GUCKERT, J. B.; RINGELBERG, D. B.; WHITE, D. C.; HANSON, R. S.; BRATINA, B. J. Membrane fatty acids as phenotypic markers in the polyphasic taxonomy of methylotrophs within the Proteobacteria. **Journal of General Microbiology**, v. 137, p. 2631-2641, 1991.

HARRIS, J. A. Measurements of the soil microbial community for estimating the success of restoration. **European Journal of Soil Science**, v. 54, p. 801-808, 2003.

HARRIS, J. Soil Microbial Communities and Restoration Ecology: Facilitators or Followers? **Science**, v. 325, p. 573-574, 2009.

HARRISON, K. A.; BARDGETT, R. D. Influence of plant species and soil conditions on plant-soil feedback in mixed grassland communities. **Journal of Ecology**, v. 98, p. 384-395, 2010.

HEIL, M. Plant mediated interactions between above- and below-ground communities at multiple trophic levels. **Journal of Ecology**, v. 99, p. 3-6, 2010.

HELINGEROVÁ, M.; FROUZ, J.; SANTRUCKOVÁ, H. Microbial activity in reclaimed and unreclaimed post-mining sites near Sokolov (Czech Republic). **Ecological Engineering**, v. 36, p. 768-776, 2010.

HINOJOSA, M. B.; CARREIRA, J. A.; GARCÍA-RUIZ, R.; DICK, R. P. Soil moisture pre-treatment effects on enzyme activities as indicator of heavy metal-contaminated and reclaimed soils. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 36, p. 1559-1568, 2004.

HOOPER, D. U.; CHAPIN, F. S.; EWEL, J. J.; HECTOR, A.; INCHAUSTI, P.; LAVOREL, S.; LAWTON, J. H.; LODGE, D. M.; LOREAU, M.; NAEEM, S.; SCHIMID, B.; SETALA, H.; SYMSTAD, A. J.; VANDAMEER, J.; WARDLE, D. A. Effects of biodiversity on

ecosystem functioning: A consensus of current knowledge. **Ecological Monographs**, v. 75, p. 3-35, 2005.

JIN, HONGMEI.; SUN, O. J.; LIU, J. Changes in soil microbial biomass and community structure with addition of contrasting types of plant litter in a semiarid grassland ecosystem. **Journal of Plant Ecology**, v. 3, p. 209-217, 2010.

KANDELER, E.; TSCHERKO, D.; BRUCE, K. D.; STEMMER, M.; HOOBS, P. J.; BARDGETT, R. D.; AMELUNG, W. The structure and function of the soil microbial community in microhabitats of a heavy metal polluted soil. **Biology and Fertility of Soils**, v. 32, p. 390-400, 2000.

KELLNER, H.; LUIS, P.; ZINDARS, B.; KIESEL, B.; BUSCOT, F. Diversity of bacterial lacase-like multicopper oxidase genes in forest and grassland Cambisol soil samples. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 40, p. 638-648, 2008.

KERGER, B. D.; NICHOLS, P. D.; ANTWORTH, C. P.; SAND, W.; BOCK, E.; COX, J. C.; LANGWORTHY, T. A.; WHITE, D. C. Signature fatty acids in the polar lipids of acid-producing *Thiobacillus* spp.: methoxy, cyclopropyl, alpha-hydroxy-cyclopropyl, branched and normal monoenoic fatty acids. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 38, p. 67-77, 1986.

KINDT, R.; COE, R. Tree diversity analysis. A manual and software for common statistical methods and biodiversity studies. Word Agroforestry Centre. (ICRAF): Nairobi. 207p, 2005.

KLIRONOMOS J.N.; MCCUNE J.; HART M.; NEVILLE J. The influence of arbuscular mycorrhizae on the relationship between plant diversity and productivity. **Ecology Letters**, v.3, p. 137-141, 2000.

KORANDA, M.; SCHNECKER, J.; KAISER, C.; FUCHSLUEGER, L.; KITZLER, B.; STANGE, C. F.; SESSITSCH, A.; ZECHMEISTER-BOLTENSTERN, S.; RICHTER, A. Microbial process and community composition in the rhizosphere of European beech – The influence of plant C exudates. **Soil Biology & Biochemistry**, v.43, p. 551-558, 2011.

LAMB, E.G.; KENNEDY, N.; SICILIANO, S. D. Effects of plant species richness and evenness on soil microbial community diversity and function. **Plant and Soil**, v. 338, p. 483-495, 2011.

LANGER, U.; RINKLEBE, J. Priming effect after glucose amendment in two different soil evaluated by SIR-and PLFA-technique. **Ecological Engineering**, v. 37, p. 465-473, 2011.

LEE, A. K. Y.; CHAN, C. K.; FANG, M.; LAU, A. P. S. The 3-hydroxy fatty acids as biomarkers for quantification and characterization of endotoxins and Gram-negative bacteria in atmospheric aerosols in Hong Kong. **Atmospheric Environment**, p. 38, p. 6307-6317, 2004.

LEGENDRE, P.; LEGENDRE, L. **Numerical ecology**. 2 Ed. Elsevier Science BV. Amsterdam. 1998. 577 p.

LOVIENO, P.; ALFANI, A.; BAATH, E. Soil microbial community structure and biomass as affected by *Pinus pinea* plantation in two Mediterranean areas. **Applied Soil Ecology**, v. 45, p. 56-63, 2010.

MADAN, R.; PANKHURST, C.; HAWKE, B.; SMITH, S. Use of fatty acid for identification of AM fungi and estimation of the biomass of spores in soil. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 34, p. 125-128, 2002.

MARINARI, S.; MASCIANDARO, G.; CECCANTI, B.; GREGO, S. Kinetics of acid phosphatase in calcium chloride extractable soil organic matter. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 40, p. 2076-2078, 2008.

MARSHALL, C. B.; MCLAREN, J. R.; TURKINGTON, R. Soil microbial communities resistant to changes in plant functional group composition. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 43, p. 78-85, 2011.

MARX, M. C.; KANDELER, E.; WOOD, M.; WERMBTER, N.; JARVIS, S. C. Exploring the enzymatic landscape: distribution and kinetics of hydrolytic enzymes in soil particle-size fractions. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 37, p. 35-48, 2005.

MILLER, R. M.; CARNES, B. A.; MOORMAN, T. B. Factors influencing survival of vesicular-arbuscular mycorrhizal during topsoil storage. **Journal of Applied Ecology**, v. 22, p. 259-266, 1985.

MUYZER, G.; de WAAL, E. C.; UITTERLINDEN, A. G. Profiling of complex microbial populations by denaturing gradient gel electrophoresis analysis and polymerase chain reaction-amplified genes coding for 16S rRNA. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 59, p. 695-700, 1993.

MCLAREN, J. R.; TURKINGTON, R. Ecosystem properties determined by plant functional group identify. **Journal of Ecology**, v. 98, p. 459-469, 2010.

MESQUITA, R. C. G.; WORKMAN, S. W.; NEELY C. L. Slow litter decomposition in a *Cecropia*-dominated secondary forest of central Amazonia, **Soil Biology & Biochemistry**, v. 30, p. 167-175, 1998.

MERILÄ, P.; LÄMSÄ, M. M.; SPETZ, P.; STARK, S.; VIERIKKO, K.; FRITZE, H. Soil organic matter quality as a link between microbial community structure and vegetation composition along a successional gradient in a boreal forest. **Applied Soil Ecology**, v. 46, p. 259-267, 2010.

MIRZA, M. S.; JANSE, J. D.; HAHNN, D.; AKKERMANS, A. D. L. Identification of atypical *Frankia* strains by fatty acid analysis. **FEMS Microbiology Letters**, v. 83, p. 91-98, 1991

MONTECCHIA, M. S.; CORREA, O. S.; SORIA, M. A.; FREY, S. D.; GARCÍA, A. F.; GARLAND, J. L. Multivariate approach to characterizing soil microbial communities in pristine and agriculture sites in Northwest Argentina. **Applied Soil Ecology**, v. 47, p. 176-183, 2011.

MUKHOPADHYAY, S.; JOY, V. C. Influence of leaf litter on microbial functions and nutrient status of soil: Ecological suitability of Forest trees for afforestation in tropical laterite wastelands. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 42, p. 2306-2315, 2010.

MULLER-DOMBOIS, D.; ELLEMBERG, H. Aims and methods of vegetation ecology. New York: Wiley, 547 p. 1974.

MUMMEY, D. L.; STAHL, P. D.; BUYER, J. S. Soil microbiological properties 20 years surface mine reclamation spatial of reclaimed and undisturbed sites. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 34, p. 1717-1725, 2002.

NETER, J.; KUTNER, M. H.; NATCHSHEIM, C. J.; WASSREMAN, W. Applied linear statistical models. 4 Ed. Irwin, Chicago, Illinois, USA, 1408p, 1996.

OLIVEIRA, P. C.; CARVALHO, C. J. R. Phosphorus, nitrogen, lignin, cellulose and poliphenols in samples of leaf litter in *Neea macrophylla*, *Cecropia palmata* and *Casearia arborea* in north-eastern of Pará. **Revista Brasileira de Agroecologia**, v. 3, p. 20-28, 2009.

OKSANEN, J. KINDT, R.; LEGENDRE, P.; O'HARA, R. B. Vegan: Community Ecology Package version 1.17-11, <http://cran-r-project.org>, 2007. Acesso em 5 de maio de 2011.

OLSSON, P. A. Signature fatty acids provide tools for determination of the distribution and interactions of mycorrhizal fungi in soil. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 29, p. 303-310, 1999.

OLSSON, P. A.; RAHM, J.; ALIASGHARZAD, N. Carbon dynamics in mycorrhizal symbioses is linked to carbon costs and phosphorus benefits. **FEMS Microbiology Ecology**, v.72, p. 123-131, 2010.

ORWIN, K. H.; WARDLE, D. A. Ecological consequences of carbon substrate identify and diversity in a laboratory study. **Ecology**, v. 87, p. 580-593, 2006.

ORWIN, K. H.; BUCKLAND, S. M.; JOHSON, D.; TURNER, B. L.; SMART, S.; OAKLEY, S.; BARDGETT, R. D. Linkages of plants traits to soil properties and the functioning of temperate grassland. **Journal of Ecology**, v. 98, p. 1074-1083, 2010.

PASCUAL, J. A.; GARCIA, C.; HERNANDEZ, T.; MORENO, J. L.; ROS, M. Soil microbial activity as a biomarker of degradation and remediation processes. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 32, p. 1877-1883, 2000.

PERES-NETO, P. R.; JACKSON, D. A. How well do multivariate data sets match? The advantages of a Procrustean superimposition approach over the Mantel test. **Oecologia**, v. 129, p. 169-178, 2001.

PINKART, H.C.; RINGELBERG, D.B.; PICENO, Y.M.; MACNAUGHTON, S.J.; WHITE, D.C. Biochemical approaches to biomass measurements and community structure analysis, in: HURST, C.J.; CRAWFORD, R.L.; KNUDSEN, G.R.; MCINERNEY, M.J.; STETZENBACH, L.D. (Eds.), **Manual of Environmental Microbiology**. Washington DC: American Society for Microbiology Press, p. 101–113. 2002.

QUIQUAMPOIX, H. Mechanisms of protein adsorption on surfaces and consequences for extracellular enzyme activity in soil, in: BOLLAG, J. –M.; STOTSKY, G (Eds), **Soil Biochemistry**, v. 10. Marcel Dekker, New York, p. 171-206, 2000.

R DEVELOPMENT CORE TEAM. *R: A language and environment for statistical computing*. R Foundation for Statistical Computing: Austria. ISBN 3-900051-07-0, <http://www.R-project.org>, 2011. Acesso em 20 de janeiro de 2011.

REICH, P. B.; TILMAN, D.; NAAEM, S.; ELLSWORTH, D. S.; KNOPS, J.; CRAINE, J.; WEDIN, D.; TROST, J. Species and functional group diversity independently influence biomass accumulation and its response to CO₂ and N. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, p. 10101-10106, 2004.

RILLIG M. C.; MUMMEY D. L. Mycorrhizas and soil structure. **New Phytologist**, p. 41–53, 2006.

RINGELBERG, D. B.; DAVIS, J. D.; SMITH, G. A.; PFIFFNER, S. M.; NICHOLS, P. D.; NICKELS, J. S.; HENSON, J. M.; WILSON, J. T.; YATES, M.; KAMPBELL, D. H.; READ, H. W.; STOCKSDALE, T. T.; WHITE, D. C. Validation of signature polar lipid fatty acid biomarkers for alkane-utilizing bacteria in soils and subsurface aquifer materials. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 62, p. 39-50, 1989.

RINKLEBE, J.; LUNGER, U. Relationship between soil microbial biomass determined by SIR and PLFA analysis in floodplain soils. **Journal Soil Sediments**, v. 10, p. 4-8, 2010.

RINNAN, R.; BÁÁTH, E. Differential utilization of carbon substrates by bacteria and fungi in tundra soil. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 75, p. 3611-3620, 2009.

ROBERTS, D. W. labdsv: Laboratory for Dynamic Synthetic Vegetation Phenomenology. R package version 1.7-5, <http://ecology.msu.montana.edu/labdsv/R>, 2006. Acesso em 5 de maio de 2011.

RUESS, L.; CHAMBERLAIN, P. M. The fat that matters: Soil food web analysis using fatty acid and their carbon stable isotope signature. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 42, p. 1898-1910, 2010.

RUESS, L.; GARCÍA ZAPATA, E. J.; DIGHTON, J. Food preferences of a fungal-feeding Aphelenchoides species. **Nematology**, v. 2, p. 223-230, 2000.

RUESS, L.; SCHÜTZ, K.; MIGGE-KLEIAN, S.; HÄGGBLUM, M. M.; KANDELER, E.; SCHEU, S. Lipid composition of Collembola and their food resources in deciduous forest stands - implications for feeding strategies. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 39, p. 1990-2000, 2007.

RUIZ, H. A. Incremento da exatidão da análise granulométrica do solo por meio da coleta da suspensão (silte + argila). **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 29, p.297-300, 2005.

SAHOO, P. K.; BHATTACHARYYA, P.; TRIPATHY, S.; EQUENUDDIN, S. M.; PANIGRAHI, M. K. Influence of different forms of acidities on soil microbiological

properties and enzyme activities at an acid mine drainage contaminated site. **Journal of Hazardous Materials**, v. 179, p. 966-975, 2010.

SAKAMOTO, K.; LIJIMA, T.; HIGUCHI, R. Use of specific phospholipid fatty acid for identifying and quantifying the external hyphae of the arbuscular mycorrhizal fungus *Gigaspora rosea*. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 36, p. 1827-1834, 2004.

SCNHÜNER, J.; ROSSWALL, T. Fluorescein diacetate hydrolysis as a measure of total microbial activity in soil and litter. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 43, p. 1256-1261, 1982.

SESSITSCH, A.; WEILHARTER, A.; GERZABEK, M. H.; KIRSCHMANN, H.; KANDELER, E. Microbial population structures in soil particle size fractions of a long-term fertilizer field experiment. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 67, p. 4215-4224, 2001.

SINGH, B. K.; TATE, K.; THOMAS, N.; ROSS, D.; SINGH, J. Differential effects of afforestation on nitrogen-fixing and denitrifying communities and potential implications for nitrogen cycling. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 43, p. 1426-1433, 2011.

SINGH, B. K.; NUNAN, N.; RIDGWAY, K. P.; MCNICOL, J.; YOUNG, J. P. W.; DANIELL, T. J.; PROSSER, J. I.; MILLARD, P. Relationship between assemblages of mycorrhizal fungi and bacteria on grass roots. **Environmental Microbiology**, v. 10, p. 534-542, 2008.

SINSABAUGH, R. L.; KLUG, M. J.; COLLINS, H. P.; YEAGER, P. E.; PETERSON, S. O. Characterizing soil microbial communities. In: ROBERTSON, G. P.; COLEMAN, D. C.; BLEDSOE, C. S.; SOLLINS, P. (Eds), **Standard soil Methods for Long-term Ecological Research**. Oxford University Press, New York, p. 318-348, 1999.

SMITH, S. E.; READ, D. J. **Mycorrhizal symbiosis**. 2 Ed. New York: Academic Press. 605p, 1997.

ŠNAJDR, J.; VALÁŠKOVÁ, V.; MERHAUTOVÁ, V.; HERINKOVÁ, J.; CAJTHAML, T.; BALDRIAN, P. Spatial variability of enzyme activities and microbial biomass in the upper layers of *Quercus petraea* forest soil. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 40, p. 2068-2075, 2008.

ŠTURSOVÁ, M.; BALDRIAN, P. Effects of soil properties and management on the activity of soil organic matter transforming enzymes and the quantification of soil-bound and free activity. **Plant and Soil**, v. 338, p. 99-110, 2011.

TABATABAI, M. A. Soil enzymes. In: CHAIR, R. W. W.; ANGLE, S.; BOTTOMLEY, P.; BENZDICEK, D.; SMITH, S.; TABATABAI, A.; WOLLUM, A. (Ed.). **Methods of soil analysis: microbiological and biochemical properties**. Madison: Soil Science Society of America, p. 775-834, 1994.

TAYLOR, J. P.; WILSON, B.; MILLS, M. S.; BURNS, R. G. Comparison of microbial number and enzymatic activities in surface soil and subsoils using various techniques. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 34, p. 387-4001, 2002.

TURNER, B. L. Variation in pH optima of hydrolytic enzyme activities in tropical rain forest soils. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 76, p. 6485-493, 2010.

VAN DER HEIJDEN, M. G. A.; STREITWOLF-ENGEL, R.; RIEDL, R.; SIEGRIST, S.; NEUDECKER, A.; INEICHEN, K.; WIEMKEN, A.; SANDERS, I. R. The mycorrhizal contribution to plant productivity, plant nutrition and soil structure in experimental grassland. **New Phytologist**, v. 172, p. 739-752, 2006.

VAN DER HEIJDEN, M. G. A.; BARDGETT, R. D.; VAN STRAALLEN, N. M. The unseen majority: soil microbes as drivers of plant diversity and productivity in terrestrial ecosystems. **Ecology Letters**, v. 11, p. 296-310, 2008.

VAN DER HEIJDEN, M. G. A.; KLIRONOMOS, J. N.; URSIC, M.; MOUTOGLIS, P.; STREITWOLF-ENGEL, R.; BOLLER, T.; WIEMKEN, A.; SANDERS, I. R. Mycorrhizal fungal diversity determines plant biodiversity, ecosystem variability and productivity. **Nature**, v. 396, p. 72-75, 1998a.

VAN GROENIGEM, K. J.; BLOEM, J.; BAATH, E.; BOECKX, P.; ROUSK, J.; BODÉ, S.; FORRISTAL, D.; JONES, M. B. Abundance, production and stabilization of microbial biomass under conventional and reduced tillage. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 42, p. 48-55, 2010.

VANCE, E. D.; BROOKES, P. C.; JENKINSON, D. S. An extraction method for measuring soil microbial biomass C. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 32, p. 703-707, 1987.

WAKEHAM, S. G.; PEASE, T. K.; BENNER, R. Hydroxy fatty acids in marine dissolved organic matter as indicators of bacterial membrane material. **Organic Geochemistry**, v. 34, p. 857-868, 2003.

WARDLE, D. A.; BARDGETT, R. D.; KLIRONOMOS, J. N.; SCTALA, H.; VAN DER PUTTEN, W. H.; WALL, D. H. Ecological linkage between aboveground and belowground biota. **Science**, v. 304, p. 433-441, 2004.

WESTHUIZEN VAN DER, J. P. J.; KOCK, J. L. F.; BOTHA, A.; BOTES, P. J. The distribution of the u3 and u6 series of cellular long-chain fatty acids in fungi. **Systematic Applied Microbiology**, v. 17, p. 327-345, 1994.

WRIGHT, S. F.; UPADHYAYA, A. A survey of soils for aggregate stability and glomalina, a glycoprotein produced by hyphae of arbuscular mycorrhizal fungi. **Plant and Soil**, v.198, p. 97-107, 1998.

ZAADY, E.; BEN-DAVID, E. A.; SHER, Y.; TZIRKIN, R.; NEJIDAT, A. Inferring biological soil crust successional stage using combined PLFA, DGGE, physical and biophysiological analyses. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 42, p. 842-849, 2010.

ZELLES, L. Fatty acid patterns of phospholipids and lipopolysaccharides in the characterization of microbial communities in soil: a review. **Biology Fertility and Soils**, v.29, p. 111-129, 1999.

ZELLES, L. Phospholipid fatty acid profiles in selected members of soil microbial communities. **Chemosphere**, v. 35, p. 275-294, 1997.

ZHANG, C. B.; LIU, W.; WANG, J.; CHEN, T.; YUAN, Q.; HUANG, C.; GE, Y.; CHANG, S.; CHANG, J. Plant functional group richness-affected microbial community structure and function in a full-scale constructed wetland. **Ecological Engineering**, v. 37, p. 1360-1368, 2011.

ZHANG, H.; CHU, L. M. Plant community structure, soil properties and microbial characteristics in revegeted quarries. **Ecological Engineering**, v. 37, p. 1104-1111, 2011.

ZORNOZA, R.; GUERRERO, C.; MATAIX-SOLERA, J.; SCOW, K. M.; ARCENEGUI, V.; MATAIX-BENEYTO, J. Changes in soil microbial community structure following the abandonment of agricultural terraces in mountainous areas of Eastern Spain. **Applied Soil Ecology**, v. 42, p. 315-323, 2009.